

최 중
연구보고서

숲가꾸기에서 발생하는 임지폐목재와
토착미생물을 이용한 토양개량제의 개발

Development of Soil Conditioner Using
Local Microorganism and Waste-Wood
from Forest Cultivating

연구기관
건국대학교

농림부

제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “숲가꾸기에서 발생하는 임지폐목재와 토착미생물을 이용한 토양개량제의 개발” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003년 8 월 23 일

주관연구기관명 : 건국대학교

총괄연구책임자 : 박 헌

세부연구책임자 : 한 인 송

연 구 원 : 민 경 희

연 구 원 : 이 성 욱

연 구 원 : 김 수 진

연 구 원 : 안 병 준

참 여 기 업 명 : 동양그린비료

요 약 문

I. 제 목

숲가꾸기에서 발생하는 임지폐목재와 토착미생물을 이용한 토양개량제의 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

우리의 산림은 면적기준 87% 정도가 30년생 미만의 어린 나무들이고 소유구조가 영세하며 인공조림과 천연갱신으로 수종분포가 다양하다. 최근 우리 산림을 효율적으로 관리하는 방안의 하나로서 숲가꾸기 사업이 진행되었다. 이러한 숲가꾸기에서 발생하는 소경목과 불량목 등을 이용하여 부가가치를 높일 수 있는 방법을 찾고자 본 연구가 진행되었다.

목재는 유기물로서 비료화, 퇴비화, 토양개량제 등으로 개발 할 수 있다. 목재는 다양한 영양물질을 함유하여 다종의 미생물을 증식할 수 있는 자원이기 때문이다. 유기물의 이용방법 중에는 이러한 유기물인 목재를 비료, 퇴비, 토양개량제 등으로 사용하기 위해서는 목재를 톱밥화하여 부숙시켜야 한다. 그러나 목재는 부숙기간이 최소 6개월에서 1년 이상으로 장기간이 걸린다. 또한 국내의 톱밥발효 미생물 제재는 대부분이 외국에서 종균을 수입해 쓰고 있어서 국내 미생물 개발이 필요한 실정이다.

따라서 톱밥은 부숙기간이 6개월 이상으로 길므로 톱밥 부숙기간을 단축시킬 부숙 촉진 미생물을 국내 토착 미생물에서 선발하고, 선발된 미생물을 이용해 발효 속도가 보다 빠르고 국내 토양에 맞는 토양개량제를 개발할 목적으로 본 연구를 수행하였다.

III. 연구개발 내용 및 범위

본 연구는 숲가꾸기 등에서 발생하는 소경목이나 불량목 등 임지폐목재를 자원화 하는 한 방안으로 국내에 서식하는 미생물을 이용한 토양개량제를 개발하고자 하였다.

연구 개발 목표에 따른 주요 연구 내용 및 범위는 다음과 같다.

- 톱밥의 부숙화 활성을 위해 토착미생물 중 우수 균주 선발
- 톱밥의 부숙화 활성을 위한 조건 구명
- 선발된 우수 균주에 의한 퇴비화 성능 시험
- 퇴비화 성능시험을 통한 최적 종균 생산
- 최적 종균에 의한 토양개량제의 생산

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

본 과제를 수행하며 연구개발 결과 1) 톱밥의 부숙화 활성을 위해 토착미생물 중 우수 균주 선발 2) 톱밥의 부숙화 활성을 위한 조건 구명 3) 최적 종균에 의한 상토 및 토양개량제 생산의 가능성 이라는 연구개발 결과가 있었다.

우선 톱밥의 부숙화 활성을 위해 토착미생물 중 우수 균주 선발은 목재 분해에서 난분해 물질인 리그닌을 잘 분해하는 균주를 대상으로 선발하였다. 이 선발균을 이용하여 상토 및 토양개량제를 제조하여 작물 생산성으로 비교 시험을 실시한 결과 대조구들보다 우수한 결과를 나타내어 그 가능성을 확인할 수 있었다.

이러한 연구 개발 과정을 통해 발효기간을 단축할 수 있었고, 발효도를 충실하게 할 수 있었으며, 저온 발효를 유도함으로써 에너지의 손실을 절감할 수 있었다. 따라서 본 연구 개발 결과는 목재를 토양개량제 원료로 사용함에 있어 보다 안전하고 신속하게 처리될 수 있도록 하였으며, 그로 인해 제품의 품질 향상을 기했다.

최근 국내·외를 통해 환경문제가 대두되면서 친환경농업이 강조되고 있고 「Codex 유기식품 규격」이 최종 확정됨에 따라 그 동안의 쟁점사항이었던 factory farming 퇴비문제를 포함한 축산부문 규격 등이 완전 합의되어 유기식품에 대한 국제기준으로서의 기본골격을 갖추게 되었다. 최근 개정된 친환경농업육성법 시행령(2001. 7)도 Codex 유기식품 규격 발효와 더불어 이와 대부분 정합성을 이루는 방향으로 개정된 것이다. Codex 규격은 전세계적으로 통용되는 식품생산 규격이므로 이 규격에 의하지 아니하고 생산된 농산물은 유기농산물이라 명명되지 못할 수도 있다. 이러한 점을 감안 할 때 우리 나라 유기농업도 더 이상 축산과 경종의 연계를 외면하거나, 공장식 축산분뇨를 사용할 수 없게 되

었다. 한편, Codex는 토양비옥도 및 증진을 위한 환경부하 및 농산물의 품질이나 안전성에 용인할 수 없는 결과가 없어야 되는 유기질비료의 하나로 톱밥을 규정하고 있다.

주벌 및 무육작업 등에 의한 산림작업 후 반출되지 않고 벌채지 내에 방치되는 임지 폐목재도 일부만 재생될 뿐 대부분이 방치되거나 소각되고 있다. 이러한 임지 폐목재를 이용하여 배양토 등 토양개량제를 개발하여 사장되는 자원의 이용도를 증진하는 한편 지금까지의 분노에 의한 퇴비제조에서 톱밥을 이용한 새로운 형태의 임업 또는 산림자원 퇴비로서 자원활용 방안을 제시할 수 있게 되었다.

따라서 앞으로 지금까지의 연구 결과를 바탕으로 목질 분해 우수균의 증폭 방안과 함께 순수 목질 퇴비로서의 현실적 적용 방안에 대한 추가 연구로 산업화에 적용하여 상품화할 수 있도록 해야할 것이다. 또한 이것은 선발균에 대한 추가 연구가 진행된다면 기능성 제품으로서 고부가가치를 올릴 수 있는 기회를 제공할 수 있을 것으로 본다.

또한 본 과제를 진행하며 수집한 자료와 정보 교류를 통해 얻을 수 있었던 것은 미생물의 활용 및 응용 범위가 매우 넓다는 것이었다. 특히 미생물이 생산하는 각종 유용 효소가 분리·정제를 비롯해 대량생산 방법이 이루어진다면 리그닌과 관계된 펄프·제지 산업을 비롯해 효소 산업에서 그 부가가치는 대단히 높은 것으로 나타났다.

본 연구과제와 같이 미생물을 처리한 보다 안정적인 토양개량제 등을 개발하는 것뿐만 아니라 선발된 리그닌 분해 우수 균들에 대해 미생물학적 측면에서 연구가 더 이루어진다면 상기와 관련된 산업으로의 활용 가능성도 크리라 생각한다.

SUMMARY

This study was performed in order to develop soil conditioner using local microorganism and waste-wood from forest cultivating. The results were as follows ;

1. Selection of fungi from local microorganism for actively degrading sawdust.

The purpose of study were collecting decayed wood according to climate band, screening and cultivating fungi, selecting high active fungi, and then comparing fungi's degrading characteristics and abilities. So, 143 rotted woods and fruit bodies were collected from 4 climate bands.

The 171 fungi were screened from 143 rotted wood, and were cultivating.

The 30 high active fungi were selecting by lignin degrading activity test. For comparing degrading characteristics and abilities, 30 high active fungi were cultivating at mongolian oak sawdust to degrade lignin. 19 fungi had more degrading characteristics and abilities than traditional lignin-degrading fungi especially SJ-28 had most excellent properties.

2. Investigation of condition for degrading sawdust.

The purpose of study was to investigate the sawdust size and pretreatment. Mongolian oak sawdust was used as the sawdust size, -5mm screen, showed the most degradability. In pretreatment, the free-treatment showed better results than heating-treatment and alkali-treatment.

3. Composting test by selected high active fungi.

The purpose of study was to analyze the component of raw sawdust and degraded sawdust for testing sawdust degradability and compost variation. Mainly the lignin,

among composts of sawdust, was analyzed by Klason method. And the holocellulose was also analyzed by sodium chlorite method.

AS-4 fungi was used for testing sawdust degradability. The size of sawdust was -5mm. The weight loss was 47.44% for 116 days.

The component of degraded sawdust was analyzed into 52.5% degradability of lignin and 37.31% of holocellulose. Thereafter in SJ-28 fungus lignin showed 63% degradability and holocellulose 38%.

4. The most suitable spawn production through composting efficiency test

The purpose of this study was the spawn production by selected fungus SJ-28. The spawn was made with cultivating SJ-28 fungus to oak sawdust.

5 . Production of soil conditioner by the distinguished fungus

The purpose of this study was to produce the culture soil and soil conditioner by SJ-28 fungus, and to investigate the effect of soil conditioner by a vegetable cultivation experiment.

In the case of culture soil, the lettuce was cultivated with mixing each SS, LS, FLS with greenhouse soil. In the case of soil conditioner, the lettuce was cultivated in soil that mixed each zeolite, PG, WPG to greenhouse soil that was basis soil. Culture soil showed the best in FLS treatment and soil conditioner showed the best in WPG treatment. Culture soil and soil conditioner in this experiment were made in participation corporation.

CONTENTS

Chapter 1. Overview

Chapter 2 State of technology

Chapter 3 Contents and results

Chapter 4 Achievement and contribution

Chapter 5 Suggestion

Chapter 6 Information for abroad science and technology

Chapter 7 Reference

목 차

제 1 장 연구개발과제의 개요	10
제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성	10
1. 기술적 측면	10
2. 경제·산업적 측면	11
3. 사회·문화적 측면	11
제 2 절 연구개발의 내용 및 범위	12
1. 연구개발의 목표 및 내용	12
2. 연차별 연구개발 내용 및 범위	12
3. 연구개발 추진체계	16
제 2 장 국내외 기술개발 현황	17
제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과	19
제 1 절 톱밥의 부숙화 활성을 위한 균 선발	19
1. 부후 목재로부터 부후균 분리 및 선발	21
2. 목재 리그닌 분해 우수균 선발	42
3. 우수 선발균의 특성 조사	48
제 2 절 톱밥의 부숙화 활성을 위한 조건 구명	59
1. 톱밥의 크기 및 전처리에 따른 변이	60
2. 목재의 조성분 함량 변이 분석	70

제 3 절 토양개량제 개발	85
1. 리그닌 분해 우수균에 의한 상토 제조	88
2. 리그닌 분해 우수균에 의한 토양개량제 제조	98
제 4 장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도	125
제 1 절 목표 달성도	125
제 2 절 관련분야에의 기여도	127
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	128
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보	129
제 7 장 참고문헌	130

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 목적 및 필요성

1. 기술적 측면

- 우리의 산림은 면적기준 87% 정도가 30년 생 미만의 어린 나무들이고 소유구조가 영세하여 인공조림과 천연갱신으로 수종분포가 다양하다. 이처럼 경영이 힘든 우리 산림을 자원화 할 수 있는 방안의 하나로서 숲가꾸기 등 산림가꾸기에서 발생하는 소경목과 불량목 등을 수종 구분 없이 이용하여 최대의 부가가치를 올릴 수 있는 방법을 개발할 필요가 있다.
- 목재는 유기물로서 다양한 영양물질을 함유하여 다종의 미생물을 증식할 수 있는 자원이다. 유기물의 이용방법 중에는 비료화, 퇴비화, 토양개량제 개발 등이 있다.
- 주벌 및 무육작업 등에 의한 산림작업 후 반출되지 않고 벌채지 내에 방치되는 임지 폐목재도 일부만 재생될 뿐 대부분이 방치되거나 소각되고 있다.

<표 1> 1996년도 임지내 폐목재 발생량

(단위 : 천m³)

구 분	합 계	주 벌	수종갱신	간 벌	육림 (무육·천보)	기 타
벌채재적	1,662	204	294	182	468	514
발 생 량	823	36	196	32	468	91

- 이러한 임지 폐목재를 이용하여 배양토 등 토양개량제를 개발하여 사장되는 자원의 이용도를 증진하는 한편 새로운 형태의 자원활용 방안을 제시하고자 한다.
- 목재를 토양개량제로 사용하기 위해선 톱밥화 하여야 한다. 톱밥은 토양개량제화 하는데 필요한 조건들을 갖추고 있다. 그러나 톱밥은 발효기간이 6개월로 길뿐만 아니라 국내에선 소수의 영세업체에서 퇴비로 생산을 하고 있다.

- 톱밥을 비롯해 유기물은 부숙 정도에 따라 토양개량제로서의 품질이 결정된다. 이에 효율적인 발효방법이 연구되고 있으며 최근 들어 미생물을 이용한 발효연구가 진행되고 있다. 그러나 국내의 톱밥발효 미생물 제제는 대부분이 일본에서 종균을 수입해 쓰고 있는 실정이다.
- 따라서 발효속도가 보다 빠르고 간단한 방법에 의한 톱밥발효 미생물을 개발할 필요가 있다. 특히 국내 토착 미생물을 이용하여 개발하여 국내 토양에 맞는 토양개량제를 개발할 필요가 있다.

2. 경제 · 산업적 측면

- 산업에서 농임산 부산물의 가장 중요한 활용분야 중 하나가 유기질 비료로 상품화하는 것이다.
- 톱밥발효 균종을 국내 토착 미생물 중에서 선발해 내어 현재 대부분 수입되고 있는 발효촉진제의 수입대체 효과를 얻을 수 있다.
- 양질의 속성 순수 톱밥비료가 개발된다면 고가로 수입되고 있는 배양토인 peatmoss 등의 수입대체효과를 얻을 수 있으며 농가소득의 향상에도 기여할 수 있을 것으로 기대된다.
- 현재 사용되는 퇴비는 톱밥과 축산분뇨를 혼합해 부숙시킨 퇴비로 이러한 퇴비가 사용된 농지는 분뇨에 의한 중금속 오염 등으로 2~3년에 한번씩 객토를 해주어야 하는데 톱밥비료를 사용할 경우 상당액의 객토비용을 절감할 수 있다.

3. 사회 · 문화적 측면

- 최근 친환경적 농업이 강조되고 있어 점차 화학비료의 사용은 억제하고 유기질비료 즉 농업적 이용을 높여야 한다는 목소리가 커지고 있다.
- 국내토착 미생물 중에서 톱밥 발효를 촉진할 수 있는 미생물을 선발한다면 수입 미생물에 의한 토양 내 미생물 생태계 파괴를 미연에 방지할 수 있을 뿐만 아니라 폐기되는 유효자원의 활용과 토지 생산성 증대라는 측면에서 일석이조의 효과가 있다.

- 따라서 산림현황을 개선을 비롯해 농산촌민의 소득향상과 수질개선 및 농촌환경 개선에 기여할 수 있을 것으로 기대됨.
- 이 과제를 통해 업계에서는 그들이 실용적으로 요구하고 있는 기술개발을 기하고 학계에서는 그 기술개발을 위한 이론적, 실증적 자료를 제시한다는 차원에서 이 연구의 필요성은 절실히 요구된다고 하겠다.

제 2 절 연구개발의 내용 및 범위

1. 연구개발의 목표 및 내용

- 톱밥의 부숙화 활성을 위해 토착미생물 중 우수 균주 선발
- 톱밥의 부숙화 활성을 위한 조건 구명
- 선발된 우수 균주에 의한 퇴비화 성능 시험
- 퇴비화 성능시험을 통한 최적 종균 생산
- 최적 종균에 의한 토양개량제의 생산

2. 연차별 연구개발 내용 및 범위

가. 1차 연도

- 톱밥의 부숙화 활성을 위한 조건 구명
 톱밥의 크기 및 전처리에 따른 부숙화 정도를 조사하여 톱밥의 부숙화에 적절한 조건을 조사하고자 한다.
- 미생물 균주 선발 및 배양
 목질 분해균 중 우수 균주 선발 및 배양 : 기후대 별 산림지역에서 부후목을 수집하여 균을 분리한 후 리그닌 분해 우수 균주를 선발하여 배양한다.

연구 내용	연구 범위
<ul style="list-style-type: none"> ○ 토양개량제에 대한 연구 및 기술동향 조사 ○ 톱밥의 부숙화 활성을 위한 조건 구명 ○ 미생물 균주 선발 및 배양 	<ul style="list-style-type: none"> - 선진 연구, 기술동향 및 국내 연구, 기술 동향 조사 - 톱밥의 크기에 따른 선별 - 열연화 및 알카리 처리 - 기후대별 부후목 수집 - 균 분리 및 선발 - 분리균 배양 - 우수 균주 선발 <ul style="list-style-type: none"> - 배양성 조사 - 효소생산력 조사 - 균주별 발효특성 및 효과 비교

나. 2차 연도

- 톱밥의 부숙화 활성을 위한 조건 구명
 - 수종 선택 : 톱밥을 이용한 토양개량제는 침엽수보다는 활엽수가 비료로서의 효과와 토양개량의 효과가 높아 시료 및 균주 개발도 참나무를 중심으로 활성을 구명하고자 함.
 - 톱밥의 크기에 따른 선별 : 톱밥의 입자 크기가 부숙화에 미치는 영향을 구명하는 한편, 추가로 톱밥을 각 크기별로 혼합하여 부숙화 정도를 조사하고자 함.
 - 열연화에 의한 전처리 : 100℃로 장시간 처리하여 부숙도를 추가 조사하고자 함.
- 우수 균주 선발
 - 기후대별 균주 screening 후 각 기후대별 우수 균주 선발
- 목재의 조성분 함량 변이 분석
 - 균처리 전과 처리후의 목재 조성분을 분석하여 균에 따른 성분변이를 조사하고자 함.
- 배양토 이용 가능성 시험
 - 기존의 원예용 배양토를 대체할 수 있는 값싸고 가벼운 배양토를 톱밥부숙정도, 배합 비율 등을 조절하여 최적의 배양토를 개발하고자 함.
 - 조건별 재배시험
 - 배합비율에 따른 재배시험

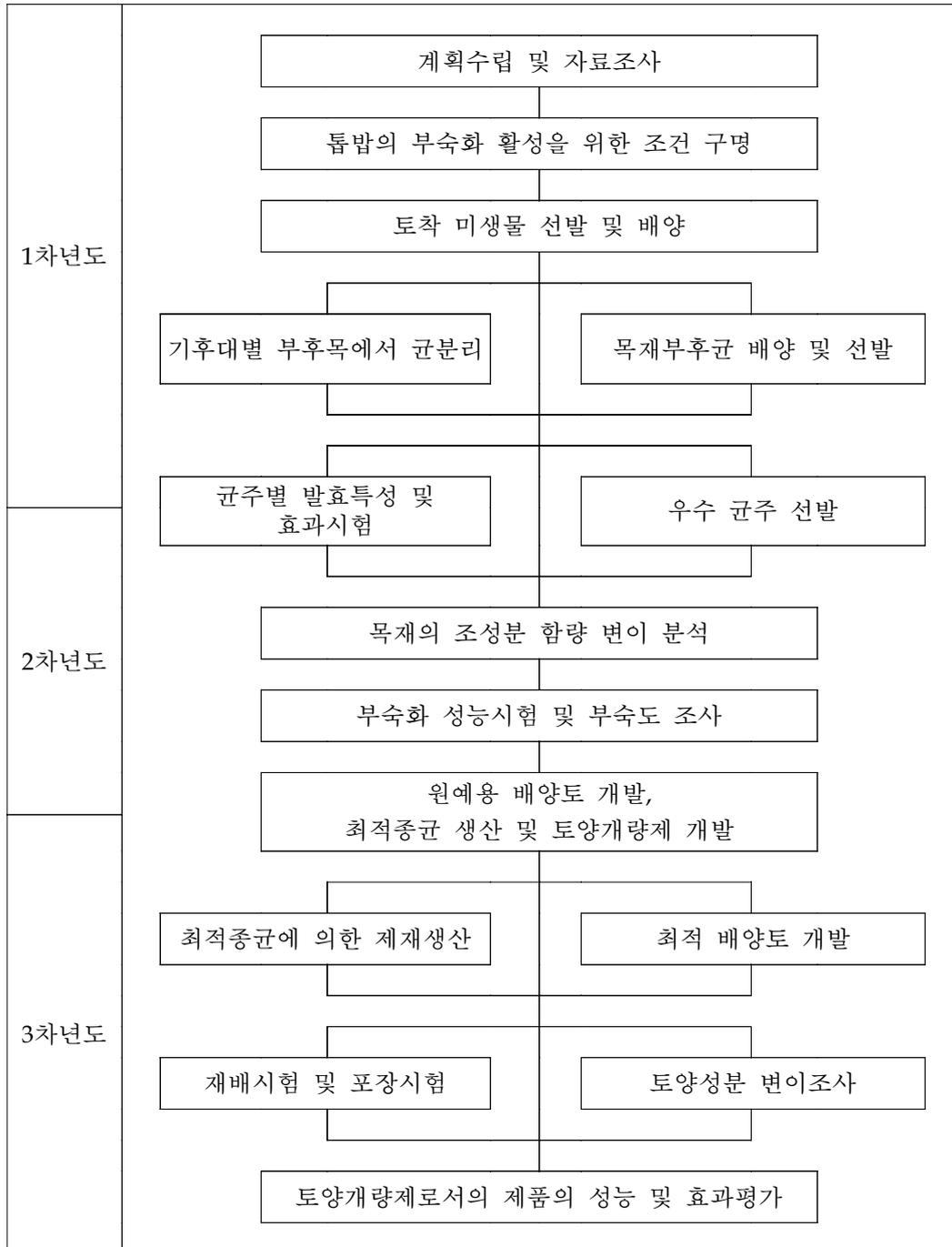
연구 내용	연구 범위
○ 톱밥의 부숙화 활성을 위한 조건 구명	- 수종, 톱밥의 크기 및 전처리에 따른 조건 구명
○ 목재의 조성분 함량 변이 분석	- 원료톱밥의 조성분 분석 - 균처리 후의 톱밥 조성분 분석
○ 우수균주 생산	- 균종별 우수균주 생산 - 기후대별 우수균주 생산
○ 톱밥의 부숙화 시험	- 조건별 부숙화 효과 시험 - 부숙도 조사
○ 배양토 이용가능성 시험	- 조건별 재배시험 - 배합비율에 따른 재배시험

다. 3차 연도

- 선발 균주의 효율성 시험
 - 선발균주의 배양성 및 효소적 특성 시험
- 선발 균주에 의한 톱밥의 부숙화 시험
 - 처리별 부숙화 시험
- 부숙 톱밥의 성분 변이 분석
 - C/N비, 리그닌, 셀룰로오스 함량 변이 분석
- 최적 종균 생산
 - 선발 균주에 의한 최적 종균 생산
- 최적 배양토 개발
 - 최적 종균에 의한 배양토 및 토양개량제 생산
- 개발된 토양개량제 성능시험 및 경제성 분석
 - 혼합비율별 작물재배를 통한 성능시험 및 이용 가능성 시험

연구 내용	연구 범위
<ul style="list-style-type: none"> ○ 선발 균주의 효율성 시험 ○ 선발 균주에 의한 톱밥의 부숙화 시험 ○ 부숙 톱밥의 성분 변이 분석 ○ 최적 종균 생산 ○ 최적 배양토 및 토양개량제 개발 ○ 개발된 토양개량제 성능시험 및 경제성 분석 	<ul style="list-style-type: none"> - 선발균주의 배양성 및 효소적 특성 시험 - 처리별 부숙화 시험 - C/N비, 리그닌, 셀룰로오스 함량 변이 분석 - 선발 균주에 의한 종균 생산 - 최적 종균에 의한 배양토 및 토양개량제 생산 - 토양개량제 혼합비율에 따른 재배시험 - 포장시험 - 경제성 분석

3. 연구개발 추진체계



제 2 장 국내외 기술개발 현황

- 현재 우리 나라는 부숙톱밥, 퇴비 등을 부산물 비료로 등록하고 있다. 특히 톱밥은 여러가지 퇴비를 생산하는데 꼭 필요한 담체로 중요한 역할을 담당하고 있다. 최근 국내, 외를 통해 환경문제가 대두되면서 유기질 폐기물의 자원화 특히 농업부분으로의 이용 측면에서 부산물 비료화에 대한 연구가 진행되고 있다.
- 부산물 비료로 가장 많이 사용되고 있는 퇴비는 톱밥과 가축분뇨를 가공하여 만든 것으로 국내, 외를 막론하고 톱밥 외에 부재료로 사용되는 축분이나 슬러지, 음식물쓰레기 등에 관한 연구는 있으나 톱밥 자체의 부숙속성에 관한 연구는 미비한 실정이다.
- 기존의 유기물 분해에 이용되는 미생물제제는 대부분 외국에서 수입된 제품으로 효과 뿐 아니라 우리의 미생물 생태계를 교란시킬 우려가 있는 것에 착안하여 최근 들어 음식물 찌꺼기를 우리 미생물을 선발하여 퇴비화한 연구가 있으며, 이것은 세계적인 추세이기도 하다.
- 각각의 균주는 하나 또는 여러 항목에서 우수한 특성을 나타내므로 혼합하여 사용하는 것이 다변화된 환경에 잘 적응할 수 있으므로 생태적 균집 형태의 미생물제 개발이 필요하다.
- 일본으로부터 국내에 수입된 대부분의 균은 일반 토양에서 볼 수 있는 사상균과 효모지만 일반 토양보다 그 수가 적어 효과에 의문이 있을 뿐 아니라 타 환경으로부터 인공적으로 배양한 미생물 제재를 토양에 공급했을 때 토착의 미생물 균집에 의해 활성이 발휘되지 않을 수도 있다는 보고도 있다.
- 일반적으로 셀룰로오스와 리그닌의 분해속도가 느리므로 빠른 시간 내에 원하는 퇴비의 숙성도를 얻기 위해서는 셀룰로오스와 리그닌의 분해속도를 향상시키는 방안이 필요하며 이런 이유로 퇴비화 기간 중 곰팡이류의 활성화가 필요하다.
- 곰팡이류는 박테리아와 비교하여 상대적으로 많은 양의 체외 셀룰로오스 분해효소를 분비하는 것으로 알려져 있으며 따라서 주된 연구의 대상이 되고 있다. 또한 곰팡이는 셀룰로오스의 분해 외에 리그닌의 분해능도 갖고 있어 백색부후균을 이용하여 퇴비화를 리그닌 분해단계와 보통 퇴비화 단계로 나누어 퇴비의 숙성도를 높이는 연구가 진행된 바가 있다.
- 국내·외를 통해 유기질 폐기물의 자원화, 특히 농업부분으로의 이용 측면에서 유기물

비료화에 대한 연구가 진행되고 있다. 유기질 비료로 가장 많이 사용되고 있는 퇴비는 산림유기물과 가축분뇨를 가공하여 만든 것으로 국내·외를 막론하고 산림유기물 외에 부재료로 사용되는 축분이나 슬러지, 음식물쓰레기 등에 관한 연구는 있으나 산림유기물 자체의 비료화 특성에 관한 연구는 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다.

- 황금영(1989)에 의하면 가축분뇨의 축종별 이화학적 성상이 각기 달라 단순 혼합방식으로 퇴비를 제조할 경우 안정성이나 퇴비의 품질에 문제가 되므로 실제 효과적인 퇴비 제조에 많은 문제점이 있다고 하였다.
- 比壽(1994)는 미숙퇴비의 시용으로 인하여 토양에 서식하고 있는 토착미생물을 비롯한 토양생태계에 미치는 2차적 토양오염이 전혀 고려되지 않고 있음을 지적하였다.
- 양재의 등(1999)에 의하면 유기성 부산물 비료를 토양에 사용하여 자원화 할 경우 영양소 및 수분을 지속적으로 공급할 수 있을 뿐만 아니라 토양의 물리적, 화학적, 생물학적 특성을 개량하여 작물 및 미생물 생육에 좋은 환경을 제공할 수 있다고 하였다.
- 기존의 유기물 분해에 이용되는 미생물제제는 대부분 외국에서 수입된 것으로 활성이 발휘되지 않을 수도 있다는 보고도 있다. 또한 토착미생물에 의한 퇴비화 연구는 세계적인 추세이기도 하다.
- 유기물을 이용한 토착미생물 발효제에 관한 효과는 이미 박순희 등(1999, 중국 길림성 연변 농업과학연구원)이 발표한 작물잔사 토착미생물 발효비료의 시용효과에 관한 연구에서 입증된바 있다.
이들에 따르면, 토착미생물 발효제로서 작물 잔사를 고온 발효시켜 만든 퇴비를 논에 시용한 효과에서 첫째에 화학비료 질소량을 10~20% 감소하여도 벼의 분얼과 유효 이삭수 및 수확에 영향이 없을 뿐만 아니라 오히려 경제수입이 증가하고 토양비력을 제고하고 토양환경을 보호한다고 하였다.
- 본 과제에서 연구할 산림유기물 발효 비료화에 사용할 균종은 곰팡이류로 박테리아와 비교하여 상대적으로 많은 양의 체외 셀룰로오스 분해효소를 분비하는 것으로 알려져 있으며 주된 연구의 대상이 되고 있다. 또한 셀룰로오스의 분해 외에 리그닌의 분해능력도 갖고 있어 백색부후균을 이용하여 퇴비화를 리그닌 분해단계와 보통 퇴비화 단계로 나누어 숙성도를 높이는 연구가 진행된 바 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 톱밥의 부숙화 활성을 위한 균 선발

산림유기물의 대부분을 차지하는 목재는 다른 식물성 재료에 비해 분해속도가 최소 6개월에서 수년 이상으로 장기간이 소요된다. 목재는 유기물로서 여러 가지 영양물질을 함유하여 미생물을 증식할 수 있는 자원이다. 미생물에 의한 목재의 분해는 대부분이 균류에 의해 일어난다. 그러나 일반적으로 목재의 주성분인 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌 등은 분해속도가 매우 느리고, 특히 리그닌은 분해가 더욱 느리다.

리그닌은 일반적으로 활엽수재의 경우 그 함량이 20~28%로 일반 유기용매에는 불용성이며 산에 의하여 가수분해되기 어렵고 서로 교착되어 있어 분해하기 곤란한 강한 결합을 이루고 있으며, 일반적으로 75% 정도가 세포간층에 존재하고 있다. 이러한 리그닌의 분해 방법으로 주로 화학적 방법이 이용되어 왔으나 화학약품에 의해 발생하는 환경오염 등의 문제로 미생물을 이용한 생물학적 방법이 새로이 적용되고 있다(Blanchette *et al*, 1984, 1991, 1995; Yoshihara *et al*, 1985; Nishida *et al*, 1988; 조 등, 1989; 유 등, 1990; Akhtar *et al*, 1992; 정 등, 1995; 이 등, 1998; 윤 등, 2000; 강 등, 2001). 그러나 목재에서 리그닌은 셀룰로오스나 헤미셀룰로오스와 대조적으로 미생물에 대한 저항성이 크며, 일부 곰팡이류의 미생물에 의해서 분해가 된다.

미분해된 리그닌은 토양 안에서 단백질과 결합하여 리그닌-단백질체를 형성하는데 이 복합체는 미생물의 분해에 대한 저항성이 크다고 알려져 있다.

본 연구는 톱밥의 부숙화 활성을 위한 한 방법으로 목질분해 우수 균주를 선발하기 위해서 목재의 주성분 중 가장 분해가 어려운 리그닌을 보다 우수하게 분해하는 균주를 토착미생물을 대상으로 선발하고자 우리 나라를 4개 기후대 즉, 난대, 온대 남부, 온대 중부, 온대 북부 기후대로 나누어 각 기후대별 산림지역에서 부후목과 자실체 등을 채취하여 균을 분리 배양하여 선발하고자 하였다.



Figure 1. 채취 부후목 및 자실체

1. 부후 목재로부터 부후균 분리 및 선발

국내에 존재하는 미생물 중에서 목질 분해, 특히 리그닌을 보다 우수하게 분해하는 균주를 선발하기 위해 산림지역에서 채취한 활엽수 및 침엽수 부후목에서 부후균을 분리하여 리그닌 분해 효소 활성 시험 및 실제 목분에서의 리그닌 분해능을 조사하여 리그닌 분해 우수균을 선발하고자 하였다.

가. 재료 및 방법

기후의 차이에 의한 변이 유무를 파악하기 위해 우선 전국을 난대, 온대남부, 온대중부, 온대북부 등 4개의 기후대로 구분하여 2000년 9월~12월에 걸쳐 각 기후대 별 여러 산림 지역으로부터 부후목 및 자실체를 채취, 수집하였다. 또한 2001년도에도 산림지역에서 부후가 많이 발생하는 늦은 여름을 이용해 부후목 등을 채취하여 실험에 사용하였다.

보다 다양한 균을 분리하기 위해 활엽수와 침엽수, 기타 잡목 등을 중심으로 서로 다른 부후 수종을 선택하였으며, 기후대별 차이 유무를 파악하기 위해 유사 수종이라 하더라도 육안적으로 부후형이 다른 것을 중심으로 부후목과 자실체를 채취하였다.

채취한 부후목은 다른 균에 의한 오염을 방지하기 위해 기건상태로 건조한 후 각각 건조상태로 보관하며 실험에 사용하였으며, 자실체는 냉장 보관하며 실험에 사용하였다.

각 기후대별 시료 채취 현황은 다음 table 1과 같다.

Table 1. State of gathered material from forest area of each climate

기후대	지 역	채 취 시 료
		부후목 및 자실체
난 대	전남 영암·해남 일대	9
	경남 사천·고성·진주 일대	15
	부산 일대	9
온대남부	경남 함양 일대	7
	경북 상주 일대	20
	대구 일대	23
온대중부	충북 충주·수안보 일대	11
	충북 괴산 일대	9
	충북 양성 일대	18
온대북부	강원도 평창 일대	6
	강원도 횡성 일대	16
계		143

1) 균 screening

채취한 부후목과 자실체로부터 순수 균 분리를 위해 screening을 실시하였다. 부후균 screening을 위해 먼저 potato dextrose agar(PDA, Difco)로 평판배지를 만들었다. 이때 세균의 번식을 줄이기 위해 0.1%-streptomycin(Sigma)을 첨가하였다.

부후목의 경우 수피는 잘 벗겨내고 부후가 어느 정도 진행된 목질부를 선별하여 균 분리를 위해 적당한 크기로 절단하였으며, 자실체는 적당히 벌어진 자실층을 되도록 깨끗한 부위를 선별하여 적당한 크기로 절단하였다. 절단한 시편 중 목편은 70%-EtOH에서 약 10초 정도, 자실체의 경우 약 5초 정도 표면 살균을 한 후 멸균수로 수회 세척하였다. 멸균 여과지로 시편의 물기를 제거한 후 미리 만들어 놓은 PDA 평판배지 위에 접종한 후 $29\pm 1^{\circ}\text{C}$ 의 incubator에서 배양하였다. 약 3~10일 정도 균의 성장 상태를 확인하며 순수 분리를 위해 단계적으로 여러 차례 재 screening을 실시하였다.

또한 screening된 균들의 동종 또는 이종 여부를 확인하기 위해 대치배양을 실시하였다. 분리된 균주들 중 육안으로 보았을 때 구별이 확실하지 않은 균들 또는 구분은 되나 비슷한 형상을 나타내는 균들을 대상으로 PDA 평판배지에 각각의 균을 두 개 또는 세 개 접종하여 배양하였다.

균사가 어느 정도 성장하게 되면 동일 균의 경우 경계선이 없이 자연스럽게 섞이나 다른 균일 경우 경계선이 뚜렷하게 생기는데 이러한 성질을 이용해 동종, 이종을 확인하였다. 경계선이 생긴 것은 다른 균으로 간주하였으며, 경계선이 생기지 않고 균사체가 자연스럽게 섞이는 것은 동일 균으로 간주하였다.

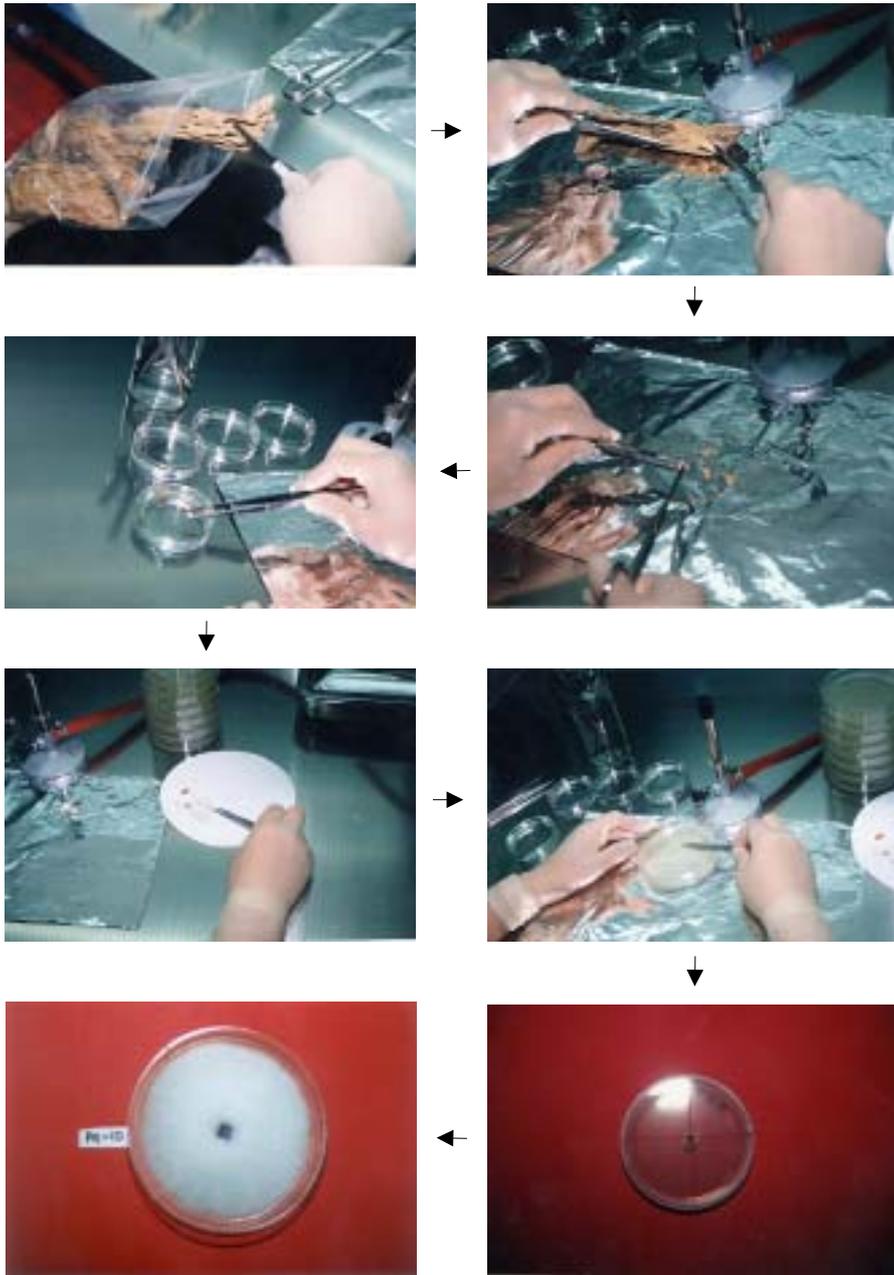


Figure 2. 부후목으로부터 균 분리 과정



Figure 3. 대치배양

2) 균 선발

Screening된 부후균 중 목재를 효율적으로 부속시키기 위하여 목재의 주성분 중 가장 분해가 어려운 리그닌을 보다 잘 분해하는 균들을 선발하고자 리그닌 분해 효소 활성을 조사하였다.

0.05% Rhemazol brilliant blue R(RBBR), 0.01% guaiacol(GU), 0.1% gallic acid(GA)가 첨가된 각각의 PDA 평판배지의 중앙에 screening하여 계대배양한 균들을 일정량씩 접종하였다. 균이 접종된 평판배지를 29±1℃의 incubator에서 일정기간 배양한 후 변색환의 발생 유무와 크기를 조사하였다.

이것은 리그닌 분해효소와의 산화반응에 의해 변색되는 화합물을 지니는 배지 위에 균주를 배양하여 배지의 변색으로 리그닌 분해효소의 활성을 검출하는 방법으로, 변색환 발생 정도와 리그닌 분해율과는 상관관계가 높게 나타난다는 연구보고(Nishida, 1988 ; Jung, 1995)를 기초하였다.

RBBR, GU, GA가 첨가된 각각의 배지에 변색환을 발생시킨 균주를 대상으로 균사 생장크기와 변색환의 크기를 측정하였고, 세가지 종류의 배지에 모두 변색환이 발생된 균주를 리그닌 분해균으로 우선 선발하였다.

선발균과의 대조를 위해 지금까지 리그닌 분해능이 우수하다고 알려진 백색부후균인 *Trametes versicolor*(TRV)와 *Phanerochaete chrysosporium*(PHC)을 사용하였다.



Figure 4. Rhemazol brilliant blue R(RBBR) 첨가배지에서의 변색환 발생

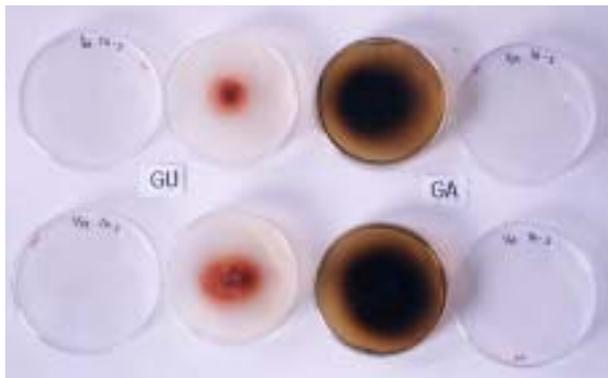


Figure 5. Guaiacol(GU), gallic acid(GA) 첨가배지에서의 변색환 발생

나. 결과 및 고찰

1) 균 screening

기후대별 산림지역에서 채취한 부후목 및 자실체로부터의 단계적 screening 과정을 통해 171종의 균주를 screening 하였다.

난대지역에서 채취한 시료 수는 33개였으며, 이 지역에서 분리한 균수는 47종이었다. 온대 남부지역에서는 50개의 부후목 및 자실체를 채집하여 57종의 균주를 분리하였고, 온대 중부지역에서는 38개 시료를 채취하여 47종의 균주를 분리해 냈으며, 온대 북부지역에서는 22개의 부후목 등을 채집하여 20종의 균주를 screening 하였다.

Screening 균주는 계대배양을 통해 보관하며 균 선발 실험에 사용하였다.

Table 2. 기후대별 screening 균 수

기후대	지 역	채취시료 수	Screening균 수
난 대	전남 영암·해남 일대	9	13
	경남 사천·고성·진주 일대	15	27
	부산 일대	9	7
온대남부	경남 함양 일대	7	8
	경북 상주 일대	20	27
	대구 일대	23	22
온대중부	충북 충주·수안보 일대	11	9
	충북 괴산 일대	9	12
	충북 양성 일대	18	26
온대북부	강원도 평창 일대	6	8
	강원도 횡성 일대	16	12
계		143	171

2) 균 선발

Screening한 171종의 균주들 중 목재의 주성분 중 가장 분해가 어려운 리그닌을 보다 잘 분해하는 균주를 선발하기 위해 리그닌을 대상으로 실험을 실시하였다. 이를 위해 이들 균주를 계대배양을 실시하며 리그닌 분해 효소 활성 실험을 진행하였다.

리그닌 분해 효소 활성 실험을 통한 균 선발은 Rhemazol brilliant blue R, guaiacol, gallic acid 등 세 가지 종류의 배지에서 모두 변색환을 발생시킨 균주를 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다. 이 과정에서 171개의 screening 균주 중 모두 변색환을 발생시킨 것은 30개 균주로 이 균들을 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다.

특히 소량의 tannic acid나 gallic acid를 첨가하여 만든 고체배지에 백색부후균을 배양하면 균체 주변에 갈색의 산화대가 형성된다. 이러한 반응을 Bavendamm반응이라 하는데 백색부후균에서는 양성을 나타내지만 갈색부후균에서는 음성을 나타낸다. 이 반응은 균에서 분비된 laccase에 의한 산화반응에 의해 일어나며 laccase는 백색부후균에 널리 분포하고 있지만 갈색부후균에는 존재하지 않는다. 따라서 본 실험과정에서 선발된 30개 균주는 모두 백색부후균임을 알 수 있었다.

다음 table 3에서 보는 바와 같이 기후대 별로 구분해 보았을 때 난대 지역에서는 10개 균주, 온대 남부지역에서는 5개 균주, 온대 중부지역에서는 7개 균주, 온대 북부지역에서는 8개 균주에서 모두 변색환을 발생시켜 리그닌 분해 우수균으로 선발되었다.

Table 3. 각 기후대별 분리 군 및 선발된 우수 군 현황

기후대	지 역	분리군수	선발군수
난 대	전남 영암·해남 일대	13	1
	경남 사천·고성·진주 일대	27	9
	부산 일대	7	-
온대남부	경남 함양 일대	8	-
	경북 상주 일대	27	4
	대구 일대	22	1
온대중부	충북 충주·수안보 일대	9	-
	충북 괴산 일대	12	3
	충북 양성 일대	26	4
온대북부	강원도 평창 일대	8	3
	강원도 횡성 일대	12	5
계		171	30

난대 기후대의 각 지역에서 screening한 균주들의 활성 시험 결과를 보면 전남 영암, 해남 일대 지역에서는 13개의 균을 분리해 내었는데 이들 중 YA-2 한 균주에서만 Rhemazol brilliant blue R(RBBR), guaiacol(GU), gallic acid(GA)가 첨가된 3가지 종류의 배지에서 모두 변색환을 발생시켜 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다. 또한 YA-3, YA-8, YA-11, YA-12에서는 GU와 GA가 첨가된 두가지 종류의 배지에서 변색환을 발생시켰으며, 나머지 8개 균주는 3가지 종류의 배지 모두에서 리그닌 분해효소 활성이 나타나지 않았다.

경남 사천, 고성 일대 지역에서는 16개의 균을 분리해 내었는데 이 지역에서는 SC-1, SC-3, SC-7, SC-8, SC-10, SC-12, SC-12-2, SC-13-1의 8개 균주에서 RBBR, GU, GA가 첨가된 3가지 종류의 배지에서 모두 변색환을 발생시켜 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다. 이 외에 SC-6은 GU, GA 첨가배지에서, SC-14는 RBBR, GA 첨가배지에서 변색환을 발생시켰으며, SC-3-1은 GA 첨가배지에서 변색환을 발생시켰으나 나머지 5개 균은 3가지 종류 배지 모두에서 활성을 나타내지 않았다.

경남 진주 일대 지역에서는 11개의 균을 분리해 내었는데 JJ-3과 JJ-3-1의 두 균주에서 RBBR, GU, GA 첨가배지 모두에서 변색환을 발생시켜 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다. 이 밖에 JJ-3-2와 JJ-3-3은 GU, GA 첨가배지에서, JJ-1, JJ-2, JJ-2-2는 GA 첨가배지에서 변색환을 발생시켰으며, 나머지 4개 균주에서는 변색환이 발생하지 않았다.

난대 기후대의 마지막 지역인 부산 일대지역에서는 7개 균을 분리해 내었는데 RBBR, GU, GA 첨가배지 모두에 변색환을 발생시킨 균주가 없어 리그닌 분해 우수균으로 선발된 균주는 없었으며, BS-3, BS-4, BS-4-1, BS-8-1, BS-9에서만 GA 첨가배지에 변색환이 발생되었다. 이상의 결과에 따라 난대 기후대에서는 10개 균주를 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다.

온대남부 기후대의 각 지역에서 분리한 균에 의한 리그닌 분해효소 활성 시험 결과를 살펴보면 경남 함양 일대 지역에서는 8개 균을 분리해 내었는데 RBBR, GU, GA 첨가배지 모두에 변색환을 발생시킨 균주가 없어 리그닌 분해 우수균으로 선발된 균주는 없었다. 그러나 HY-3, HY-3-1, HY-7, HY-11의 4개 균에서 GU, GA 첨가배지에 변색환이 발생되었으며, HY-2에서는 GU 첨가배지에 변색환이 발생되었다.

경북 상주 일대 지역에서는 27개의 균을 분리해 내었는데 SJ-16, SJ-25-1, SJ-27, SJ-28의 4개 균주에서 RBBR, GU, GA 첨가배지 모두에 변색환을 발생시켜 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다. 이 밖에 SJ-11, SJ-11-1은 RBBR, GA 첨가배지에서 SJ-25는 GU, GA 첨가배지에서 SJ-2, SJ-5, SJ-7-1, SJ-19-1, SJ-19-2, SJ-24-1은 GA 첨가배지에서 변색환을 발생시켰

으며, 나머지 14개 균에서는 3가지 종류의 배지 모두에 변색환을 발생시키지 못했다.

대구 일대 지역에서는 22개의 균을 분리해 내었는데 이 지역에서는 TK-12에서만 RBBR, GU, GA 첨가배지 모두에서 변색환을 발생시켜 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다. 이 외에 TK-7과 TK-25는 GU와 GA 첨가배지에, TK-7-1, TK-7-2, TK-13, TK-17, TK-19-1은 GA 첨가배지에, TK-24는 RBBR 첨가배지에 변색환을 발생시켰다. 따라서 온대 남부 기후대에서는 5개 균주를 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다.

온대 중부 기후대의 각 지역별 분리 균주에 의한 리그닌 분해효소 활성시험 결과를 살펴보면 우선 충북 충주와 수안보 일대 지역에서는 9개 균주를 분리해 내었는데 RBBR, GU, GA 첨가배지 모두에 변색환을 발생시킨 균주는 없었다. 그러나 CJ-1, CJ-2, CJ-6이 GU, GA 첨가배지에 변색환을 발생시켰으며, CJ-4는 GA 첨가배지에 CJ-5는 GU 첨가배지에 CJ-9는 RBBR 첨가배지에 변색환을 발생시켰다. 나머지 3개 균주는 변색환을 발생시킨 첨가 배지가 없었다. 따라서 이 지역에서는 리그닌 분해 우수균으로 선발된 균이 없다.

충북 괴산 일대 지역에서는 12개의 균을 분리해 내었는데 KS-1, KS-1-1, KS-7의 3개 균에서 3가지 첨가배지 모두에서 변색환이 발생되어 우수균으로 선발하였다. 이와 함께 KS-4와 KS-9는 RBBR과 GA 첨가배지에, KS-6은 GU와 GA 첨가배지에, KS-5는 GU 첨가배지에, KS-6-1과 KS-8은 GA 첨가배지에 변색환을 발생시켰으며, 나머지 3개 균주는 어떠한 종류의 첨가배지에도 변색환을 발생시키지 못하였다.

충북 양성 일대 지역에서는 26개의 균을 분리해 내었는데 RBBR, GU, GA 첨가배지 모두에서 변색환을 발생시킨 AS-4, AS-7, AS-8, AS-15의 4개 균주를 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다. AS-2는 RBBR, GA 첨가배지에 AS-3, AS-11과 AS-20은 GU, GA 첨가배지에 AS-5와 AS-6은 RBBR 첨가배지에 AS-8-1, AS-10, AS-12, AS-13, AS-14, AS-16, AS-17, AS-27-1은 GA 첨가배지에서만 변색환을 발생시켰다. 나머지 7개 균은 모든 첨가배지에서 아무런 변화도 나타나지 않았다. 이상의 결과로 온대 중부 기후대에서는 7개 균주를 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다.

마지막으로 온대 북부 기후대의 각 지역별 분리균에 의한 리그닌 분해효소 활성 시험 결과를 보면 강원도 평창 일대 지역에서 8개 균을 분리해 내었는데 이들 중 PC-1, PC-2-3, PC-5의 3개 균에서 RBBR, GU, GA 첨가배지 모두에 변색환이 발생되어 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다. 그리고 PC-2는 RBBR 첨가배지에서만 변색환을 발생시켰으며 나머지 4개 균은 모든 첨가배지에 아무런 영향을 발휘하지 못하였다.

황성 일대 지역에서는 12개의 균을 분리해 내었는데 이들 중 CTS-2, CTS-6, CTS-7,

CTS-11과 CTS-12-1의 5개 균에서 RBBR, GU, GA 첨가배지 모두에 변색환이 발생되어 리그닌 분해 우수균으로 선발하였다. CTS-5의 경우 GU, GA 첨가배지에 CTS-1과 CTS-10은 GA 첨가배지에 CTS-14는 RBBR 첨가배지에 변색환을 발생시켰으며 나머지 3개 균주는 모든 배지에 변색환을 발생시키지 못하였다. 온대 북부 기후대에서는 8개 균을 리그닌 분해 우수균으로 선발할 수 있었다.

본 실험을 통해 30개의 균주를 리그닌 분해 우수균으로 선발하였으며, 30개 균주를 대상으로 각 균주별 배양성을 조사하는 한편 균주별 효과를 비교해 보기 위해 실제 목분에서 리그닌 분해능을 조사하였다.

다음 그림은 각 기후대의 지역별 리그닌 분해효소 활성시험 결과로 변색환 발생정도를 나타낸 것이다.

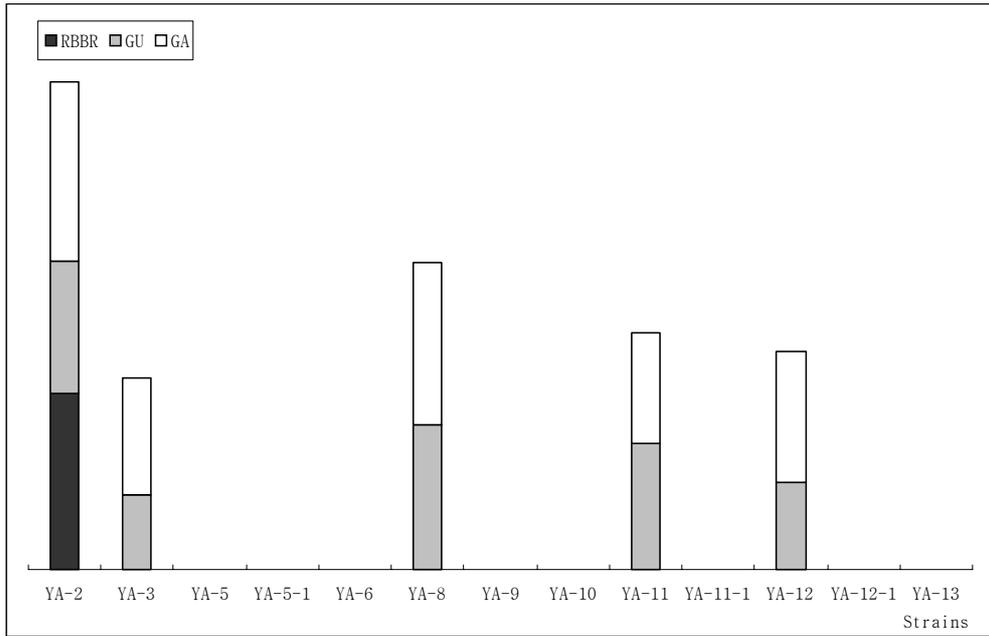


Figure 6. 난대 기후대의 전남 영암, 해남지역 일대에서 분리한 균들의 변색환 발생정도

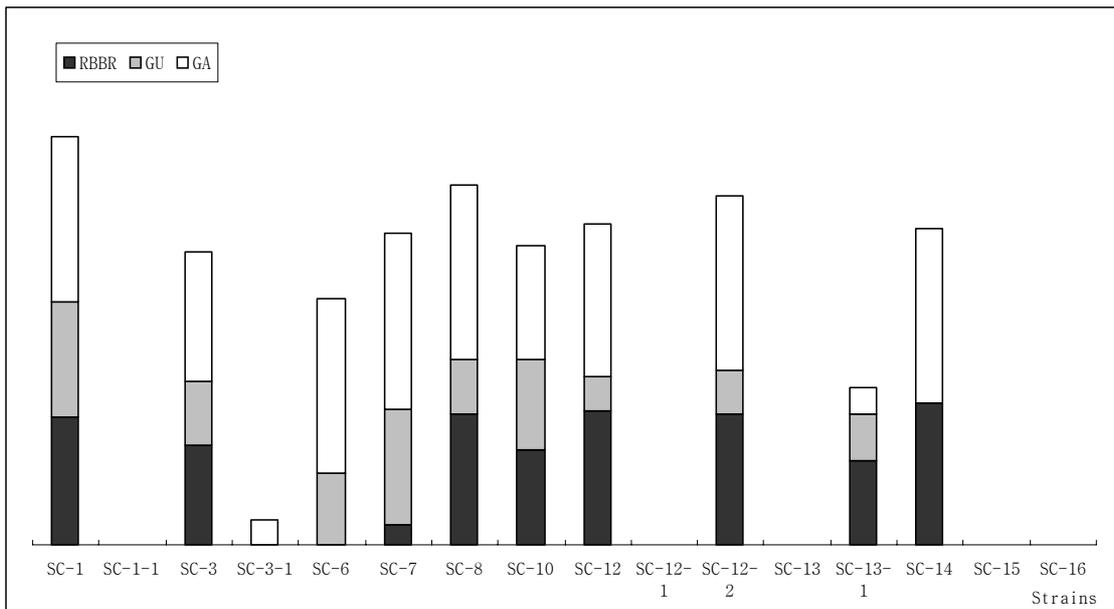


Figure 7. 난대 기후대의 경남 사천, 고성 일대지역에서 분리한 균들의 변색환 발생정도

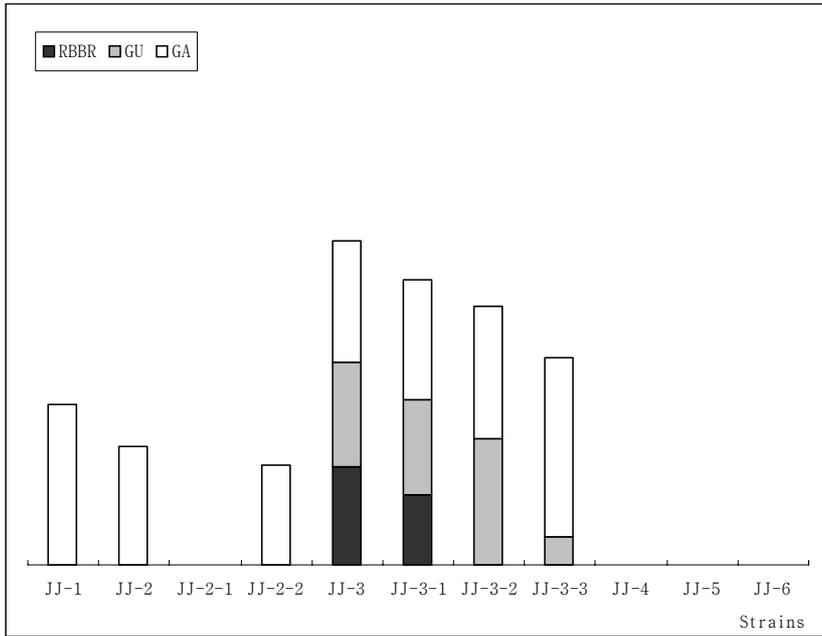


Figure 8. 난대 기후대의 경남 진주 일대지역에서 분리한 균들의 변색환 발생정도

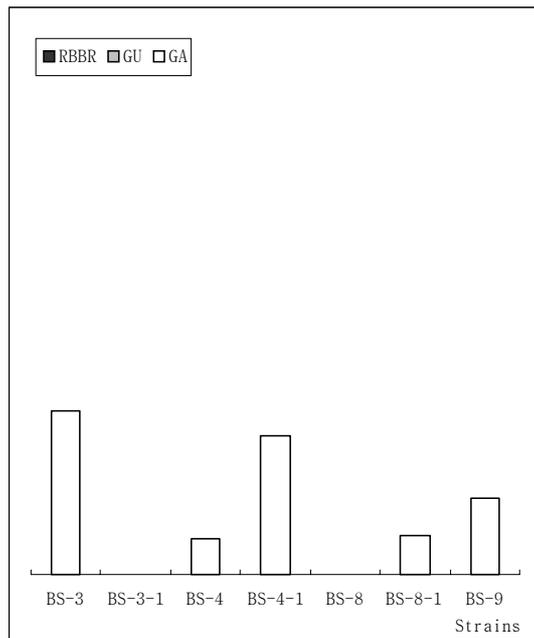


Figure 9. 난대 기후대의 부산일대 지역에서 분리한 균들의 변색환 발생정도

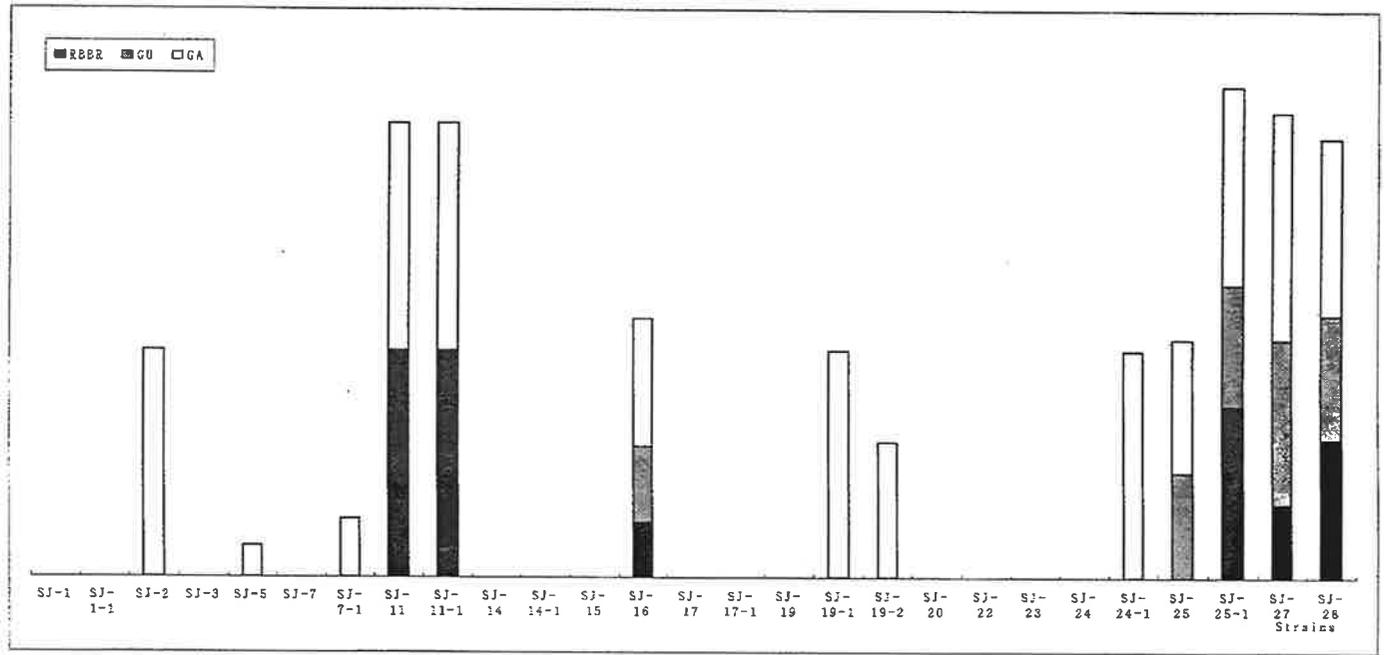


Figure 10. 온대남부 기후대의 경북 상주일대 지역에서 분리한 균들의 변색환 발생정도

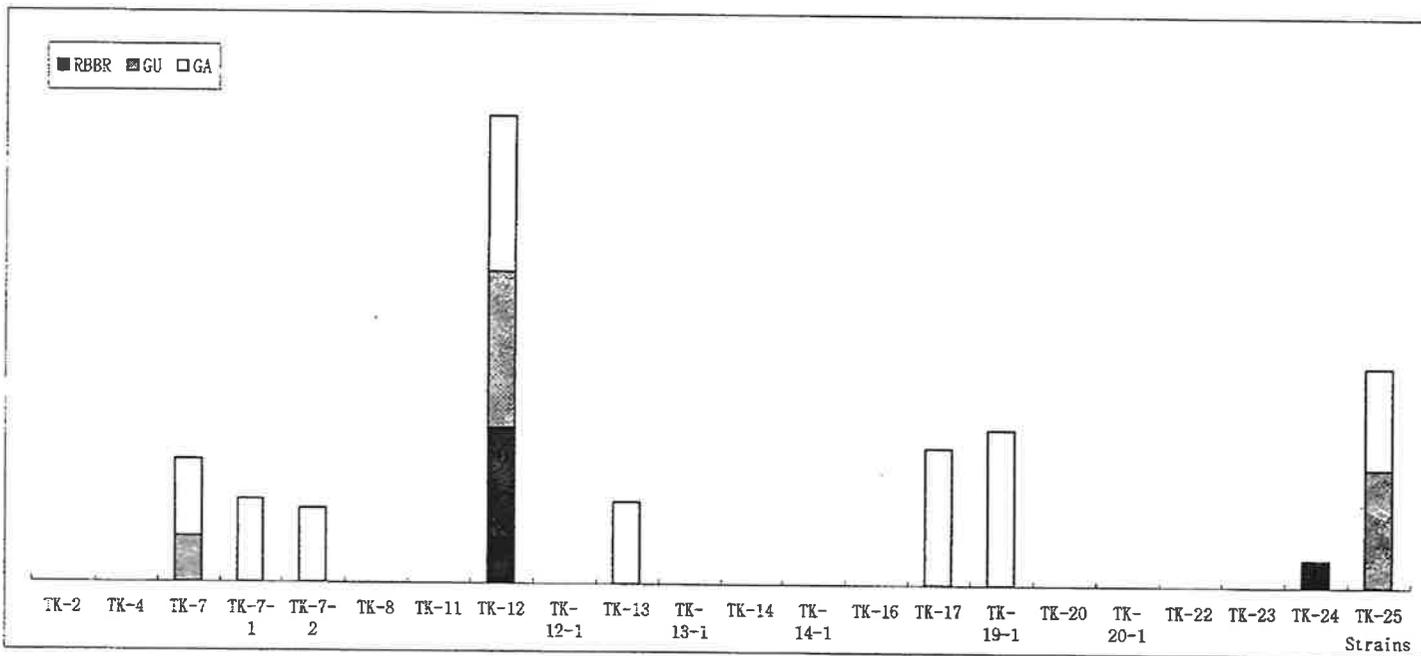


Figure 11. 온대남부 기후대의 대구일대 지역에서 분리한 균들의 변색환 발생정도

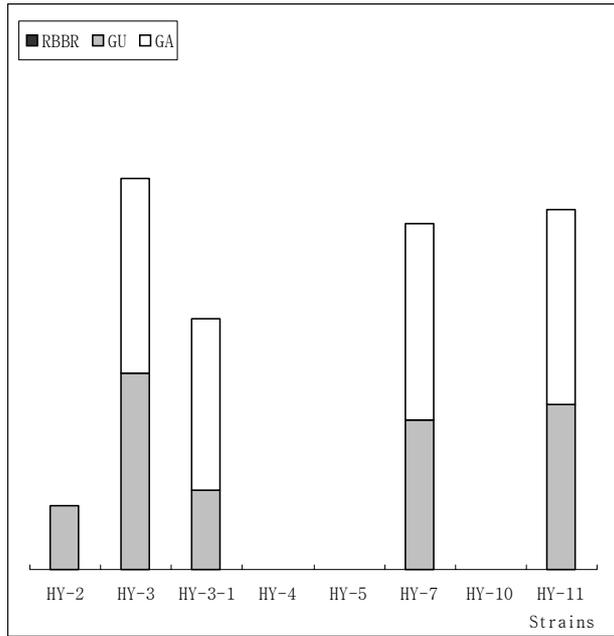


Figure 12. 온대남부 기후대의 경남 함양일대 지역에서 분리한 균들의 변색환 발생정도

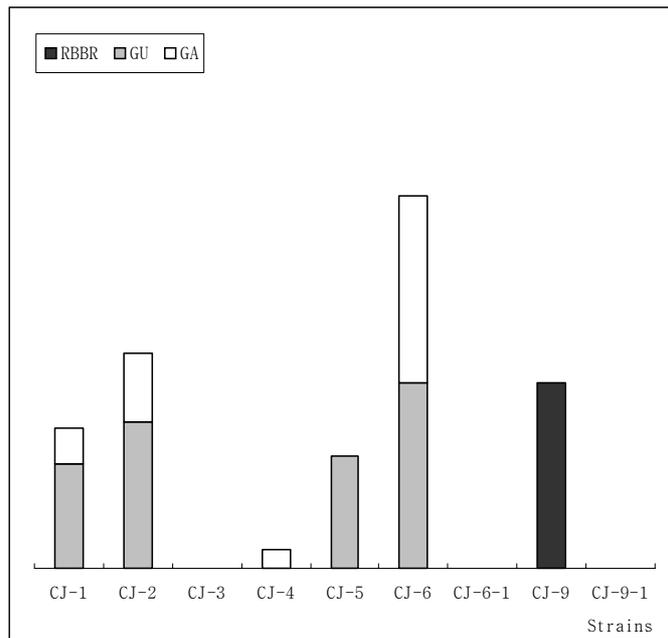


Figure 13. 온대중부 기후대의 충북 충주일대 지역에서 분리한 균들의 변색환 발생정도

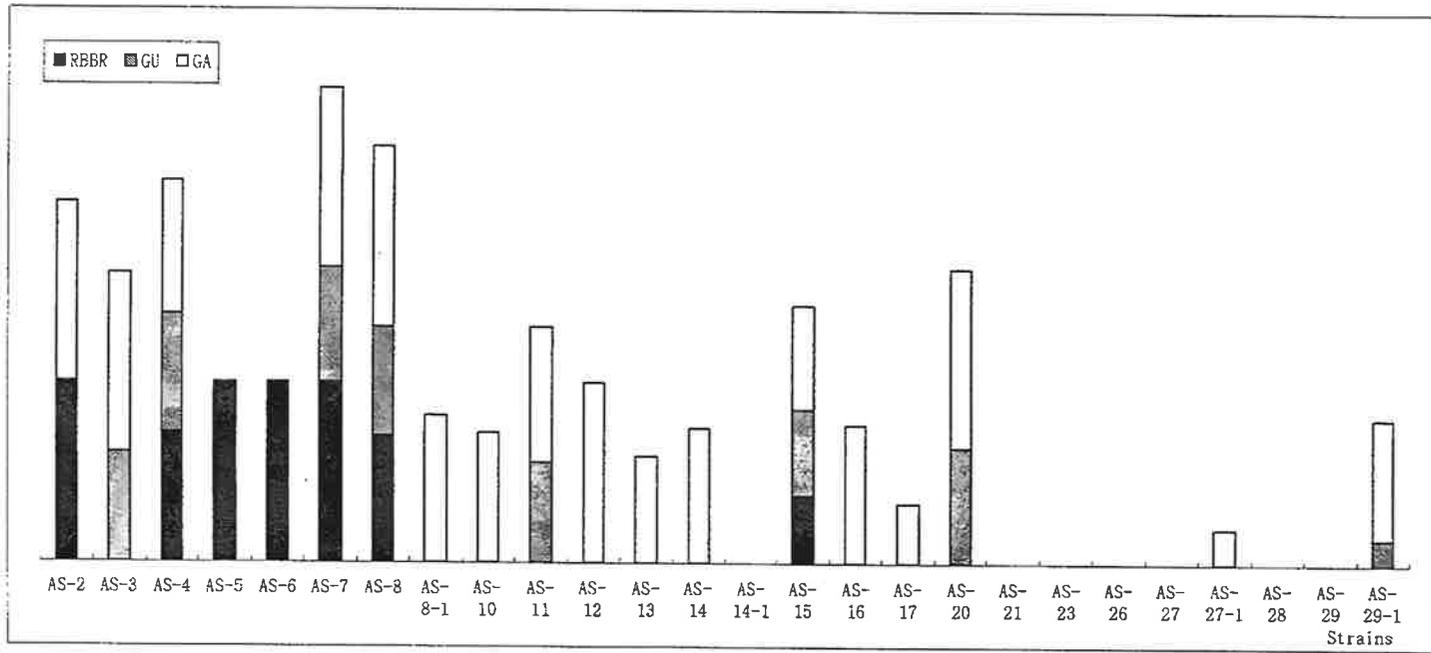


Figure 14. 온대중부 기후대의 양성 일대 지역에서 분리한 균들의 변색환 발생정도

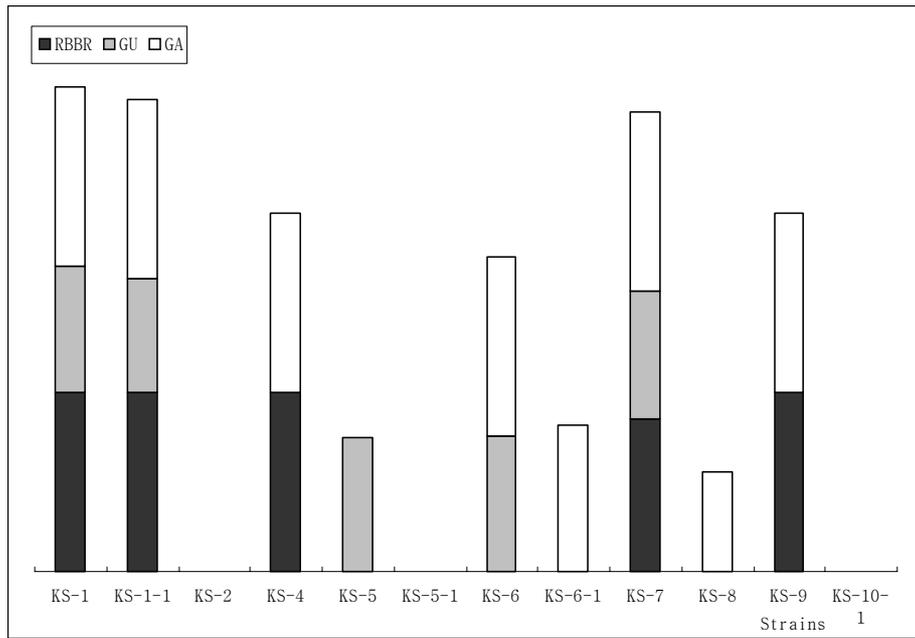


Figure 15. 온대중부 기후대의 충북 괴산 일대 지역에서 분리한 균들의 변색환 발생정도

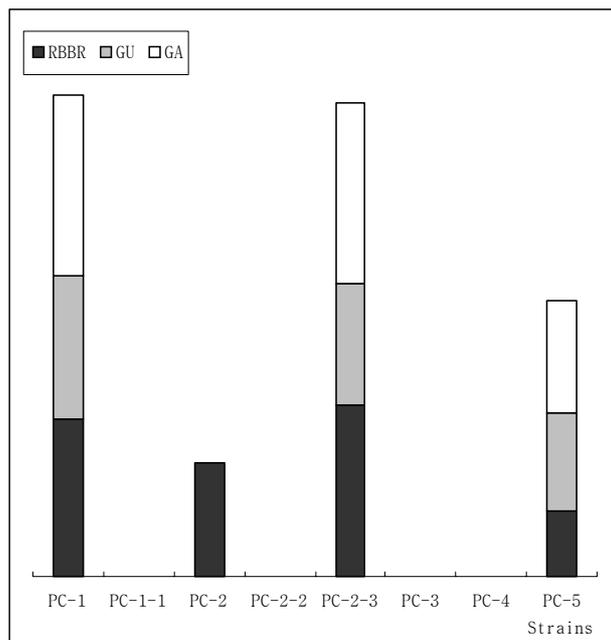


Figure 16. 온대북부 기후대의 평창 일대 지역에서 분리한 균들의 변색환 발생정도

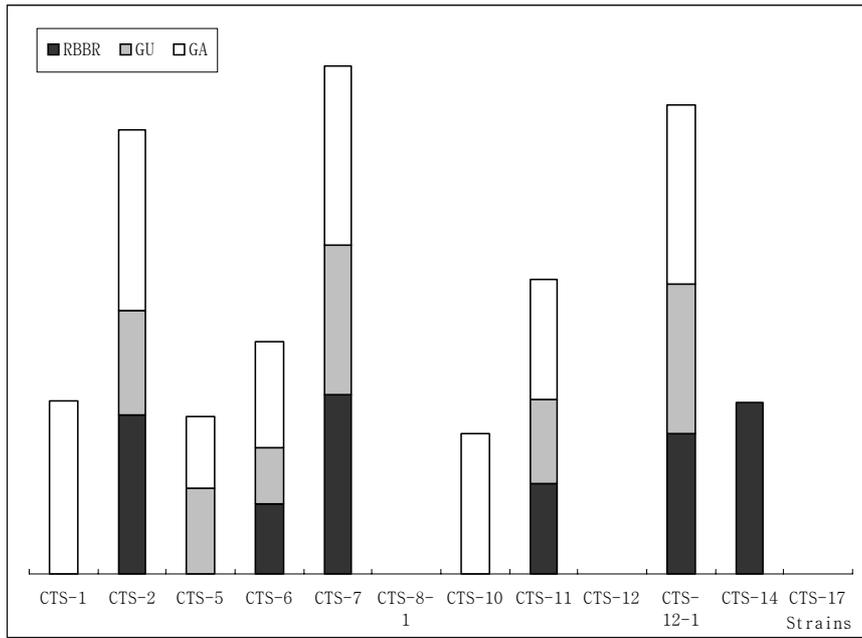


Figure 17. 온대북부 기후대의 황성 일대 지역에서 분리한 균들의 변색환 발생정도

2. 목재 리그닌 분해 우수균 선발

목질 분해 우수균 선발은 목재의 주성분 중 리그닌 분해효소 활성 시험에 의해 선발된 30개 균들의 실제 리그닌 분해력을 조사하여 리그닌 분해력이 보다 우수한 균주를 선발하고자 하였다. 선발된 균들의 리그닌 분해력은 실제 목분에 균들을 일정기간 접종 배양한 후 리그닌 함량을 측정하여 조사하였다.

가. 재료 및 방법

1) 균주별 배양성 조사

선발 균주의 배양성은 PDA배지에서의 균사 성장 길이로 조사하였다. 대조균인 *Trametes versicolor*(TRV)와 *Phanerochaete chrysosporium*(PHC)을 비롯해 우수균주로 선발된 30개 균주를 PDA배지에 접종하여 기 실험을 통해 가장 균사생장이 좋았던 배양온도인 $29 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 incubator에서 일주일간 배양한 후 각각의 균사생장길이를 측정하였다.

2) 균주별 효과 비교

균주별 효과 비교는 선발균들의 실제 목분에서의 리그닌 분해 정도를 조사하여 비교해 보고자 하였다. 이것을 위해 기건상태로 건조하여 보관중인 신갈나무 톱밥을 Wiley mill로 분쇄하여 60~80 mesh로 선별한 후 알코올-벤젠으로 탈지하여 사용하였다. 신갈나무 탈지 목분을 수분 처리한 후 무균상태로 한 다음 clean bench 내에서 선발 균을 접종하여 $29 \pm 1^\circ\text{C}$ 의 incubator에서 30일간 배양하였다. 배양이 끝난 후 잔여 리그닌 함량을 측정하여 분해정도를 조사하였다. 목분에서의 실제 리그닌 분해능은 Klason 리그닌 함량을 측정하여 조사하였다(정 등, 1995).

대조구로는 지금까지 lignin 분해능이 우수하다고 알려진 백색부후균인 *Trametes versicolor*(TRV)와 *Phanerochaete chrysosporium*(PHC)을 임업연구원에서 분양받아 사용하였다.



Figure 18. 목분에서의 실제 리그닌 분해능 시험

나. 결과 및 고찰

1) 선발균의 배양성

선발 균주의 배양성은 PDA배지에서의 균사생장길이를 조사하였다. 대조균인 *Trametes versicolor*(TRV)와 *Phanerochaete chrysosporium*(PHC)을 비롯해 우수균주로 선발된 30개 균주의 29±1℃에서의 균사생장 정도는 다음 그림과 같이 나타났다.

대조균인 TRV를 비롯해 AS-4, AS-7, AS-8, CTS-7, CTS-12-1, KS-1, KS-1-1, PC-1, PC-2-3, SC-7, SJ-28, TK-12, YA-2는 균사생장이 좋아 PDA 배지 전체에 균사가 퍼져 배양성이 좋게 나타났다. 이것을 기후대 별로 나누어 보면 난대 지역에서 2균주, 온대남부 지역에서 2균주, 온대중부 지역에서 5균주, 온대북부 지역에서 4균주로 나타나 기후대에 따른 특이한 변이는 나타나지 않는 것으로 판단된다. 이와 함께 또 다른 리그닌 분해 우수균으로 알려진 PHC의 경우에는 균사생장이 저조하여 균사생장길이 29.5mm로 배지 전체 면적의 약 35% 정도의 성장률을 나타냈다. 또한 배지 전체에 균사가 퍼진 것은 아니었으나 KS-7, SC-8, CTS-1, SC-1의 순으로 90% 이상의 성장률을 보였으며, SJ-27, SC-12, SC-12-2, SJ-25-1의 순으로 80% 이상의 성장률을 나타냈다. 또 SC-3이 72.8%, PC-5와 JJ-3이 67.2%와 65.5%의 성장률을 보였고, SC-10과 JJ-3-1이 52.8%와 52.7%의 성장률을 나타냈다. 이 밖에 대조균인 PHC를 비롯해 AS-15, CTS-6, CTS-11, SJ-16에서 29.52%, 37.8%, 28.8%, 47.8%, 32.8%라는 50% 이하의 저조한 성장률을 나타냈다.

이상에서 보는 바와 같이 리그닌 분해효소 활성 시험에서 리그닌 분해 우수균으로 선발된 30개의 균들 중 AS-15, CTS-6, CTS-11, SJ-16의 4개 균주를 제외하고는 모두 50% 이상의 균사생장률을 나타냈으며, 대조균인 TRV를 비롯해 12개 균주에서 배지 전체에 퍼지는 좋은 균사생장률을 나타냈다.

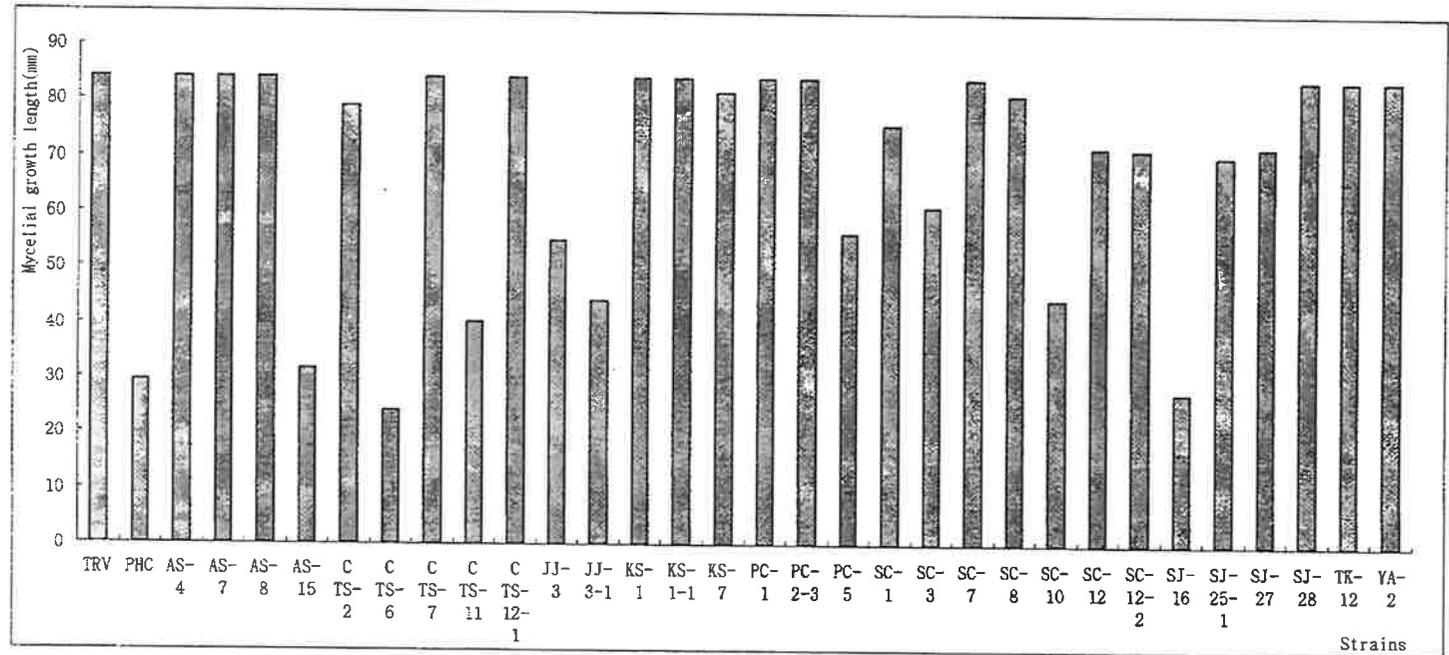


Figure 19. 선발 균주의 배양성(29°C에서의 균사생장길이)

2) 선발균의 효과

선발균의 효과는 각 기후대에서 우수균으로 선발된 30개 균주로 활엽수인 신갈나무 목분에서의 실제 리그닌 분해정도를 조사하여 비교하였다. 선발된 균의 성능 비교를 위해 대조균으로 리그닌 분해 우수균으로 알려진 *Trametes versicolor*(TRV)와 *Phanerochaete chrysosporium*(PHC)을 사용하였다. 우수균으로 선발된 30개 균주의 29±1℃에서 30일 동안 실시된 신갈나무 탈지 목분에서의 리그닌 분해율은 다음 그림과 같이 나타났다.

이들 30개 선발균의 신갈나무 탈지 목분에서의 리그닌 분해율은 최소 약 2%에서 최고 약 63%로 나타났다. SJ-28에서 신갈나무 탈지 목분 리그닌 분해율이 약 63%로 가장 높게 나타났는데 이것은 대조균인 리그닌 분해 우수균으로 알려진 *Trametes versicolor*의 42.6%보다 리그닌 분해율이 약 67% 이상 높게 나타나 SJ-28이 리그닌 분해능이 더 우수한 것으로 나타났다. 또한 *Trametes versicolor* 외에 또 하나의 대조균인 *Phanerochaete chrysosporium*는 신갈나무 탈지 목분에서의 리그닌 분해율이 약 3%로 신갈나무 탈지 목분에서는 리그닌 분해 효과가 거의 없는 것으로 나타났다.

SJ-28을 비롯해 SC-8에서 61.7%, SC-7에서 57.5%, PC-2-3에서 57%, CTS-11에서 56.7%, PC-1에서 53.5%, CTS-7에서 53%, AS-4에서 52.5%, KS-7에서 51%, YA-2에서 50.6%, SJ-27에서 50.3%, SC-1에서 50%로 12개 균주에서 리그닌 분해율이 50% 이상 나타났다. 또한 SC-12에서 48%, CTS-12-1에서 45.2%, CTS-2에서 45.1%, SC-12-2에서 45%, SJ-25-1에서 45%, CTS-6에서 43.7%로 리그닌 분해 우수균인 대조균 *Trametes versicolor*의 42.6%보다 리그닌 분해능이 우수하게 나타났다. 그리고 KS-1-1에서 *Trametes versicolor*의 리그닌 분해율과 같은 42.6%를 나타냈다.

이와 함께 AS-8은 41.7%, SJ-16은 41%, AS-7은 39.2%, SC-3은 39%, KS-1은 38.6%, AS-15와 SC-10은 29%, PC-5는 28%, TK-12는 5.8%, JJ-3은 3%로 대조균인 *Phanerochaete chrysosporium*와 같은 리그닌 분해율을 나타냈다.

이상의 실험 결과 리그닌 분해효소 활성 시험에서 선발된 30개 균주 중 19개 균주에서 두 종류의 대조균 중 리그닌 분해율이 더 높게 나타난 대조균인 *Trametes versicolor*보다 신갈나무 탈지 목분에서의 리그닌 분해율이 더 우수한 것으로 나타났다.

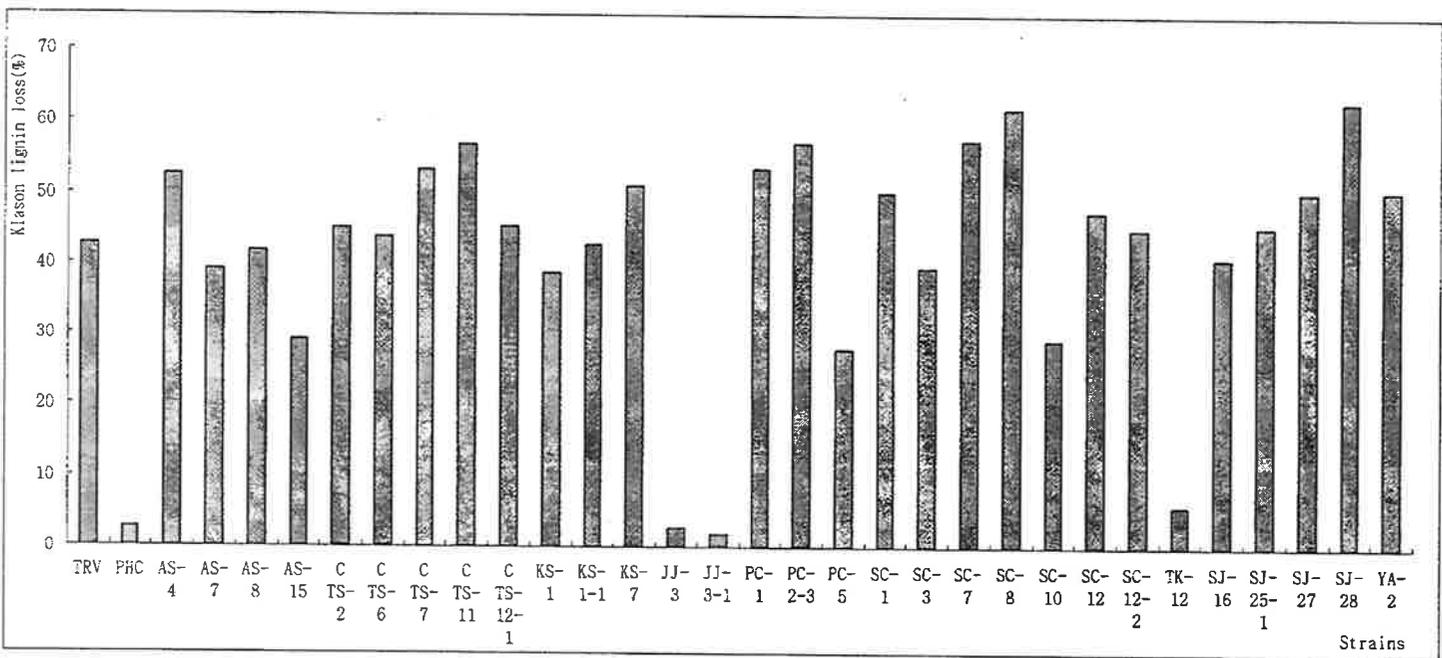


Figure 20. 30개 선발균의 신갈나무 목분에서의 리그닌 분해능

3. 우수 선발균의 특성 조사

리그닌 분해 효소 활성 시험을 통해 선발된 30개의 균주를 대상으로 신갈나무 탈지 목분에서의 실제 리그닌 분해능을 조사한 결과 가장 우수하게 리그닌 분해율을 나타낸 SJ-28을 토양개량제 개발을 위한 균주로 사용하기로 하였다. 이에 우수균으로 선발한 SJ-28의 생리적 특성을 알아보기 위해 온도별 배양성을 비롯해 리그닌 분해에 관한 효소적 특성을 조사하였다.

가. 재료 및 방법

1) 우수 선발균의 배양성

우수균으로 선발된 SJ-28의 온도별 특성을 조사하기 위해 배양온도 26℃, 29℃, 32℃에서의 균사생장 정도를 조사하였다. PDA 평판배지에 잘 배양된 균총을 ϕ 0.5cm로 펀칭하여 접종한 후 각 온도로 조절된 incubator에서 배양하였다. 균 접종 후 매일 균사생장 길이를 측정하였으며, 직경 84mm의 샬레에 균사체가 완전히 퍼질 때까지 측정하였다.

2) 우수 선발균의 리그닌 분해효소 특성

리그닌이 미생물에 의해 분해된다는 것은 리그닌이 미생물의 영양원으로 이용된다는 것이다. 리그닌이 미생물의 영양원으로 이용되기 위해서는 벤젠고리가 개열되어 저분자량의 지방산으로 분해되어야 한다. 그러나 리그닌은 대부분의 미생물에 의해 잘 분해되지 않는 난분해성 물질이다. 그러나 자연계에서는 백색부후균에 의해 분해가 이루어지며, 일부 특정균에 의해서만 분해가 일어난다. 즉 리그닌의 분해는 무정형 리그닌 거대분자로부터 탄소와 탄소결합, 에테르결합, 작용기 등이 산화작용에 의해 분해가 일어난다(신 등, 1996). 이러한 화학반응의 대부분은 효소를 촉매로 하게 된다.

지금까지 밝혀진 리그닌 분해에 관여하는 주요한 효소는 lignin peroxidase, manganese peroxidase, laccase 등이 알려져 있다. 리그닌을 분해하는 여러 효소들 중 laccase와 manganese peroxidase는 상호 보완작용을 통해 리그닌 분해효과를 상승시키는 것으로 알려져 있으며(Jager et al., 1985 ; Bmpus et al., 1989), 리그닌 분해 균주로부터 다량의

laccase와 manganese peroxidase를 생산하고 그 활성을 높이기 위해서는 탄소 및 질소원을 제한한 액체배지를 사용하여야 한다고 보고되고 있다(조 등, 1998).

그리고 일부 백색부후균에서는 lignin peroxidase는 검출되지 않고 manganese peroxidase만 존재하는 경우도 있다고 알려져 있다. 또한 laccase는 C_r-C_p 결합의 절단 등의 역할을 하며, manganese peroxidase에 의한 페놀성 리그닌 분해는 침엽수에 많은 guaiacyl lignin보다 활엽수에 많이 존재하는 syringyl lignin을 훨씬 잘 산화시킨다(신 등, 1996)고 알려져 있다.

이에 따라 본 연구과정에서 우수균으로 선발된 SJ-28의 리그닌 분해 효소적 특성은 laccase와 manganese peroxidase에 대해 조사하였다. 이들의 균체 외 효소량을 조사하기 위해 pH 6.3으로 조절된 액체배지에 SJ-28의 균총을 편칭하여 접종한 후 29±1℃의 shaking incubator에서 150rpm으로 배양하였다. 균 배양 3일 후부터 매일 일정량의 균체 배양액을 취해 여과한 후 이것을 조효소액으로 사용하였으며, 이 조효소액의 pH를 측정하고 각 효소활성을 UV-spectrometer를 이용해 측정하였다.

우수균으로 선발된 SJ-28의 리그닌 분해 효소 활성을 비교해 보기 위해 지금까지의 리그닌 분해 효소 활성 및 리그닌 분해능 시험에 사용하였던 리그닌 분해 우수균으로 알려진 *Trametes versicolor*를 대조균으로 사용하였으며, laccase와 manganese peroxidase의 균체 외 분비 활성을 비교해 보았다.

리그닌 분해효소 측정을 위한 균 배양용 액체배지의 조성은 다음 table 4와 같다(조 등, 1998).

Table 4. 효소활성 측정을 위한 균 배양용 액체배지의 조성

배지성분	함량
Glucose	1%
L-asparagine	0.25%
MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.05%
KH ₂ PO ₄	0.047%
Na ₂ HPO ₄	0.048%
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	50mg
Mn(CH ₃ COO) ₂	8.5mg
FeCl ₃ · 6H ₂ O	3.2mg
Zn(NO ₃) ₂	2mg
CuSO ₄ · 5H ₂ O	3.91mg
Thiamine	0.5mg
pH	5.5

가) Laccase 활성

우수균으로 선발된 SJ-28과 대조균인 *Trametes versicolor*를 shaking incubator에서 150rpm으로 액체배양을 하며 균 접종 후 3일째부터 매일 효소활성을 측정하였다. Clean bench 내에서 무균적으로 일정량의 배양액을 취해 여과하여 효소 측정을 위한 조효소액으로 하였다. 조효소액의 pH를 측정한 후 조효소액 1.9ml를 citrate-phosphate buffer(pH 6.45, 0.02M) 1.7ml와 혼합하고 5mM의 μ -phenylenediamine 0.3ml를 첨가하여 잘 흔들어 섞어준 다음 UV/vis- spectrometer(Perkin Elmer instruments, Lambda 35)를 이용해 525nm에서 흡광도를 측정하였다.

효소활성은 다음 계산식에 의해 환산하였다(임 등, 1990).

$$\text{효소활성(unit/min)} = \frac{\Delta E}{\Delta t} \times 15.3846$$

ΔE : 흡 광 도

Δt : 반응시간(min)

나) Manganese peroxidase 활성

0.1M guaiacol 수용액 1.0ml, 0.1M 인산완충액 1.0ml를 혼합한 후 이 혼합액에 각 균의 배양액을 취해 여과한 조효소액 1.0ml를 혼합하고 30mM H₂O₂액 0.027ml를 첨가하여 잘 흔들어 섞어주었다. 이 효소 측정액을 UV/vis-spectrometer를 이용해 470nm에서 흡광도를 측정하였다.

효소활성은 다음 계산식에 의해 환산하였다(Ha, 2001).

$$\text{효소활성(unit/min)} = \frac{\Delta E}{E} \times \Delta t$$

E : 5,570 (guaiacol 산화물의 흡광계수)

ΔE : 흡 광 도

Δt : 반응시간(min)

나. 결과 및 고찰

1) 우수 선발균의 배양성

신갈나무 탈지 목분에서의 리그닌 분해능 시험에서 리그닌 분해율이 가장 높게 나타나 우수균으로 선발된 SJ-28의 생리적 특성을 알아보기 위해 몇몇 온도에서의 배양성을 조사하였다. 배양성은 각 온도에서의 일정기간 동안의 균사 성장 길이로 조사하였다.

다음 그림은 각 온도에서의 SJ-28의 균사성장 정도를 나타낸 것으로 배양온도 29℃에서의 균사 성장정도가 가장 좋았으며, 배양기간 6일에 직경 84mm의 PDA 평판배지 위를 균사체가 완전히 덮었다.

한편 SJ-28의 26℃와 32℃에서의 균사생장은 29℃보다는 조금 저조했으나 배양기간 7일에는 29℃와 마찬가지로 PDA 평판배지 위를 균사체가 완전히 덮었다. 그리고 26℃보다는 32℃에서의 균사생장이 더 좋게 나타났다.

따라서 리그닌 분해 우수균으로 선발된 SJ-28의 배양성은 균사체 생장의 경우 배양온도 29℃에서 가장 좋은 것으로 판단되며, 이것을 기준으로 토양개량제를 위한 SJ-28에 의한 톱밥의 부숙과정에도 적용시켰다.



Figure 21. 우수균으로 선발된 SJ-28 균사체

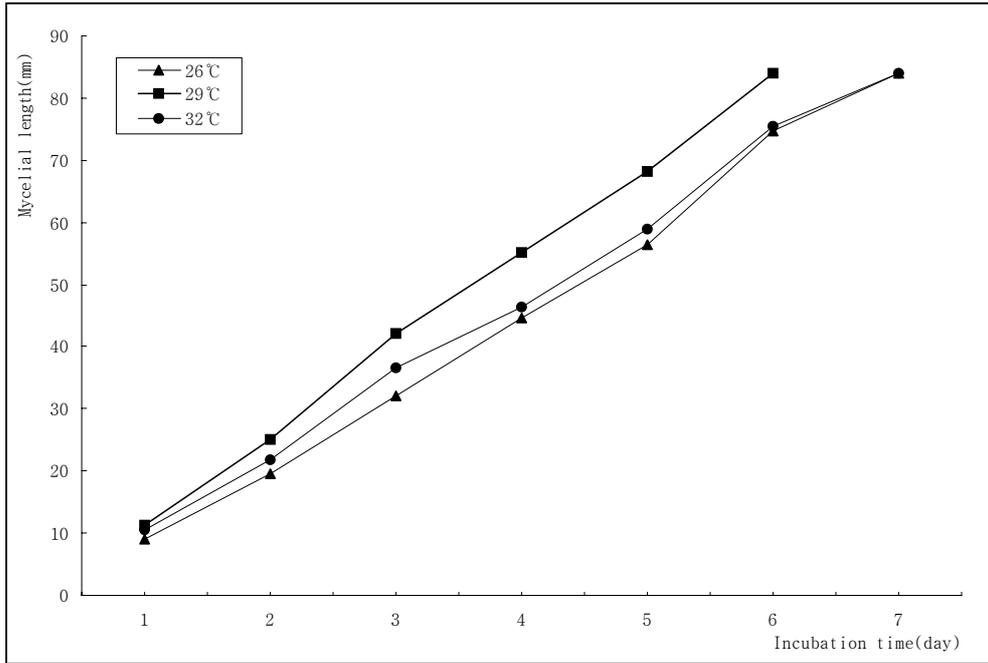


Figure 22. 우수균으로 선발된 SJ-28의 각 온도에서의 균사 성장

2) 우수 선발균의 리그닌 분해효소 특성

신갈나무 탈지 목분에서의 리그닌 분해능 시험에서 리그닌 분해율이 가장 높게 나타나 우수균으로 선발된 SJ-28의 생리적 특성을 알아보기 위해 몇몇 온도에서의 배양성을 조사하는 한편 리그닌 분해효소 활성화에 대해 조사하였다.

가) Laccase 활성

소량의 tannic acid나 gallic acid를 첨가하여 만든 고체배지에 백색부후균을 배양하면 균체 주변에 갈색의 산화대가 형성된다. 이러한 반응을 Bavendamm반응이라 하는데 백색부후균에서는 양성을 나타내지만 갈색부후균에서는 음성을 나타낸다. 이 반응은 균에서 분비된 laccase에 의한 산화반응에 의해 일어나며 laccase는 백색부후균에 널리 분포하고 있지만 갈색부후균에는 존재하지 않는다.

이 반응은 리그닌 분해효소 활성 시험에도 이용되는 방법으로 SJ-28에서 반응이 나타나 SJ-28이 백색부후균임을 알 수 있었고 따라서 laccase의 균체 외 분비 활성을 측정하였다. 균 배양 후 3일부터 배양 여액으로부터 조효소액을 취해 pH를 측정하고 활성을 측정하였다.

다음 그림은 선발 균 SJ-28과 대조균인 TRV의 배양 기간에 따른 조효소액의 laccase의 변화를 나타낸 것이다. SJ-28의 경우 배양 초기에는 서서히 증가하다 7일 이후 급격한 증가를 보였으며 9일에 최고의 값을 나타내고 감소하였다. 반면 TRV는 배양기간 11일까지 아주 미미한 반응을 보이다 배양 12일째에 상승을 하였다.

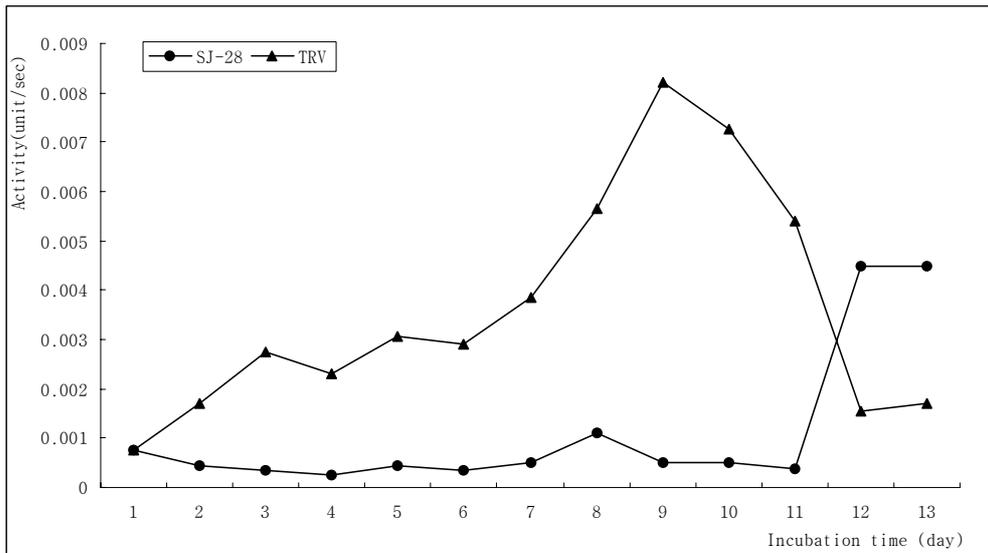


Figure 23. 배양일수에 따른 Laccase의 변화

나) Manganese peroxidase 활성

리그닌을 분해하는 균은 laccase, manganese peroxidase, lignin peroxidase 세가지 형의 phenoloxidase가 존재한다. 백색부후균은 반드시 phenoloxidase를 분비하지만 갈색부후균은 이러한 종류의 효소를 생성하고 있지 않는다(신 등, 1996)고 알려져 있다. Manganese peroxidase는 백색부후균에 의해 부후된 목재에 MnO_2 가 퇴적되어 있는 것을 보고 망간을 산화하는 효소가 존재함을 추정하였다. 이 효소는 직접 리그닌 관련 화합물을 산화하지는 않지만 H_2O_2 존재 하에서 Mn^{+2} 를 Mn^{+3} 으로 산화시키며 Mn^{+3} 는 laccase와 마찬가지로 페놀성 리그닌과 리그닌 관련물질을 산화시키지만 비페놀성 리그닌은 산화시키지 못한다. 일부 백색부후균에서는 lignin peroxidase는 검출되지 않고 manganese peroxidase만 존재하는 경우도 있다.

다음 그림은 선발 균 SJ-28과 대조균인 TRV의 배양 기간에 따른 조효소액의 manganese peroxidase의 변화를 나타낸 것이다. SJ-28의 경우 배양 초기에는 반응이 거의 나타나지 않다가 6일 째에 최고 값을 보인 후 7일 이후부터 감소하였다. 반면 TRV는 배양기간 7일까지 아주 미미한 반응을 보이다 배양 8일째에 상승을 하기 시작하여 14일까지 계속 상승하였다.

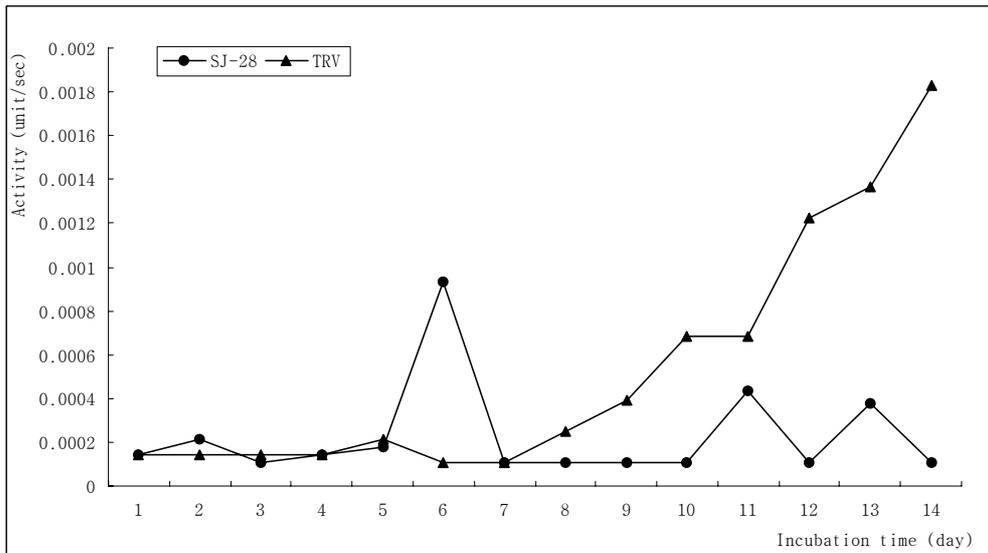


Figure 24. 배양일수에 따른 Manganese peroxidase의 변화

제 2 절 톱밥의 부숙화 활성을 위한 조건 구명

톱밥을 이용한 퇴비 등 토양개량제는 활엽수가 침엽수보다 비료로서의 효과가 높다는 보완요구사항에 따라 시료 및 균주 개발도 활엽수인 신갈나무를 중심으로 활성을 구명하고자 하였다. 산림유기물의 대부분을 차지하는 목재는 다른 식물성 재료에 비해 분해속도가 최소 6개월에서 수년 이상으로 장기간이 소요된다. 목재는 유기물로서 다양한 영양물질을 함유하여 다종의 미생물을 증식할 수 있는 자원이다. 유기물의 이용방법 중에는 비료화, 퇴비화, 토양개량제 개발 등이 있다. 이러한 유기물인 목재를 비료, 퇴비 등 토양개량제로 사용하기 위해선 목재를 톱밥화하여 부숙시켜야 한다.

백과사전에 의하면 퇴비란 '짚·잡초·낙엽 등을 퇴적하여 부숙시킨 비료로 두엄이라고도 한다. 농가에서는 마당에 짚 등을 퇴적하여 물을 끼얹거나 석회질소 등의 질소질 비료를 가해 준다. 그러면 발효부숙이 빠르고 양질의 퇴비가 된다. 퇴비를 만들 때 간단한 움막을 지어 그 속에 쌓아 두면, 비를 그대로 맞게 하는 것보다 질소나 칼륨의 유실이 적어 좋은 퇴비를 만들 수 있다. 퇴비의 비료성분은 재료, 만드는 방법, 부숙 정도, 첨가물의 유무 등에 따라 매우 다르나, 보통 수분 60~80%, 질소 0.2~0.5%, 인산 0.2~0.5%, 칼륨 0.4~1.5% 정도이며, 질소와 칼륨의 비효가 크다. 질소는 유기태인 것이 많고 흙 속에서 서서히 분해하므로 작물에는 지효성이 좋은 질소비료가 된다. 퇴비 속에 있는 유기물은 흙 속에서 미생물의 작용에 의해 부식으로 변해간다. 부식원으로서의 퇴비는 흙의 보수성이 증가되고 흙의 물리성을 좋게 하며, 흙을 경운하기 쉽게 만드는 등 여러 가지 효과가 있다. 또한 흙의 흡비력을 증가시키고 흙의 산성화를 저지하는 힘을 크게 하는 등, 흙의 화학성 개량에도 도움이 된다.'고 되어 있다.

또한 미국 농무성의 토양비료 용어집에는 '퇴비란 유기물잔사 또는 유기물잔사와 토양을 혼합하여 미생물 분해를 쉽게 하도록 하기 위하여 수분 조절 후 퇴적시켜 생산된 것을 말한다' 라고 적혀 있다. 퇴비화 처리는 이를 위한 공정이며 Golueke는 '미숙한 유기성 고형폐기물을 미생물로 안정화시켜 부식상의 토양개량제로 개량하는 방식이다. 최근에는 호기성의 중·고온균으로 처리하기 때문에 모든 것이 미생물의 활성도, 즉 미생물의 수나 종류, 나아가 환경 요인에 영향을 받는다'라고 설명하고 있다.

그러나 목재를 원료로 한 퇴비나 토양개량제 등은 목재의 탄소율이 높아 충분히 부숙되지 않은 상태로 토양 내에 들어갈 경우 질소 기아 현상의 가능성이 높을 뿐더러 발효되

면서 작물 뿌리에 열상을 입힐 위험성이 높다. 이러한 부작용을 가능한 없애기 위해서는 다른 재료에 비해 부숙기간이 상대적으로 긴 재료인 목재를 최대한 완숙을 시켜 퇴비나 토양개량제 등으로 사용하여야 한다.

따라서 톱밥의 부숙기간을 단축시키고 부숙화 활성을 위한 방안으로 톱밥의 입자 크기 및 전처리가 부숙화에 미치는 영향을 구명하고자 신갈나무 톱밥의 각 크기별 부숙도를 조사하는 한편 각 크기 혼합 톱밥의 부숙도를 추가로 조사하였다. 이와 함께 전처리로서 신갈나무 톱밥을 열처리 및 알카리 처리를 실시하여 부숙도를 조사하였다.

부숙도는 균배양에 따른 톱밥의 중량감소율로 조사하였다. 톱밥이 부숙 또는 발효된다는 것은 톱밥이 부후 된다는 것이라 할 수 있다. 목재는 부후하게 되면 구성성분이 분해되므로 중량이 감소한다. 따라서 중량감소율을 부숙의 판단기준으로 삼을 수 있다.

1. 톱밥의 크기 및 전처리에 따른 변이

톱밥의 입자크기 및 전처리가 부숙화에 미치는 영향을 알아보기 위해 실험을 실시하였다. 톱밥 제조를 위한 신갈나무는 20년 생으로 충주 국유림 관리소에서 분양 받아 목재 분쇄기로 파쇄하여 기건상태로 음건한 후 사용하였다.



Figure 25. 톱밥 제조를 위한 신갈나무 원목



Figure 26. 목재 파쇄기를 이용한 톱밥제조

가. 재료 및 방법

1) 톱밥의 크기에 따른 선별

톱밥의 입자크기가 부숙화에 미치는 영향을 알아보기 위해 톱밥을 입자 크기별로 선별하여 실험을 실시하였다. 목재 분쇄기로 파쇄하여 기건상태로 음건하여 보관중인 톱밥을 자동 선별기를 이용해 입자 크기별로 선별하였다. 톱밥의 크기는 15~10mm, 10~5mm, 5mm 이하와 15~10mm, 10~5mm, 5mm 이하의 3가지 크기의 톱밥을 골고루 섞은 것인 총 4가지 크기로 분류하여 실험을 실시하였다.

각 크기별 톱밥은 균 생육 적정 함수율인 65%로 함수 처리를 실시한 후 멸균 균상 재 배봉지에 일정량씩 담아 무균상태로 만들기 위해 autoclave에서 120℃, 1.2 kgf/cm²로 60분간 멸균작업을 실시하였다. 멸균작업이 끝난 후 기압이 상압 상태로 떨어질 때까지 기다린 다음 clean bench 내로 옮겨 상온이 될 때까지 식혔다.

만들어진 톱밥배지에 리그닌 분해균 선발과정에서 리그닌 분해율이 우수하게 나타나 먼저 선발된 선발균 중 하나인 AS-4를 다량 배양하여 clean bench 내에서 잡균이 들어가지 않게 일정량씩 접종하여 29±1℃의 incubator에서 배양하였다. 균 접종 후 초기에는 일주일 간격으로 무게를 측정하다 50일이 경과한 후부터는 10일 간격으로 중량을 측정하였다. 신갈나무 톱밥에의 균 배양은 총 116일 동안 진행하였다.



Figure 27. 톱밥의 입자 크기별, 전처리별 시험에 사용된 균주 AS-4



Figure 28. 선별해 놓은 입자 크기별 톱밥

2) 전처리에 따른 톱밥처리

전처리에 따른 톱밥의 부숙화 활성 비교 실험은 톱밥의 크기에 따른 부숙도 실험에서 중량감소율 조사에 의해 나타난 결과에 따라 톱밥의 입자 크기가 작을수록 활성이 좋게 나타난 5mm 이하인 작은 입자 크기의 톱밥으로 실시하였다. 대조구로는 무처리한 톱밥을 사용하였으며, 동일한 멸균작업과 균배양을 실시해 비교 측정하였다.

가) 열수처리

전처리의 한 방법으로 보완요구 사항에 따라 톱밥 입자 크기 5mm 이하의 톱밥을 용기에 담아 침수시킨 후 autoclave에서 100℃로 12시간 열수처리하여 부숙도를 조사하였다. 부숙도는 균배양에 따른 중량감소율로 조사하였다. 톱밥을 균 생육 적정 함수율인 65%로 함수 처리를 실시한 후 균상 재배봉지에 일정량씩 담아 무균상태로 만들기 위해 autoclave에서 120℃, 1.2 kgf/cm²로 60분간 멸균작업을 실시하였다. 멸균작업이 끝난 후 기압이 상압 상태로 떨어질 때까지 기다린 다음 clean bench 내로 옮겨 상온이 될 때까지 식혔다.

만들어진 톱밥배지에 리그닌 분해율이 가장 우수하게 나타나 우수균으로 선발된 SJ-28을 다량 배양하여 clean bench 내에서 잡균이 들어가지 않게 일정량씩 접종하여 29±1℃의 incubator에서 배양하였다.

균 접종 후 일주일 간격으로 7주간 중량을 측정하였으며, 열수처리한 신갈나무 톱밥에서의 균 배양은 총 49일 동안 진행하였다.

나) 알칼리 처리

전처리의 또 다른 방법으로는 일반적으로 리그닌 제거를 위해 사용하는 알칼리 처리를 실시하였다. 톱밥을 용기에 담아 9%-NaOH 수용액에 침지한 후 자주 저어주며 30분간 처리하였다. 처리한 톱밥은 1%-phenolphthalein 용액으로 적정을 실시하며 세척액에 색변화가 나타나지 않아 NaOH가 용출되어 나오지 않을 때까지 냉수로 세척하였다. 세척한 톱밥은 과다한 수분 제거를 위해 건조기에서 적절히 건조시킨 후 부숙도를 조사하였다. 부숙도는 톱밥을 균 생육 적정 함수율인 65%로 함수 처리를 실시한 후 균상 재배봉지에 일정량씩 담아 무균상태로 만들기 위해 autoclave에서 120℃, 1.2 kgf/cm²로 60분간 멸균작업

을 실시하였다. 멸균작업이 끝난 후 기압이 상압 상태로 떨어질 때까지 기다린 다음 clean bench 내로 옮겨 상온이 될 때까지 식혔다.

만들어진 톱밥배지에 리그닌 분해율이 가장 우수하게 나타나 선발된 SJ-28을 다량 배양하여 clean bench 내에서 잡균이 들어가지 않게 일정량씩 접종하여 $29\pm 1^\circ\text{C}$ 의 incubator에서 배양하였다.

부숙도 조사를 위해 열수처리한 톱밥과 마찬가지로 부후 조작 후 일주일 간격으로 7주간 중량을 측정하였으며, 신갈나무 톱밥에의 균 배양은 총 49일 동안 진행하였다.

나. 결과 및 고찰

1) 톱밥의 크기에 따른 변이

톱밥의 부숙화 활성을 위한 조건을 구명하기 위해 먼저 입자 크기가 부숙화 활성에 미치는 영향을 알아보려고 하였다. 목재 파쇄기로 파쇄한 신갈나무 톱밥을 자동 선별기로 3가지 크기로 선별하고 보완 요구 사항에 의해 3가지 크기의 톱밥을 골고루 섞어 또 한가지의 크기로 만들어 실험을 실시하였다.

부숙도는 톱밥의 중량감소율로 조사하였다. 톱밥이 부숙 또는 발효된다는 것은 톱밥이 부후 된다는 것이라 할 수 있다. 목재는 부후하게 되면 구성성분이 분해되므로 중량이 감소한다. 따라서 중량감소율을 부숙의 판단기준으로 삼을 수 있다.

입자 크기에 따른 부숙도 비교 실험은 1차 실험에서 선발된 균으로 리그닌 분해 우수균으로 선발된 AS-4로 총 116일 동안 진행하였다. AS-4 균주는 목분에서의 실제 리그닌 분해능 조사 실험에서 동일 조건하에서 리그닌 분해율이 50% 이상 나타났으며, 대조균으로 사용한 리그닌 분해 우수균주로 알려진 *Trametes versicolor*(TRV)의 43%보다 리그닌 분해능이 높게 나타난 균주였다.

Figure 29에서 보는 바와 같이 각각의 톱밥에 균을 접종하여 116일 동안 부숙시킨 결과 가장 작은 톱밥 크기인 5mm 이하에서 47.44%로 중량감소율이 가장 높게 나타났으며, 10~5mm에서 44.14%의 중량감소율을 나타내었고, 15~10mm에서 43.59%의 중량감소율을 나타내었다. 가장 적게 중량감소율을 나타낸 것은 3가지 입자를 섞은 것으로 40.35%의 중량감소율을 나타내었다. 이것으로 보아 톱밥의 입자 크기가 작을수록 부숙이 잘 되는 것으로 판단되며, 따라서 추후의 모든 실험은 5mm 이하 크기의 톱밥으로 실험을 진행하였다.

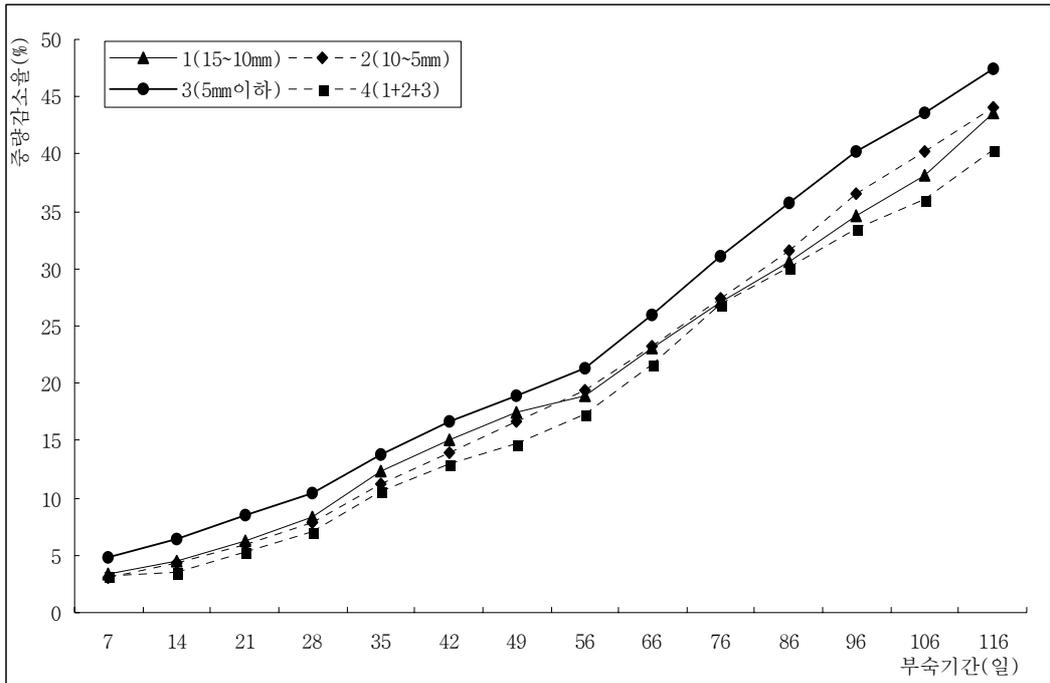


Figure 29. 톱밥 크기에 따른 부숙기간 별 중량감소율



Figure 30. 균배양 후의 톱밥

2) 톱밥의 전처리에 따른 변이

톱밥의 부숙화 활성을 위한 조건을 구명하기 위해 크기의 차이에 의한 변이에 이어 전처리에 의한 변이를 조사하기 위해 열수 처리와 알칼리 처리로 9%-NaOH 처리를 실시하였다. 톱밥의 크기에 따른 변이 조사 결과에 따라 5mm 이하 크기의 톱밥을 전처리 실험에 사용하였다.

톱밥의 부숙도는 중량감소율로 조사하였으며, 처리 균주는 리그닌 분해율이 가장 우수하게 나타난 SJ-28을 사용하였다. 전처리별 부숙 실험은 7주간 실시하였으며, 무처리 톱밥을 대조구로 하였다.

Figure 31에서 보는 바와 같이 무처리구를 비롯해 열수처리 및 9%-NaOH 처리 톱밥에 균을 접종하여 49일 동안 배양한 결과 무처리구에서 가장 많은 중량감소율을 나타내었으며 그 다음으로는 열수처리를 실시한 톱밥이었고 가장 적은 중량감소율을 나타낸 처리는 9%-NaOH 처리 톱밥이었다. 각 처리별 중량감소율은 무처리 톱밥에서 20.24%, 열수 처리 톱밥에서 12.93%, 9%-NaOH 처리 톱밥에서 10.47%를 나타내었다. 이 결과는 균 접종 후 7일 간격으로 7주간 중량 측정을 실시하였는데 매주 같은 경향을 보였다.

이것은 톱밥의 부숙을 촉진시키기 위해 비용을 들여 인위적인 처리를 하지 않아도 됨을 나타내는 것으로, 톱밥에의 처리보다는 톱밥 즉, 목재를 보다 빨리 분해시키는 균주를 선발하는 것이 더 효과적일 것으로 판단된다.

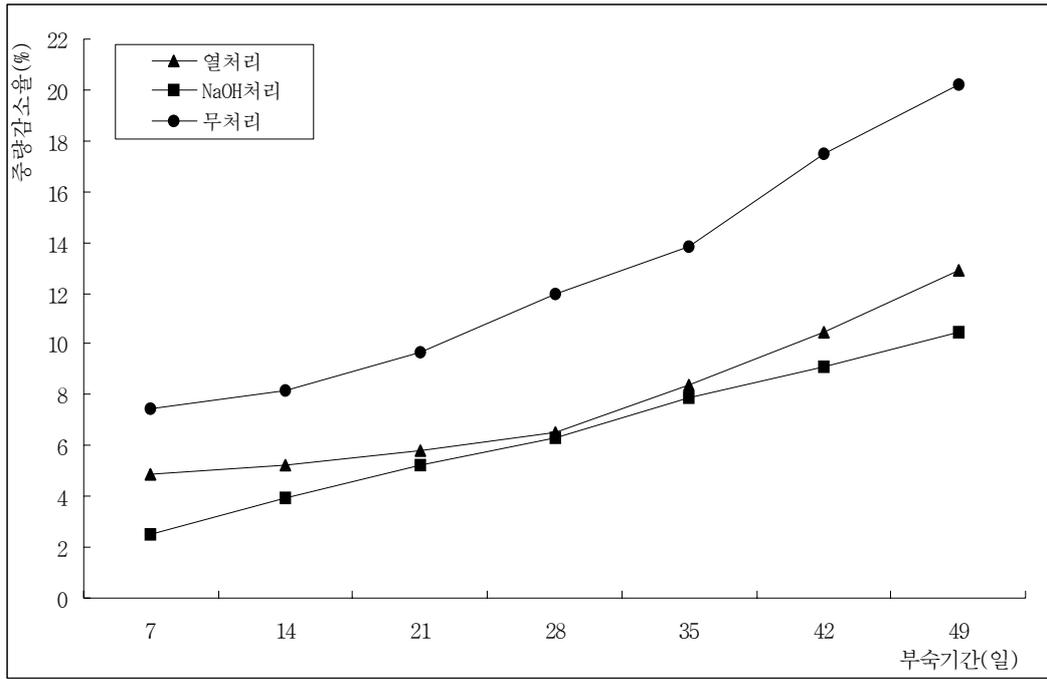


Figure 31. 전처리에 따른 부숙기간 별 중량감소율

2. 목재의 조성분 함량 변이 분석

목재의 조성분 함량 변이 분석은 목재의 성분 중 난분해 물질인 리그닌과 목재의 성분 분해 특성을 알아보기 위해 리그닌 외 다른 주성분인 전섬유소를 중심으로 실시하였다. 리그닌 정량은 Klason법을 이용하였으며, 전섬유소는 아염소산법으로 정량하여 측정하였다. 균처리 전의 신갈나무 탈지 목분 톱밥과 균처리 후의 탈지 목분 톱밥의 리그닌과 전섬유소 함량을 정량하여 조성분 함량의 변이 정도를 측정하였다.

목재의 조성분 함량 변이 분석에 사용한 균주는 리그닌 함량 측정의 경우 리그닌 분해 효소 활성 시험에서 선발된 30개의 균주를 사용하였으며, 전섬유소 함량 측정의 경우는 리그닌 함량 측정에서 리그닌 분해율이 50%를 넘은 12개 균주를 사용하였다. 리그닌 함량 변이는 제1절 톱밥의 부숙화 활성을 위한 균선발에서 선발균의 효과 비교를 위해 실시한 리그닌 분해능 시험 결과와 같다. 대조균으로는 리그닌 분해 우수균으로 알려진 *Trametes versicolor*를 사용하였다.

가. 재료 및 방법

톱밥의 조성분 함량 변이 측정을 위해 신갈나무 톱밥을 60~80mesh로 선별한 후 탈지하여 사용하였다. 톱밥을 탈지하기 위해 먼저 soxhlet receiver에 alcohol-benzene 혼합액 (1:2, v/v)을 적당량 넣고, 선별한 톱밥을 원통여과지에 적당량을 넣어 soxhlet extractor 안에 넣었다. 약 95°C의 항온수조에서 soxhlet extraction apparatus를 이용해 6~8시간 끓인 후 원통여과지를 잘 꺼내 혼합액을 증발시켜 리그닌 및 전섬유소 함량 측정을 위한 시료로 사용하였다.

1) 리그닌 함량 측정

균신갈나무 탈지 목분에의 균배양 전과 균배양 후의 리그닌 함량 변이 정도를 측정하기 위해 원료 톱밥인 신갈나무 탈지 목분의 리그닌 함량을 측정하였다. 또한 탈지 목분에 일정 기간 균배양 후 잔여 리그닌 함량을 측정하여 리그닌 함량의 변이를 조사하였다. 리그닌 함량은 Klason법으로 측정하였다.

균배양 전의 원료 탈지 목분의 리그닌 함량 분석을 위해 신갈나무 탈지시료를 비이커

에 넣고 12~15℃의 72%-H₂SO₄ 15ml를 서서히 가하면서 유리병으로 잘 저어 섞어 주었다. 실온에서 자주 각반하면서 2시간 동안 방치한 후 둥근플라스크에 옮겨 증류수를 가해 황산농도를 3%로 희석하여 역류냉각기를 붙여 4시간 가열하였다. 가열 후 둥근플라스크의 내용물을 미리 중량을 구하여 놓은 1G4(2G4) glass filter로 흡인여과기를 이용해 온수로 세척한 다음 105±2℃의 건조기에서 항량에 달할 때까지 건조하였다. 건조한 glass filter는 desiccator 내에서 실온까지 방냉한 후 무게를 측정하였다. 리그닌 함량은 다음 식에 의해 계산하였다.

$$\text{리그닌 함량(\%)} = \frac{G_2 - G_1}{S} \times 100$$

G₂ : 처리 후 시료가 담긴 글래스필터의 전건무게(g)

G₁ : 처리 전 글래스필터의 전건무게(g)

S : 전건 시료무게(g)

2) 전섬유소 함량 측정

리그닌 함량 변이와 함께 선발균의 목재 분해 특성을 알아보려고 리그닌 외 다른 주성분인 전섬유소 함량 변이를 조사하였다. 원료 톱밥인 신갈나무 탈지 목분의 전섬유소의 함량을 측정하고 일정기간 균배양 후 잔여 전섬유소 함량을 측정하여 전섬유소의 함량 변이를 조사하였다. 전섬유소 함량은 아염소산법으로 측정하였다.

탈지한 신갈나무 톱밥시료를 삼각플라스크에 넣고 증류수 150ml를 가해 잘 섞어 준 후 삼각플라스크에 뚜껑을 씌웠다. 증류수에 침지된 탈지 목분이 들은 삼각플라스크를 항온수조에서 70℃가 될 때까지 가온한 후 acetic acid(glacial) 0.2ml를 가하여 잘 저어준 다음 sodium chlorite(NaClO₂) 1g을 가하고 저어주면서 70~80℃에서 1시간 더 가온하였다. 이것을 냉각하지 말고 다시 같은 방법으로 acetic acid(glacial) 0.2ml를 가해 잘 저어준 다음 sodium chlorite 1g을 가하고 1시간동안 70~80℃로 계속 가온하였다.

Sodium chlorite를 같은 방법으로 3회 처리하였으며, 처리를 끝낸 후 미리 중량을 구하여 놓은 1G3(2G3) glass filter로 흡인여과기를 이용해 증류수로 세척한 다음 acetone으로 씻어 내었다. 시료가 담긴 glass filter를 105±2℃의 건조기에서 항량에 달할 때까지 건조시킨 후 desiccator 내에서 실온까지 방냉한 후 무게를 측정하였다. 전섬유소 함량은 다음

식에 의해 계산하였다.

$$\text{전섬유소(\%)} = \frac{G_2 - G_1}{S} \times 100$$

G₂ : 처리 후 시료가 담긴 글래스휠터의 전건무게(g)

G₁ : 글래스휠터의 전건 무게(g)

S : 처리 전 전건 시료 무게(g)

나. 결과 및 고찰

1) 리그닌 함량 변이

균배양 전과 균배양 후의 리그닌 함량 변이를 조사하기 위해 먼저 원료 톱밥인 신갈나무 탈지 목분의 리그닌 함량을 측정하였으며 일정 기간 균배양 후 잔여 리그닌 함량을 측정하여 리그닌 함량의 변이를 조사하였다.

원료 톱밥인 신갈나무 탈지 목분의 리그닌 함량은 24.81% 였으며, 리그닌 분해 효소 활성 시험에서 리그닌 분해균으로 선발된 30개 균주에 의한 신갈나무 탈지 목분의 리그닌 분해 후의 리그닌 잔량은 다음과 같이 나타났다. 대조균인 *Trametes versicolor*(TRV)의 경우 리그닌 잔량이 약 14.25%로 잔량비가 약 57.43% 이었으며 전체 리그닌 함량에 대한 리그닌 분해율이 약 42.6%였다.

본 실험에서 리그닌 잔량이 가장 적게 나타나 리그닌 분해능이 가장 좋았던 균주는 SJ-28로 리그닌 잔량이 약 9.18%로 잔량비가 약 37% 이었으며 전체 리그닌 함량에 대한 리그닌 분해율은 약 63%였다. 이와 함께 SC-8은 리그닌 잔량이 약 9.50%로 잔량비가 약 38.27% 이었으며 리그닌 분해율은 약 61.7%로 리그닌 분해능이 두 번째로 우수하게 나타났다. SC-7은 리그닌 잔량이 약 10.55%로 잔량비가 약 42.51% 이었으며 리그닌 분해율이 약 57.5%로 나타났고, PC-2-3은 리그닌 잔량이 약 10.66%로 잔량비가 약 43% 이었으며 리그닌 분해율이 약 57%였다. CTS-11은 리그닌 잔량이 약 10.75%로 잔량비가 약 43.3% 이었으며 리그닌 분해율이 약 56.7%, PC-1은 리그닌 잔량이 약 11.55%로 잔량비가 약 46.5% 이었고 리그닌 분해율은 약 53.5% 이었으며, CTS-7은 리그닌 잔량이 11.58%로 잔량비가 약 47% 이었고 리그닌 분해율이 약 53%, AS-4는 리그닌 잔량이 약 11.78%로 잔량비

가 약 47.5% 이었으며 리그닌 분해율이 약 52.5% 였다. KS-7은 리그닌 잔량이 약 12.16%로 잔량비는 약 49% 였으며 리그닌 분해율이 약 51%로 나타났고, YA-2는 리그닌 잔량이 약 12.26%로 잔량비는 약 49.4% 였으며 리그닌 분해율이 약 50.6% 이었다. SJ-27은 리그닌 잔량이 약 12.34%로 잔량비는 49.7% 였고 리그닌 분해율이 약 50.3%, SC-1은 리그닌 잔량이 약 12.37%로 잔량비가 50% 이었으며 따라서 리그닌 분해율이 약 50%를 나타내어 선발된 30개 균주 중 12개 균주에서 리그닌 분해율이 50%를 넘었다.

또한 SC-12는 리그닌 잔량이 약 13.02%로 잔량비는 약 52% 이었고 리그닌 분해율이 약 48%였으며, CTS-12-1은 리그닌 잔량이 약 13.6%로 잔량비가 약 54.8% 이었으며 리그닌 분해율이 약 45.2%, CTS-2는 리그닌 잔량이 약 13.61%로 잔량비가 약 54.9% 였고 리그닌 분해율이 약 45.1%, SC-12-2는 리그닌 잔량이 약 13.65%로 잔량비가 약 55%를 나타내었으며 리그닌 분해율이 약 45% 이었다. SJ-25-1은 리그닌 잔량이 약 13.53%로 잔량비가 약 55% 이었으며 리그닌 분해율이 약 45%로 SC-12-2와 거의 같은 비율을 나타내었고, CTS-6은 리그닌 잔량이 약 13.98%로 잔량비가 약 56.33% 이었고 리그닌 분해율이 약 43.67%, KS-1-1은 리그닌 잔량이 약 14.25%로 잔량비가 약 57.3% 였고 리그닌 분해율이 약 42.6%를 나타내 대조균으로 사용한 TRV와 같은 분해율을 나타내었다. 이것으로 선발된 30개 균주 중 대조균인 TRV보다 리그닌 잔량이 적어 리그닌 분해율이 높게 나타난 균주는 19개 균주였다.

30개 균주 중 19개 균주를 제외한 나머지 균주에 의한 리그닌 잔량을 순서대로 살펴보면 AS-8은 리그닌 잔량이 약 14.47%로 잔량비는 약 58.3% 이었고 리그닌 분해율이 약 41.7%, SJ-16은 리그닌 잔량이 약 14.66%로 잔량비는 약 59% 이었으며 리그닌 분해율이 약 41%, AS-7은 리그닌 잔량이 약 15.09%로 잔량비가 약 60.8% 이었으며 리그닌 분해율이 약 39.2%, SC-3은 리그닌 잔량이 약 15.03%로 잔량비가 약 61% 이었고 리그닌 분해율이 약 39%, KS-1은 리그닌 잔량이 약 15.25%로 잔량비가 약 61.4%로 나타났으며 리그닌 분해율이 약 38.6%로 나타났다. AS-15는 리그닌 잔량이 약 17.58%로 잔량비가 약 71% 이었으며 리그닌 분해율이 약 29%, SC-10은 리그닌 잔량이 약 17.58%로 잔량비가 약 71% 이었고 리그닌 분해율이 29%, PC-5는 리그닌 잔량이 약 17.9%로 잔량비가 약 72% 이었으며 리그닌 분해율이 약 28%로 나타났다.

TK-12는 리그닌 잔량이 약 23.27%로 잔량비가 약 94.2%를 나타내었으며 리그닌 분해율이 약 5.8%, JJ-3은 리그닌 잔량이 약 24.16%로 잔량비가 약 97%를 나타내었고 리그닌 분해율이 약 3%, JJ-3-1은 리그닌 잔량이 약 24.39%로 잔량비가 약 98% 이었으며 리그닌 분

해율이 약 2%를 나타내었다. 이상의 3개 균주는 비록 리그닌 분해 효소 활성 시험에서 리그닌 분해균으로 선발된 균이라 하더라도 리그닌 분해율이 6% 미만으로 거의 리그닌을 분해하지 못하는 것으로 나타났다.

본 실험을 통해 리그닌 분해 우수균으로 알려진 TRV와 비교해 보았을 때 19개 균주에서 리그닌 분해율이 높게 나타났다. 이것은 본 연구 과제에서 토양개량제 개발을 위한 목질 분해를 촉진하기 위한 방법으로 목재의 주요 구성성분 중 난분해 물질인 리그닌을 잘 분해하는 토착미생물을 선발하고자 한 소정의 목표를 달성한 것이라 할 수 있다.

이들 19개 균주들 중 가장 리그닌 분해능이 좋았던 SJ-28을 대상으로 참여기업과의 협력 하에 타균과의 길항성 등 상호관계 등을 조사하여 토양개량제를 개발하기 위한 실험을 실시하였다.

Figure 32는 리그닌 분해 우수균으로 선발된 30개 균주의 리그닌 잔량정도를 나타낸 것으로 균 배양 전의 신갈나무 원료 톱밥인 탈지 목분의 Klason lignin 함량을 기준으로 하여 30일 간의 각 균 배양 후의 Klason lignin 함량인 리그닌 잔량을 그림으로 나타내었다.

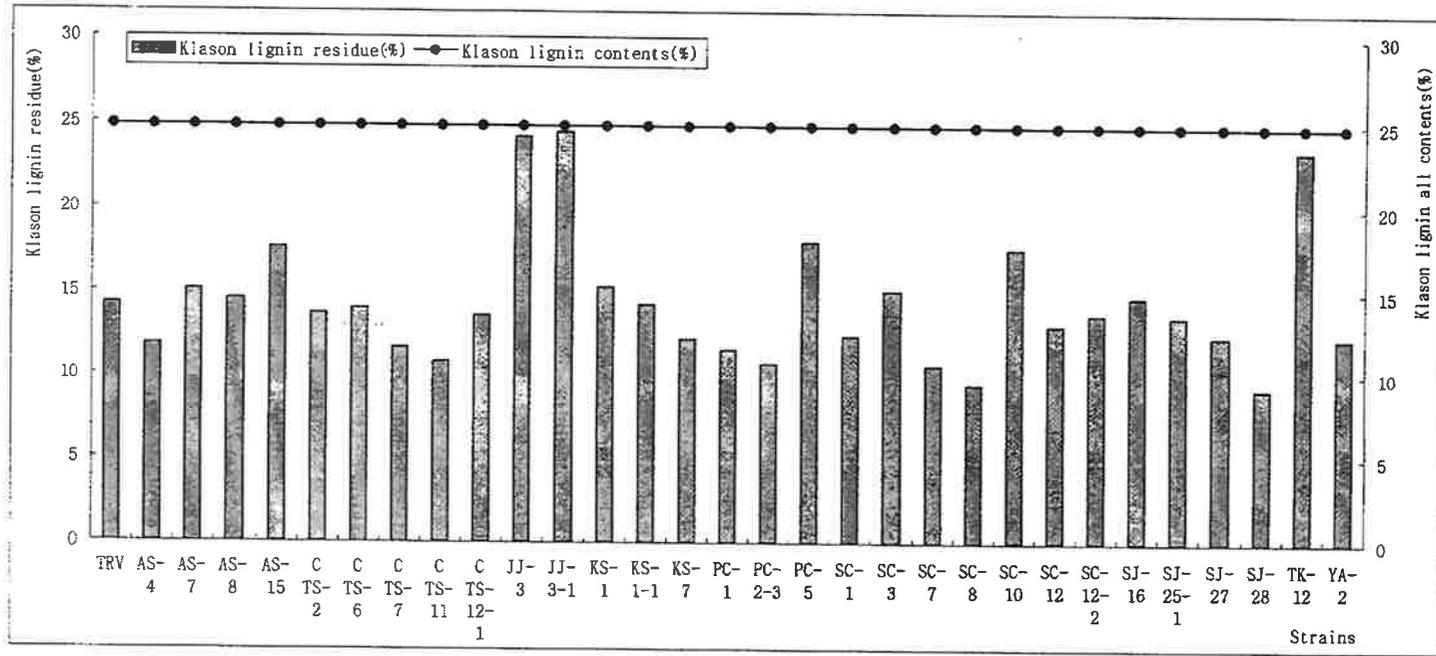


Figure 32. 30개 선발균주에 의한 신갈나무 탈지목분에서의 리그닌 잔량

또한 리그닌 분해 시험 결과 각 균의 리그닌 분해율은 약 2~63%를 나타내었는데 비록 리그닌 분해 효소 활성 시험에서 3가지 리그닌 분해 효소 반응시약이 첨가된 모든 배지에 변색환을 발생시켜 리그닌 분해 우수균으로 선발되었다 하더라도 실제 탈지 목분에서의 리그닌 분해 정도는 그 차이가 크게 나타났다. 이에 30개 선발균의 각 반응시약이 첨가된 배지에서의 변색환 발생정도와 리그닌 분해능과의 상관관계를 알아보기 위해 각 균의 리그닌 분해능과 각각의 첨가배지에서의 변색환 발생정도를 Figure 33에 나타내 보았다.

리그닌 분해정도와 변색환 발생정도와와의 상관관계가 모든 균주에서 정의 상관관계를 나타낸 것은 아니었지만 대부분의 균에서 유의성이 높음을 알 수 있었다. 각 균의 RBBR 첨가 배지에서의 변색환 발생과 리그닌 분해능과의 관계를 살펴보면 대조균인 PHC와 TK-12의 경우 변색환 발생은 아주 좋았으나 리그닌 분해율은 매우 저조했으며, SC-7은 변색환 발생은 미미하였지만 리그닌 분해율은 50% 이상으로 높게 나타났음을 알 수 있었다.

또한 변색환 발생정도와 리그닌 분해능과는 정비례 관계는 아니었지만 변색환의 크기 정도에 따라 리그닌 분해능도 변함을 알 수 있었다. GU 첨가배지의 경우 TK-12은 가장 큰 변색환을 발생시켰음에도 불구하고 리그닌 분해율은 10% 이하로 아주 저조하였다. JJ-3과 JJ-3-1도 변색환 크기에 비해 리그닌 분해율은 5% 이하로 아주 낮았다. GU 첨가배지의 경우도 RBBR 첨가배지와 마찬가지로 정비례 관계는 아니었지만 보편적으로 관계가 있음을 알 수 있었다. GA 첨가배지의 경우도 TK-12에서 변색환 크기가 큰 것과 상대적으로 리그닌 분해율은 낮았으며, 대조균인 PHC의 경우도 변색환의 크기와는 상관없이 리그닌 분해율은 낮았다. 그러나 나머지 균들에서는 RBBR이나 GU 첨가배지에서와 마찬가지로 정비례 관계는 아니었다 하더라도 거의 비례적인 관계를 나타내었다.

이것은 리그닌 분해균 선발과정에서 한가지 방법에 의해서 보다는 이 세가지 방법에 의해 리그닌 분해균을 선발한다면 보다 효과적으로 리그닌 분해균을 선발할 수 있으리라고 판단된다.

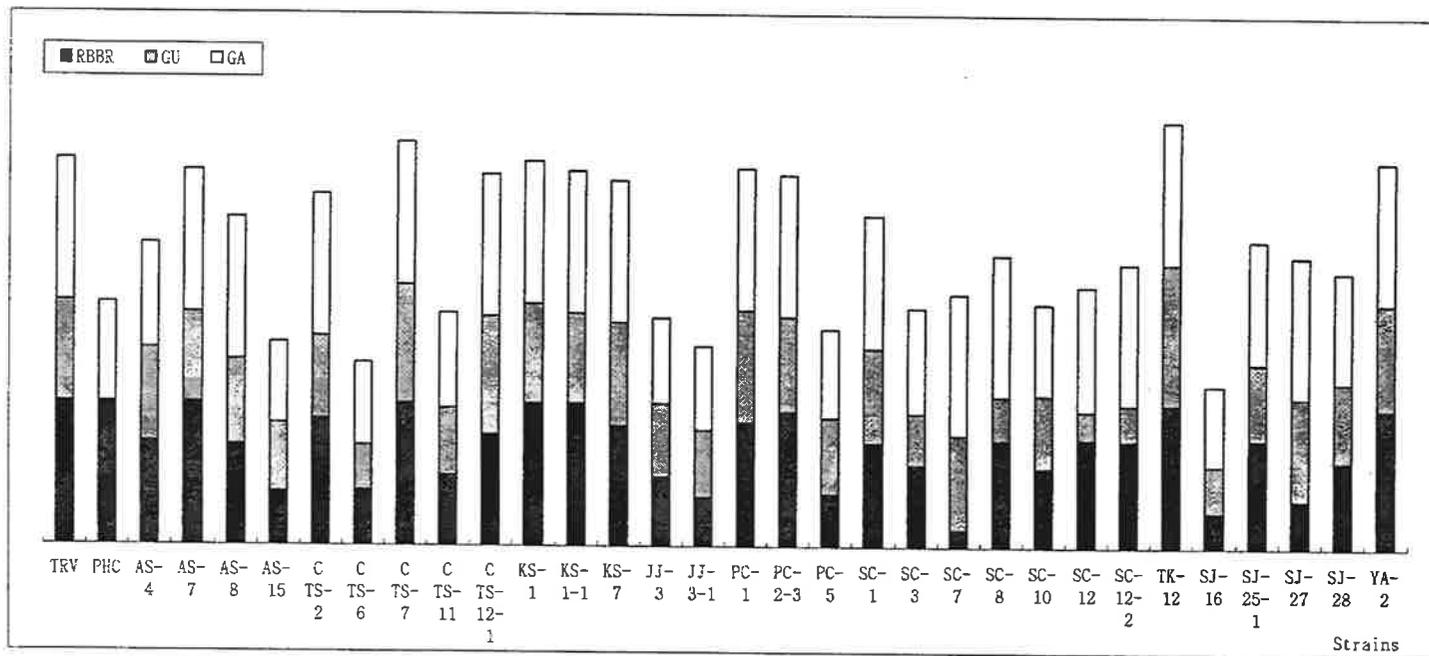


Figure 33. 30개 선발균의 RBBR, GU, GA 첨가배지에서의 변색환 발생정도

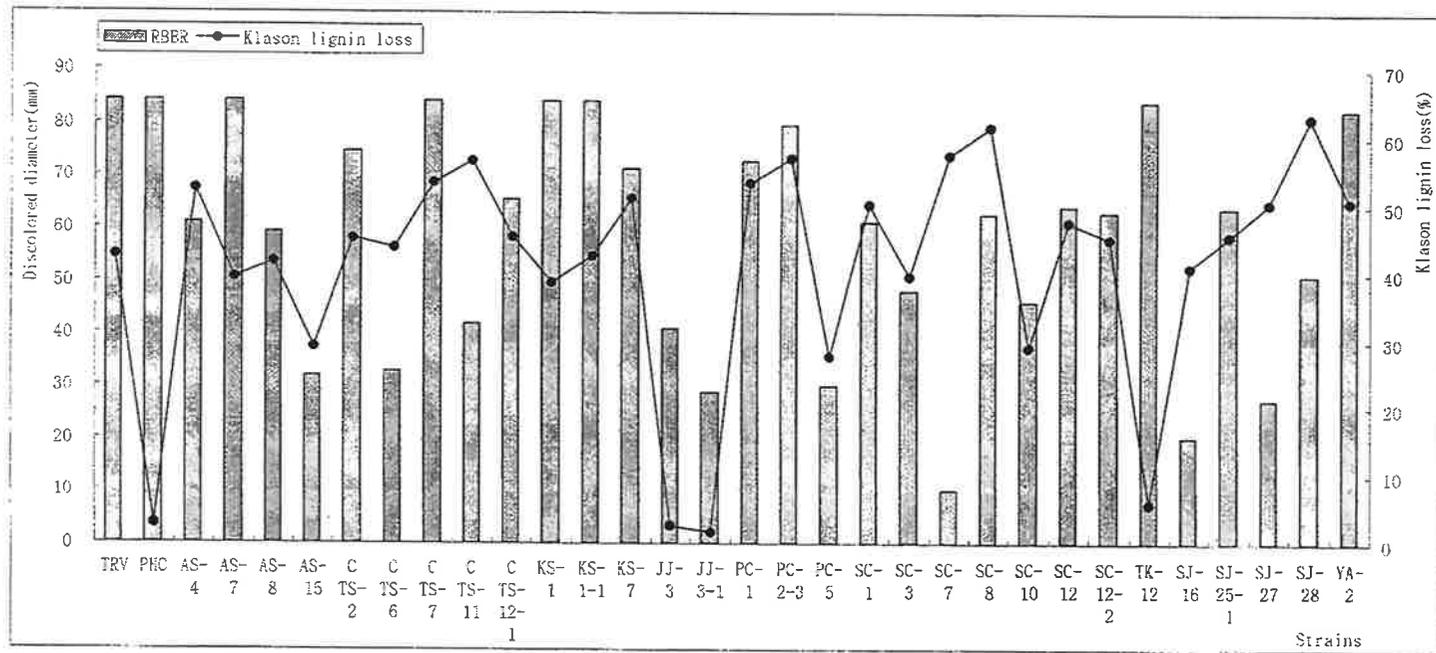
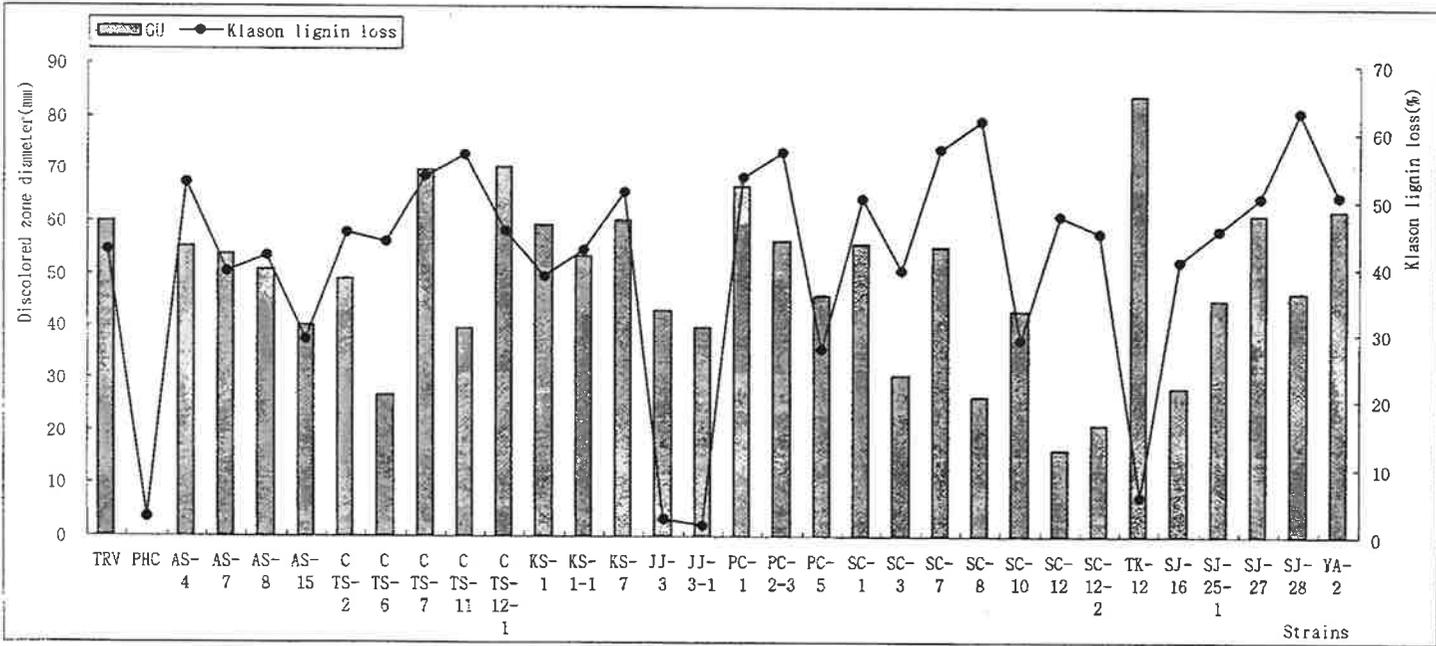


Figure 34. Rhemazol brilliant blue R 첨가배지에서의 변색환 발생과 Klason lignin loss와의 비교



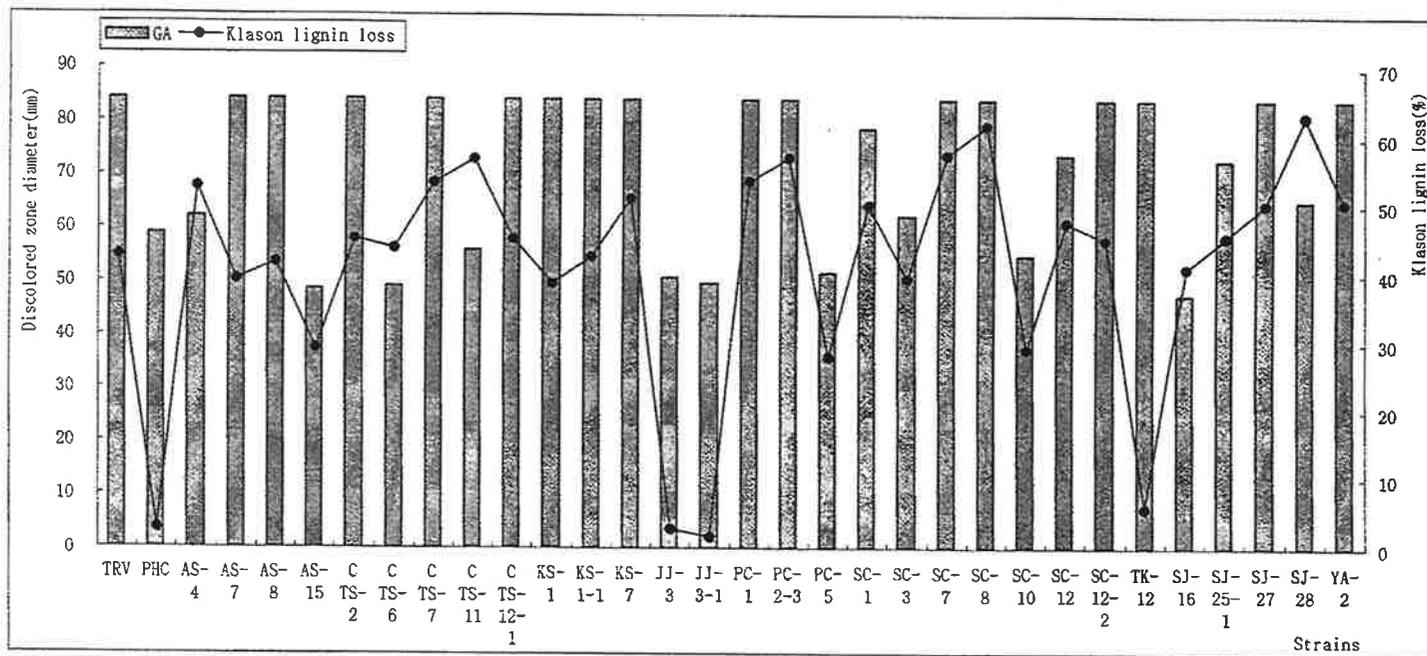


Figure 36. Gallic acid 첨가배지에서의 변색환 발생정도와 Klason lignin loss와의 비교

2) 전섬유소 함량 변이

균배양 전과 균배양 후의 전섬유소 함량 변이를 조사하기 위해 먼저 원료 톱밥인 신갈나무 탈지 목분의 전섬유소 함량을 측정하였으며 일정 기간 균배양 후 잔여 전섬유소 함량을 측정하여 전섬유소 함량의 변이를 조사하였다.

원료 톱밥인 신갈나무 탈지 목분의 전섬유소 함량은 83.64% 이었으며, 전섬유소 함량 측정에 사용한 균주는 리그닌 함량 측정에서 리그닌 분해율이 50% 이상으로 특히 리그닌 분해능이 우수했던 12개 균주를 사용하였다. 대조균으로는 리그닌 분해 우수균으로 알려진 *Trametes versicolor*(TRV)를 사용하였다.

각 균에 의한 전섬유소 분해정도를 잔량과 잔량율로 살펴보면 먼저 대조균인 TRV의 경우 전섬유소 잔량이 약 56.09%로 잔량율이 약 67.06%이었으며 따라서 전섬유소 분해율은 약 32.94%로 나타났다. 이와 함께 리그닌 분해 우수균주인 12개 균의 전섬유소 분해정도를 가장 분해율이 낮게 나타났던 균주부터 순서대로 살펴 보면 가장 전섬유소 분해율이 낮았던 PC-1은 전섬유소 잔량이 약 58.43%로 잔량율이 약 69.86% 이었으며 전섬유소 분해율은 약 30.14% 이었다. 두 번째로는 PC-2-3으로 전섬유소 잔량이 약 57.52%로 잔량율이 약 68.77% 이었으며 따라서 전섬유소 분해율은 약 31.23% 이었다. 세 번째는 CTS-11로 전섬유소 잔량이 약 53.3%를 나타내어 잔량율이 약 63.73%로 전섬유소 분해율은 약 36.27%를 나타내었다.

다음으로는 CTS-7로 전섬유소 잔량이 약 52.46%로 잔량율이 약 62.72% 이었으며 전섬유소 분해율은 약 37.28%로 나타났다. AS-4의 경우 전섬유소 잔량은 약 52.43%로 잔량율이 약 62.69% 이었으며 전섬유소 분해율은 약 37.31%를 나타내었다. YA-2는 전섬유소 잔량이 약 52.22%로 잔량비는 약 62.43% 이었으며 전섬유소 분해율은 약 37.57% 이었다.

리그닌 분해능 시험에서 리그닌 분해율이 가장 높게 나타났던 SJ-28의 경우 전섬유소 잔량은 약 51.7%로 잔량율이 약 61.81%를 나타내었으며 전섬유소 분해율은 약 38.19%를 나타내었다. KS-7은 전섬유소 잔량이 약 51.03%를 나타내어 잔량율이 약 61.01% 이었고 전섬유소 분해율이 약 38.99% 이었다. SC-1은 전섬유소 잔량이 약 47.91%로 잔량율은 약 57.28%를 나타내었고 전섬유소 분해율은 약 42.72%를 나타내었다. SJ-27은 전섬유소 잔량이 약 47.42%로 잔량율이 약 56.69% 이었으며 전섬유소 분해율은 약 43.31% 이었다. SC-8은 전섬유소 잔량이 약 49.25%로 약 58.88%의 잔량율을 나타내었으며 약 41.12%의 전섬유소 분해율을 나타내었다. 마지막으로 총 12개의 균주 중 가장 높은 전섬유소 분해율

을 나타낸 균은 SC-7 이었는데 전섬유소 잔량이 약 30.63%로 잔량율은 약 36.62% 이었으며 전섬유소 분해율은 약 63.38% 이었다.

Figure 37은 리그닌 분해 우수균으로 선발된 30개 균주 중 리그닌 분해율이 50% 이상을 나타낸 12개 균주에 의한 전섬유소 잔량 정도를 나타낸 것으로 균 배양 전의 신갈나무 원료 톱밥인 탈지 목분의 아염소산법에 의한 전섬유소 함량을 기준으로 하여 30일간의 각 균 배양 후의 전섬유소 함량인 잔량을 나타내었다.

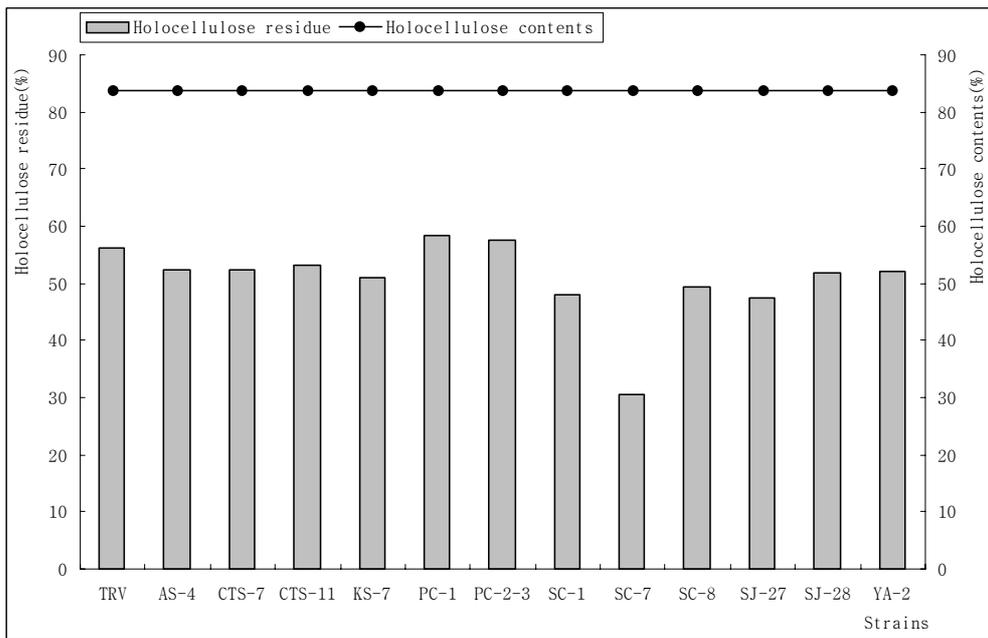


Figure 37. 리그닌 분해 우수 12개 균주에 의한 신갈나무 탈지목분에서의 전섬유소 잔량

지금까지의 선발균에 의한 리그닌 및 전섬유소 분해에 관한 실험 결과를 각 균주별로 비교해 보면 12개 균주의 전섬유소 분해율은 약 30.14~63.38% 이었으며 이를 전섬유소 잔량율로 보면 약 36.62~69.86% 이었다. 한편 이들 균주의 리그닌 분해율은 약 50~63% 이었고 이를 리그닌 잔량으로 보면 약 37~50% 이었다.

Figure 38은 12개 균주들의 리그닌 및 전섬유소 분해율을 비교한 것으로 SC-7의 균주를 제외하고는 나머지 균주들은 모두 전섬유소 보다는 리그닌 분해를 더 선호하는 것으로 나타났다. 리그닌 분해능 시험에서 가장 좋은 리그닌 분해율을 나타낸 SJ-28의 경우 리그닌 분해율이 약 63%인 반면 전섬유소 분해율은 약 38.19%로 전섬유소 분해에 비해 리그닌 분해에 더 효과적임을 알 수 있었다.

이에 비해 SC-7의 경우 리그닌 분해율이 약 57.49%로 리그닌 분해능이 우수한 반면 전섬유소 분해율은 63.38%로 12개 균 중 유일하게 전섬유소 분해율이 50%보다 높게 나타났으며 리그닌보다 전섬유소 분해율이 더 높았다. 이 외의 나머지 균들은 분해율의 차이는 있었으나 모두 전섬유소 보다는 리그닌 분해율이 더 높았다.

리그닌 분해율에 비해 전섬유소 분해율이 가장 적었던 균주는 PC-2-3으로 리그닌 분해율이 약 57.03%인데 비해 전섬유소 분해율은 약 31.23%로 그 차이가 25.8%로 가장 크게 나타났으며, 두 번째로 차이가 크게 나타난 균주는 가장 리그닌 분해능이 좋았던 SJ-28이었다. 분해율 차이가 20% 이상 나타난 균주는 5개 균주로 PC-2-3, SJ-28을 비롯해 PC-1이 23.31%, 리그닌 분해능이 두 번째로 높았던 SC-8이 20.61%, CTS-11이 20.42%를 나타내었다. 이상의 균주들은 리그닌 분해율이 높은 반면 상대적으로 전섬유소 분해는 보다 낮았는데 따라서 차후 SJ-28 외에 나머지 4개 균주에 대해서도 이들 균주에 의한 톱밥 부숙을 통한 토양개량제화를 위한 토양미생물과의 길항성을 비롯해 균의 활성화 시험 등을 실시할 필요가 있다고 판단된다.

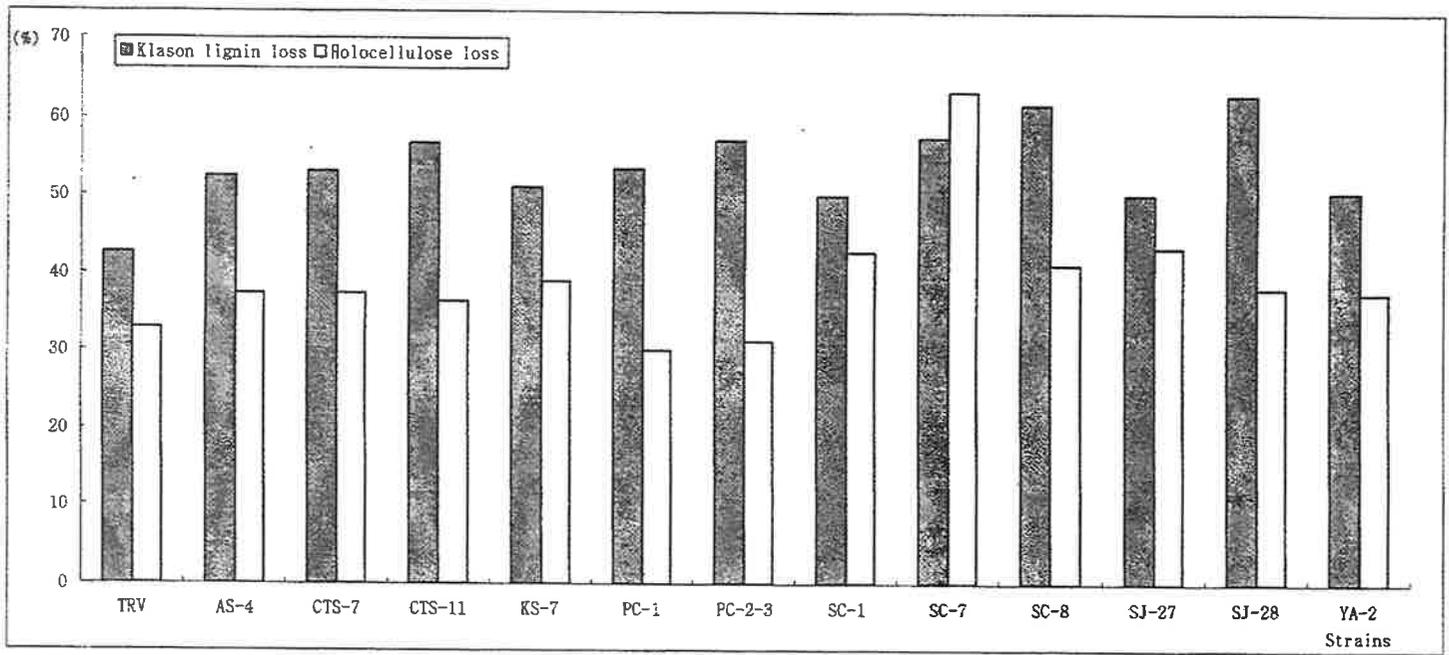


Figure 38. 12개 균주에 의한 리그닌 및 전섬유소 분해 정도

제 3 절 토양개량제 개발

토양이란 암석의 붕괴와 풍화작용 등의 물리적, 화학적 작용과 동식물에 의한 생물학적 작용이 함께 어우러져 오랜 세월을 거쳐 생성된 것으로 흙이라고도 한다. 대부분의 토양은 암석의 풍화물이다. 지표면이나 지표 근처에 노출된 암석이 산소·물·열작용 등을 받아 대·소의 입자로 깨진 혼합물과 화학반응 생성물(점토광물·탄산칼슘 등), 유기물로 구성되어 있다. 이 풍화 퇴적물질(주로 암석의 입자) 사이는 공기와 물이 점유하고 있다. 이들 3상 사이에 침투·분포되어 있는 식물의 뿌리는 양분과 수분을 흡수하여 성장하므로 토양은 생명현상의 근원이 된다.

그런데 토양에 대한 정의는 토양을 이용하는 각 분야에 따라 다르다. 농림업에서는 식물의 양분·수분 저장과 조절·방출, 식물체의 지지물로 보는가 하면, 지질학 분야에서는 풍화산물·풍화맨틀 또는 표토라 하고, 토목공학에서는 엔지니어링 물질로 본다. 화학분야에서는 암석을 구성하고 있는 조암광물 중의 이온·원자·분자 등이 물·산소·이산화탄소와 완만하게 작용하여 이들의 화학결합이 풀려서 용액에 녹거나 새로운 침전물(주로 점토광물)을 생성하여 더욱 안정한 생성물을 만드는 전위상으로 보고 있다. 이와 같이 토양의 정의는 각 분야의 관점에 따라서 다르지만 1차 적인 정의는 토양이 생명현상의 근원이 되므로 우선 인간의 의·식·주생활에 필수적인 것으로 보아야 할 것이다.

실존적인 면에서의 정의는 토양은 3상계이다. 대부분의 토양에서는 고체상은 광물질 입자로 되어 있고, 이들 입자 사이에는 틈이 있어서 기체와 액체가 점유하고 있다. 액체상은 주로 강수이며, 토양입자 표면에 흡착되어 토양입자와 물 사이의 정전기인력에 의한 수막을 형성하여 미세한 틈을 점유하고 있다. 큰 틈에는 토양이 물에 의해서 포화되어 있지 않는 한 공기가 들어 있어 대기와 서로 가스교환을 한다. 또한 토양에는 미생물이 서식하고 있어 이들의 호흡과 뿌리의 호흡에 의해서 발생하는 이산화탄소는 대기 중으로, 산소는 토양 중으로 확산된다. 작물재배·잔디·정원 토양의 바람직한 3상 분포는 고체상 45%, 유기물 5%, 물과 공기는 각각 25% 정도가 좋다. 모든 자연토양이 이와 같은 분포율을 나타내지 않기 때문에 온실·비닐하우스 재배토양은 인공적으로 위와 같은 비율이 되도록 표토·모래·유기물을 혼합해서 사용한다.

자연적으로 생성된 토양이 성숙하게 되어 토양 자체가 건강하고 기대되는 역할을 지구 생태계 안에서 잘 수행할 수 있다면 그것을 건강한 흙이라고 부를 수 있을 것이다. 환경

의 변화와 그 영향을 받아 노쇠해지는 현상 역시 자연계의 특징이다. 지력이 오랜 기간에 걸친 경작과 용탈작용의 결과로 인해 서서히 감퇴하는 것은 토양의 생성과 함께 시작되는 불가피한 과정이다.

이와 같은 현상이 나타나기 전에 미리 토양 환경을 개선해 주고 거기에 필요한 조치를 취해 준다면 매우 바람직한 토양 보존이 이룩된다. 지구 생태계의 물질 순환 중에서 한가운데 놓여 있는 토양의 건강은 인간을 포함한 생물 모두에게 지대한 영향을 미친다.

흙의 파괴와 오염을 방지하는 것 못지 않게 중요한 것은 지구 생태계에서 흙의 역할을 극대화하는 것이다. 여기에는 인간의 노력이 개입된다. 이런 노력이 토양 보존의 기본 의미라고 할 수 있다. 한 걸음 더 나아가 토양의 생산성을 향상시키기 위해 취해지는 여러 가지조치 역시 적극적인 의미의 토양 보전이라고 할 수 있다. 토양관리란 인위적인 모든 활동을 말한다.

흙의 효용을 극대화한다는 것은 토양 생물의 성장과 번식의 측면에서 고려해야 한다. 이것은 인간의 생존과 안녕을 위해 토양이 최대한으로 활용될 수 있도록 만든다는 것인데 이때 반드시 고려해야 할 것은 모든 인위적인 조치가 장기적인 안목과 계획 하에서 이루어져야 한다는 것이다. 오랜 세월이 흐른 뒤에도 부정적인 결과가 초래되는 일이 없도록 깊은 연구와 신중한 경험을 필요로 한다. 그러므로 식물이 잘 성장하면서 생산성을 높일 수 있게 관리하는 것이 가장 우선해야 할 과제이다.

보통 지력이라고 말하는 것은 토양의 비옥도를 지칭하는 것이다. 식물 영양소가 풍부한 토양은 비옥하다. 그런데 토양 수분이 부족하거나 그 반대로 과다할 경우이나 또는 토양 온도가 적절하지 못할 정도로 낮거나 높을 때, 통기성이 불량할 때에는 비옥도가 생산성으로 연결되지 못한다. 토양 관리의 필요성이 여기에서 제기되는 것이다.

이렇게 인위적으로 토양을 개선하기 위해 사용하는 것을 토양개량제라 한다. 즉, 토양개량제란 토양의 물리적·화학적 성질을 식물생육에 알맞도록 개선하기 위하여 사용하는 각종 제품을 말하는 것으로 토양의 단립화(團粒化)를 촉진하기 위해서는 폴리비닐 계통의 고분자화합물의 투입이 실시되며, 토양의 화학적 성질의 불량성을 개량하기 위해서는 벤토나이트·제올라이트·펄라이트·버미큘라이트 등이 이용된다. 이 밖에 이탄·아탄을 화학처리한 부식산(腐植酸)인 암모늄·마그네슘·석회염 등이 있다. 또한 퇴비·구비·뽕짚·보릿짚·들풀 등에도 토양의 단립화를 형성하는 능력이 있으므로 일종의 토양개량제라고 할 수 있다.

토양개량제는 유기합성물질로 토양입단의 안정성을 획기적으로 증진시킴으로써 통기성

과 배수를 좋게하고 보수력을 높이며 토양 및 양분의 유실을 방지하여 식물생육을 현저히 증진시킬수 있는 효과가 있음이 알려져 왔다. 우리 나라에서는 1958년에 krillium 에 대한 연구가 시작되기는 하였으나 크게 발전되지 못하였으나 최근에 석유화학공업이 발달하고 새로운 농업기술의 요구가 증대됨에 따라 이들 토양 개량제에 대한 연구가 활발해 지고 있다.

토양개량제는 작물재배 시 양분의 공급보다는 작물재배 토양의 성질을 좋게 하여 주는 물질이므로 이들의 사용기술은 매우 중요하다. 주요 토양개량제들로는 석회, 규산, 객토, 석고, vermiculite나 zeolite와 같은 광물성 개량제와 퇴비나 볏짚 같은 유기자원으로 되어 있다. 이들을 특성별로 보면 석회물질인 소석회($\text{Ca}(\text{OH})_2$) 탄산석회(CaCO_3) 및 마그네시아 석회($\text{Mg}(\text{OH})_2$) 등은 주로 밭토양의 산도를 교정하는데 사용되는 개량제이며, 토양 pH를 6.0~6.5 정도로 올리도록 사용하는 것이 필요하다. 규산질비료는 토양에 규산을 공급하고 토양 pH를 증진시키는 작용을 하기 때문에 주로 논토양에 사용된다. 이러한 석회나 규산질 비료를 토양에 처리하고 작물을 파종하거나 묘를 정식하면 이들 개량제는 알카리도가 높기 때문에 작물에 피해를 가져오게 되며, 질소비료와 함께 사용하면 높은 pH를 유지하기 때문에 질소성분이 암모니아(NH_3)로 휘산되어 손실을 가져오고, 또한 작물에도 피해를 가져오게 된다. 석회나 규산비료를 퇴비나 유기물과 함께 사용하면 유기물을 분해하는 미생물의 활동이 빨라서 온도가 높아지고, 가스가 발생되며 산소가 부족하게 되기 때문에 작물에 피해를 가져오게 된다. 따라서 석회물질이나 규산질 비료는 밭 토양의 경우 정식이나 파종 1개월 이전에 미리 사용하는 것이 필요하고, 석회 사용 시 미량원소의 사용은 필수적이다.

퇴비나 볏짚 등 유기물을 화학비료와 동시에 사용해도 유기물의 분해속도가 빨라서 고온과 가스가 발생되므로 사용 후 즉시 작물을 재배하면 피해가 나타날 수 있으며, 부숙이 덜된 유기물일수록 피해가 크게 나타난다. 이러한 현상은 특히 1~2월경 월동기에 비닐하우스 내에서 조기 작물재배 시 온도를 유지하기 위해 보온을 하다보면 농가에서 자주 나타나는 현상이다. 따라서 유기물에 의한 토양개량제를 사용하기 위해서는 충분히 부숙이 이루어진 것을 사용하여야 한다.

이에 참여기업에서 톱밥을 주원료로 하여 업체 개발 제품인 neopeat를 혼합해 참여기업의 know-how에 의해 발효를 실시한 후 연구 과정 중 리그닌 분해 우수균으로 선발된 SJ-28 균주를 이용해 2차 부숙을 유도하여 상토 및 토양개량제로서의 가능성을 작물재배 시험으로 조사하였다.

1. 리그닌 분해 우수균에 의한 상토 제조

참여기업에서 본 연구의 토양개량제 개발을 위해 우선 상토로서의 이용 가능성을 조사하기 위하여 톱밥과 수피를 주원료로 한 부숙 제품을 제조하였다. 이 임의의 제품(이하 LS라 함)에 연구 과정에서 선발된 리그닌 분해 우수균 SJ-28을 이용해 톱밥의 완숙을 위해 재 부숙을 유도하여 상토로서의 가능성을 조사하였다.

가. 재료 및 방법

1) 상토 제조

균처리에 의해 제조된 제품의 상토로서의 가능성을 조사하기 위해 참여기업에서 리그닌 분해 우수균인 SJ-28로 상토를 제조하였다. 상토는 참여기업에서 제조하였는데, 참나무 톱밥과 수피를 주원료로 하여 참여기업의 개발 제품인 일종의 미네랄인 neopeat를 혼합하여 참여기업의 know-how로 부숙을 실시한 후 SJ-28 균주를 부숙조에서 일정 기간 처리하여 임의의 상토를 제조하였다. 이 때 처음의 부숙 톱밥의 미생물과 본 연구 과정에서 리그닌 분해 우수균으로 선발한 SJ-28과 길항작용의 유무를 조사하였다.

길항작용(antagonism)이란 경쟁자가 상대방의 성장을 직접적으로 억제하는 관계를 말하는 것으로 어떤 물질을 분비해 내어 상대방의 성장을 억제하거나 심지어는 죽이는 물질을 항생물질이라고 한다. 그런데 토양 생태계에서 일어나는 길항작용에는 항생작용 이외에 여러 가지 다른 현상도 관찰된다. 항생물질이 아니더라도 어떤 유기산은 높은 농도로 분비될 때 미생물에게 해독(detrimental)이 되는 일이 있으며 특히 산성 토양에서는 균류의 성장까지도 억제하는 수가 있다. 알카리 토양에서는 질소의 무기화작용 중에 생성된 암모니아가 질산화 세균 중의 하나인 아조토박터의 성장을 저해한다. 그 때문에 아질산염이 더 이상 산화되지 못하고 토양에 축적되면 다른 토양미생물에게도 영향이 미치고 때에 따라서는 이 유독한 물질의 축적으로 인한 독성도 나타나게 된다. 직접적으로 서로 접촉할 때 발생하는 길항작용으로써는 균류와 또 다른 균류가 균사체를 뺏어 내는 과정에서 일어난다. 한쪽 편이 균사체가 이 경우 팽압을 잃고 시들어 버리는 예가 있으며 이런 현상은 균류와 방선균류 사이에서도 흔히 발견된다. 전형적인 의미의 길항작용인 것이다. 이러한 길항작용이 나타날 경우 2차 부숙균으로 사용할 수 없다. 따라서 참여기업에서 제조한

부속 톱밥에 SJ-28을 접종하여 균생장 상태를 확인하기 위해 부속조에서 배양하여 보았다.

2) 제조 상토에 의한 작물배양 시험

상토란 묘사용으로 특별히 준비한 흙을 말한다. 이식재배에서는 모의 좋고 나쁨이 생육·수확량의 열쇠가 되므로 상토는 이화학성이 좋을 것, 모에 충분한 양분을 공급할 것, 병충해가 발생하지 않을 것 등이 요구된다. 예전에는 경험적으로 얻어진 여러 가지 방법으로 만들어졌는데, 근래에는 일반적으로 흙을 벚짳·낙엽 등과 혼합하여 몇 달을 퇴적해서 유기물을 부숙시키고, 화학비료를 첨가하여 질소·인산·칼륨 등의 양분을 보충한 다음에 혼합하는 방법이 쓰이고 있다. 부숙 유기물은 흙입자를 단립화시켜 흙 속에 크고 작은 공극을 만들어 통기성·통수성·보수성을 좋게 하는 동시에 양분공급의 구실도 한다. 상토의 조제조건에는 각 작물마다 생육에 적합한 화학성, 물리성 그리고 생물성이 다를 수 있으나 일반적으로 상토가 갖추어야 하는 기능은 크게 4가지로 구분할 수 있다. 첫째 상토는 작물의 생육에 필요한 양분을 보유하고 있어야 하고, 둘째 필요한 수분을 적절하게 유지하여야 하며, 셋째 뿌리의 호흡에 필요한 산소를 공급하고 이산화탄소를 원활하게 배출하는 가스 교환기능이 좋아야 될 뿐만 아니라, 넷째 작물체를 지지하는 힘이 커야 한다. 이와 같은 기능을 원활히 수행하기 위해서는 다음과 같은 조건을 구비하여야 한다. ① 물리적인 측면에서 통기성, 보수성, 흡수력 및 투수속도 등이 적절해야 하며 이러한 성질은 육묘기간 중에 가급적 변화되지 않아야 한다. ② 화학적인 면에서는 완충력이 높아 산도가 안정되고, 양분의 균형이 맞고 염류농도가 낮아 작물 생육조절이 용이하며 장기간 저장에도 안정되어야 한다. ③ 생물성에서는 무병·무충이고 잡초종자가 섞이지 않아야 된다. ④ 경제적인 면에서는 가격이 저렴하고 매년 동질의 자재 수급이 가능해야 한다. ⑤ 작업성에서는 무게가 가벼워 작업에 편리해야 하며 수송성이 좋아야 한다. ⑥ 이식 시 뿌리의 발육이 다소 부족하여도 근괴가 파괴되지 않는 자체 결합력을 가지고 있어야 한다. ⑦ 정식후 포장의 토양과 잘 융합하여 상토내로 양·수분의 공급이 잘 이루어져 활착이 잘되는 성질을 갖고 있어야 한다. ⑧ 가능한 한 여러 작물에 적용범위가 넓어야 한다. ⑨ 질적인 면에서 재현성이 높고, 안전성이 있으며 대량공급이 가능해야 한다.

이에 상토로서의 가능성을 알아보기 위해 참여기업에서 제조한 상토에 리그닌 분해 우수균인 SJ-28로 2차 발효시킨 무비 상토(이하 FLS)를 만들어 슈움 배추 씨앗(홍농종묘)을 파종하여 발아 및 배양시험을 실시하였다.

FLS에 수분 처리를 실시한 후 상토 시험용 용기에 일정량을 담아 다시 분무하였다. 물 빠짐을 관찰한 후 슈음 배추 종자 2~3개씩을 종자 크기의 약 2배정도 깊이로 파종하였다. 파종 후 다시 물을 분무하였으며 표토의 건조를 막기 위해 신문지로 용기를 씌워 다시 물을 분무하였다. 발아가 되기까지 매일 오전과 오후에 물을 흠뻑 분무하였다. 종자가 발아한 용기는 신문지를 벗겨 내었으며, 묘는 양호한 한 개만 남겨 놓고 나머지는 뽑아 내었다. 오전, 오후로 물을 주며 발아 및 생장 상태를 관찰하였다.

대조구로는 현재 시중에서 판매되고 있는 상토인 선샤인(이하 SS, 선그로우원예컨설팅)을 사용하였으며, 균을 처리한 상토와 처리하지 않은 상토를 비교해 보기 위해 참여기업에서 제조한 상토(이하 LS)를 다른 처리구로 하여 시험을 실시하였다. 본 시험은 2달간 진행하였다.

다음 그림은 상토 실험을 위해 포트에 제조 상토를 담아 물주기를 한 후 종자를 파종하여 상토의 표토 건조를 방지하기 위해 신문지로 덮개를 해준 것이다. 물주기는 신문지를 벗겨내고 종자가 파헤쳐지지 않을 정도로 조심스럽게 물을 주고 신문을 덮은 후 다시 신문지 위에 물을 주었다. 발아가 되면 발아가 진행되는 대로 신문지를 벗겨 주었다.



Figure 39. 용기에 상토 담기



Figure 40. 상토에 물주기



Figure 41. 발아 전 표토의 건조방지를 위한 덮개

나. 결과 및 고찰

1) 상토 제조

리그닌 분해 우수균 SJ-28를 처리한 상토를 제조하기 위해 먼저 참여기업에서 참나무 톱밥과 수피를 주원료로 한 상토를 만들었다. 이 상토에 균 SJ-28를 처리한 결과 길항작용은 나타나지 않았으며 서로 친화력을 보여 SJ-28에 의해 2차 부숙이 진행됨을 관찰할 수 있었다. 참여기업 대표에 의하면 일반적으로 발효되지 않은 생톱밥을 잘 분해시키는 균이라 하더라도 실제 부숙, 즉 발효가 일어난 퇴비에는 친화력이 나타나지 않는다고 하였다. 그러나 본 과제에서 선발된 백색부후균인 SJ-28은 아주 양호한 친화력을 보였다. 따라서 균 SJ-28 처리 상토를 제조하였다.



Figure 42. 균처리 상토(FLS)



Figure 43. 참여기업 제조 상토



Figure 44. 시판 상토(SS)

2) 제조 상토에서의 작물 배양

균처리를 실시해 임의로 만든 제재가 상토로서의 가능성을 알아보기 위해 제조한 상토에서의 작물 발아 및 배양성을 조사하였다. 대조구로는 일반 시중 판매 제품(SS)을 사용하였으며, 균처리 전의 제재(LS)와 균처리 후의 제재(FLS)의 특성을 파악하기 위해 균처리 전의 제재를 또 하나의 대조구로 하였다.

대조구인 SS에서 파종 후 3일째부터 발아가 시작되어 10일 안에 발아가 대부분 이루어졌으며 약 18% 정도 발아가 이루어지지 않았다. 반면 LS와 FLS에서는 SS보다 늦은 4~5일째부터 발아가 시작되었고, 발아 진행도 10일 정도까지 이루어졌으며 약 25% 정도 발아가 이루어지지 않았다. 발아가 되지 않은 용기는 작물 배양성 조사를 위해 묘를 이식하였다. 이식 후 기간별로 사진을 찍어 성장특성을 관찰 조사하였다.

다음 그림은 각 상토에서의 슈움 배추 발아 후 모양과 기간별 성장 상태이다. 각각의 상토에서의 발아는 SS에서 가장 먼저 시작되었으며 FLS와 LS에서의 발아는 비슷한 양상을 나타내었다. 발아한 슈움 배추의 배양성은 발아는 SS에서 빨리 시작되었으나 생장은 더딘 경향을 보였고, 반면 FLS와 LS에서의 생장은 시간이 지날수록 SS에서의 성장보다 좋았다. 발아 후 4~5일이 지나면서 성장에 차이가 나타나기 시작했으며 시간이 지날수록 그 차이는 현저하게 나타났다. 성장 차이는 SS에서 가장 심하게 나타났으며, 슈움 배추의 성장도 더디게 이루어졌다. 이에 비해 균처리를 실시한 FLS에서 가장 좋은 성장을 나타내었는데 초기의 생장이 비슷했던 LS에서의 슈움 배추 성장과 비교해 보았을 때 발아 후 10일이 지나면서 성장 차이가 나타나기 시작하여 17일이 지나면서는 그 차이가 뚜렷이 나타났고 24일과 31일이 지났을 때는 그림에서 보는 바와 같이 많은 차이가 나타났다. LS에서는 발아가 시작된 초기 10일 정도까지는 FLS와 별 차이가 나타나지 않았으며 시간이 경과할수록 FLS 보다는 떨어졌으나 SS에서 보다는 좋은 경향을 나타내었다.

본 시험의 결과로 보아 FLS와 LS는 상토로서 뿐만 아니라 작물 배양토로서의 가능성도 있다고 판단된다.



Figure 45. 균 SJ-28 처리 제조 상토(FLS)에서의 발아 상태



Figure 46. 참여기업 제조 상토(LS)에서의 발아 상태



Figure 47. 시판 선샤인 상토(SS)에서의 발아 상태



Figure 48. 파종 후 20일 썬의 상토 (좌 : LS, 중 : SS, 우 : FLS)



Figure 49. 파종 후 27일 썬의 상토 (좌 : LS, 중 : SS, 우 : FLS)



Figure 50. 파종 후 34일 썬의 상토 (좌 : LS, 중 : SS, 우 : FLS)



Figure 51. 파종 후 41일 썬의 상토 (좌 : LS, 중 : SS, 우 : FLS)



Figure 52. 발아 후 48일 썬의 상토 (좌 : LS, 중 : SS, 우 : FLS)

2. 리그닌 분해 우수균에 의한 토양개량제 제조

상토로서의 가능성 조사 후 토양개량제로서의 가능성을 알아보기 위해 참여기업에서 토양개량제로 시판되고 있는 프로그래스라는 제품에 톱밥의 함량을 증가시켜 부숙시킨 후 리그닌 분해 우수균으로 선발된 SJ-28을 처리해 임의의 토양개량제를 제조하였다. 식물성 유기질 퇴비로서의 토양개량제는 그 부숙 정도가 매우 중요하다. 미부숙된 퇴비를 토양에 사용할 경우 질소 기아 현상이나 가스해 등 작물에 피해를 준다. 따라서 부숙 정도를 알아보기 위해 C/N 비를 분석하였다.

퇴비 등의 토양개량제 제조는 C/N 비와 미생물이 열쇠라고 하였다. C/N 비란 유기물의 탄소 함량을 질소 함량으로 나눈 값이다. 이 수치가 클수록 탄소에 대한 질소의 비율이 작다는 것을 뜻한다. 일반적으로 C/N 비가 큰 유기물일수록 미생물에 의한 분해가 어려워지는 성질이 있다. 따라서 C/N 비는 유기물이 분해하기 쉬운가 어려운가를 나타내는 중요한 가늠이 된다. 흙의 C/N 비는 10 전후이다. 자연계에서 유기물은 미생물에 의해 분해되면 흙의 C/N 비에 가까워지려는 활동이 끊임없이 일어난다.

이러한 C/N 비는 식물의 질소 기아, 즉 식물이 질소 부족이 되는 원인과 관계가 있다. 퇴비 등의 유기물이 토양 속에서 미생물에 의해 분해되면 먼저 유기물 속의 단백질은 아미노산으로 변한다. 미생물은 아미노산을 그대로 흡수하여 영양분으로 이용할 수 있게 된다. 그러나 식물은 아미노산을 뿌리로부터 직접 흡수할 수 없다. 아미노산이 암모니아를 거쳐 질산으로 변화한 후가 아니면 뿌리에서 흡수할 수 없다. 그러므로 미생물이 유기물을 분해하기 위해 질소를 다량으로 필요로 하는 경우에는 아미노산 단계에서 대부분의 질소가 미생물에 의해 이용되어 버린다. 따라서 식물은 질소양분을 이용할 수 없게 된다. 이것이 질소 기아이다.

미숙한 유기물 속에는 미생물이 좋아하는 유기성분이 많이 함유되어 있다. 때문에 토양미생물은 급격히 증식하며 균체를 만들기 때문에 아미노산을 많이 흡수한다. 그 결과 식물은 질소를 이용할 수 없게 되어 질소 기아를 일으켜 황화되어 버린다. 식물의 질소 기아는 토양미생물과 식물 사이에 질소 쟁탈을 일으켜 식물이 열세해지는 것을 말한다. 이러한 이유로 퇴비 등의 토양개량제를 제조할 때는 완숙 제품을 제조해야 한다.

목재를 퇴비화 함에 있어 가장 크게 영향을 미치는 것이 목재의 C/N 비이다. 이 외에 리그닌 등의 함유량에 따라서도 상당한 차이가 있다. 목재를 구성하는 주성분으로 셀룰로오스, 헤미셀룰로오스, 리그닌이 있다. 이들 중 리그닌은 다른 성분에 비해 분해, 즉 퇴비

화가 어렵다. 침엽수가 활엽수보다 퇴비화가 어려운 것도 리그닌 함량이 더 많기 때문이라고 알려져 있다. 따라서 목재는 퇴비화 되는데 시간이 많이 소요될 뿐 아니라 퇴비화가 가장 어려운 유기물로 알려져 있다.

이러한 이유로 제조된 토양개량제의 부숙 정도를 보기 위해 C/N 비를 분석하였다. C/N 비 분석은 분석센터에 의뢰하였다. 또한 토양개량 효과를 알아보기 위해 오랜 하우스 재배로 작물 생산이 좋지 않아 토양을 바꾸려고 하는 하우스에서 표토를 채취하여 이 하우스 토양을 기본 토양으로 하여 제조 토양개량제를 비롯해 대조구로 기존에 토양을 개량하는데 사용되고 있는 토양개량제를 혼합하였다. 여기에 작물 재배를 실시하여 작물 생산성을 조사하였으며, 작물재배 전후의 토양 상태를 조사하였다.

가. 재료 및 방법

1) 토양개량제의 혼합비율별 작물재배

상토 시험과 마찬가지로 토양개량제로서의 가능성 시험을 조사하였다. 토양개량제 제조는 참여기업에서 생산하고 있는 프로그래스라는 퇴비에 균 SJ-28을 처리하여 부숙 시킨 것을 시험을 위한 토양개량제로 하였다. 프로그래스는 휴머스, 미네랄 퇴비로 부산물 비료·퇴비로 시판되는 제품인데 본 시험을 위해 톱밥을 원료로 하여 미네랄이라고 하는 neopeat 등을 혼합하여 참여기업의 know-how로 부숙시켰다. 이 프로그래스를 기본 물질로 하여 여기에 균 SJ-28을 상토와 마찬가지로 처리하여 재 부숙시켜 시험에 사용할 토양개량제를 제조하였다.

참여기업 대표의 의견에 따라 제조 토양개량제(FPG)와 새롭게 만들어진 프로그래스(PG)를 혼합하여 시험하였다. 작물 생장에 가장 양호한 FPG와 PG의 혼합 비율을 알아보기 위해 5:5, 6:4, 7:3, 8:2로 하여 하우스 토양과 혼합하여 시험에 사용하였다. 혼합하는 양은 20kg/10a를 기준으로 하였으며, 하우스 토양은 충주 인근 하우스 재배단지의 교체 대상 토양을 채취하여 사용하였다. 하우스 토양의 점질성으로 인해 교내의 사질성 온실 토양을 섞어 기본 토양으로 하였다. 본 시험은 60×40×20cm의 나무상자에서 실시하였다. 하우스 토양과 온실 토양의 비율은 5:3으로 나무상자 하나 당 40kg의 토양을 담았다.

혼합 토양 40kg에 FPG와 PG를 각 혼합 비율별로 만들어 놓은 것을 골고루 섞어 나무

상자에 담은 후 토양에의 수분 흡수를 위해 물을 충분히 뿌려 주었다. 물이 완전히 흡수된 후 상추 모종(화홍적측면, 농우종묘)을 이식하였다. 이식 후 다시 물을 주었으며, 매일 오전, 오후 물을 주었다. 혼합비율별 시험은 이식 후 6주간 실시하였으며, 상추 잎은 잎 길이 18~22cm, 잎 폭 19~23cm가 되었을 때 채취하여 물기를 제거한 후 잎 무게를 측정하여 성장 상태를 조사하였다. 채취 날짜별 상추 잎 개수와 무게가 가장 좋은 혼합 비율을 토양개량제 시험에 적용하였다.

Figure 53은 FPG와 PG와의 혼합비율별 시험을 위한 준비 과정을 나타낸 것으로 각각의 혼합비율별로 나무상자를 만든 후 상추 모종을 이식한 것이다.



Figure 53. 상추 모종 이식 후의 혼합비율별 성장상

2) 토양개량제 처리에 의한 작물재배

토양개량제로서의 가능성 조사를 위해 앞서 진행한 혼합비율별 시험을 통해 얻어진 결과에 의해 시험을 실시하였다. 시험에 사용할 토양개량제 제조는 혼합비율별 시험과 마찬가지로 참여기업에서 생산하고 있는 프로그래스라는 퇴비에 균 SJ-28을 처리하여 부숙시킨 것을 시험을 위한 토양개량제로 하였다. 프로그래스(PG)는 휴머스, 미네랄 퇴비로 부산물 비료·퇴비로 시판되는 제품인데 본 시험을 위해 톱밥을 원료로 하여 미네랄이라고 하는 neopeat 등을 혼합하여 참여기업의 know-how로 부숙시켰다. 이 프로그래스를 기본 물질로 하여 여기에 균 SJ-28을 상토와 마찬가지로 처리하여 재 부숙시켜 시험에 사용할 토양개량제(FPG)를 제조하였다.

혼합비율별 시험을 통해 가장 성적이 좋았던 혼합비율에 따라 FPG와 PG를 혼합하여 기본 토양인 하우스 토양에 혼합하여 시험에 사용하였다. 하우스 토양과 혼합하는 양은 20kg/10a로 하였으며, 하우스 토양은 충주 인근 하우스 재배단지 내의 교체 대상 토양을 채취하여 사용하였다. 혼합비율별 시험에서는 하우스 토양의 점질성으로 인해 교내의 사질성 온실 토양을 섞어 기본 토양으로 하였으나 본 시험에서는 하우스 토양만을 사용하였다.

본 시험 또한 60×40×20cm의 나무상자에서 실시하였다. 하우스 토양 40kg에 비율대로 혼합하여 놓은 토양개량제를 골고루 섞은 후 나무상자에 담았으며, 토양에의 수분 흡수를 위해 물을 충분히 뿌려 주었다. 물이 완전히 흡수된 후 상추 모종(명품 토종, 충주종묘)을 이식하였다. 이식 후 다시 물을 주었으며, 매일 오전, 오후 물을 주었다. 토양개량제 시험은 8주간 실시하였다.

대조구로는 하우스 토양을 control로 하였으며, 토양개량제로 사용되고 있는 zeolite와 참여기업에서 제조한 PG로 하였다. 그리고 모든 처리구에는 작물재배 시 기본적으로 투여하는 비료의 3요소인 질소(N), 인(P), 칼륨(K)을 각각 43.48kg/10a, 58.82kg/10a, 18.33kg/10a를 기준으로 처리하였다. 작물재배에 따른 토양의 변화를 조사하기 위해 시험 전 후의 토양의 화학적 특성, 치환성 양이온 함량, 철, 망간 및 중금속 함량을 분석하는 한편 토양미생물 상의 변화를 조사하였으며, 각각의 처리구에서의 상추 성장 정도를 측정하기 위해 상추 수확량을 조사하였다. 상추 잎 채취는 모종 이식 후 25일째부터 시작하여 4주간 실시하였으며, 잎 길이 18~22cm, 잎 폭 19~23cm가 되었을 때 채취하여 물기를 제거한 후 잎 채취량과 잎 무게를 측정하여 성장 상태를 조사하였다. 화학적 특성과 토양미

생물 상의 변화를 분석하기 위한 토양 채취는 토양개량제 들을 혼합하기 전의 하우스 토양을 비롯해 재배 시작 후 4주와 8주에 실시하였다.

화학적 특성을 분석하기 위해 토양 시료를 채취 후 실내에서 완전히 풍건한 후 20mesh 체로 선별하여 다시 mortar와 pestle을 이용하여 고운 분말을 만들어서 분석시료로 하였다. 정제한 시료 적당량을 삼각플라스크에 평량하여 0.1N-HCl 용액을 가하여 상온에서 1시간 진탕한 후 No. 5B 여과지를 사용하여 여과하고 그 여액을 atomic absorption spectrophotometer로 Cd, Cu, Pb, Zn, Cr 함량을 측정하여 표준액과 비교하여 함량을 산출하였다. 토양산도는 pH meter로 측정하였고 유효태 인산은 Lancaster법으로, 유기물은 Turin법으로 측정하였다. 치환성 염기는 ammonium acetate로 추출 후 atomic absorption spectrophotometer를 이용하여 분석하였다.

미생물 계수는 채취한 생토 그대로를 사용하였다. 2mm 체로 선별한 습토 30g을 삼각플라스크에 담아 270ml 증류수를 채우고 220rpm에서 20분간 진탕한 후 10^7 까지 희석하여 3단계 희석으로 실시하였다. 미생물 계수는 세균, 방선균, 사상균으로 하였으며, 세균은 에그알부민 한천배지, 방선균은 전분-카제인 한천배지, 사상균은 로즈벵갈 한천배지를 사용하여 각각의 희석 배수에서 희석액 1ml을 접종하였다. 토양 미생물 계수는 세균 10^6 , 방선균 10^5 , 사상균은 10^4 에서 측정하였으며, 균수 계산은 건토 중량 기준으로 하였다.



Figure 54. 균처리 토양개량제(FPG)



Figure 55. 참여기업 토양개량제(PG)

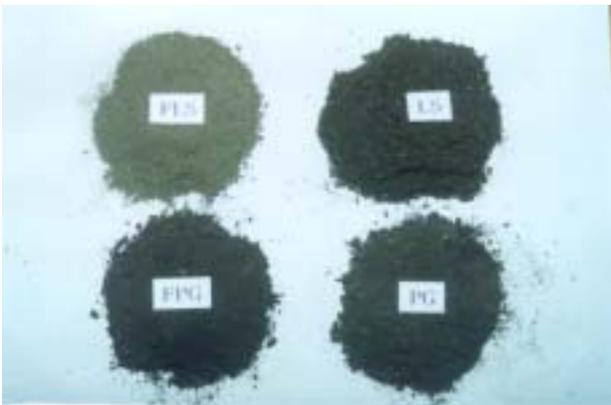


Figure 56. 제조 상토와 토양개량제



Figure 57. 제조한 토양개량제의 하우스 토양과의 혼합



Figure 58. 나무상자에 제조한 토양 담기



Figure 59. 처리별 토양을 담은 나무상자



Figure 60. 각 처리별 모종 상에 물주기



Figure 61. 각 처리별 모종 상에 상추 모종 이식



Figure 62. 상추 모종 이식 후의 각 처리별 모종 상



Figure 63. 간이 온실 안에 각 처리별로 배열된 모종 상



Figure 64. 상추 재배를 위한 간이 온실

나. 결과 및 고찰

1) 혼합비율에 따른 작물재배

토양개량제로서의 가능성 시험을 조사하기 위해 먼저 참여기업 대표의 의견에 따라 균 처리에 의해 제조한 토양개량제(FPG)와 참여기업의 프로그래스(PG)를 혼합하여 시험을 실시하였다. 작물 생장에 가장 양호한 FPG와 PG의 혼합 비율을 알아보기 위해 비율을 5 : 5, 6 : 4, 7 : 3, 8 : 2로 하여 하우스 토양과 혼합하여 시험에 사용하였다.

또한 토양개량제 시험을 위해 제조된 FPG와 PG의 C/N 비를 분석하였으며, 원 시료인 톱밥의 C/N 비를 알아보고자 생톱밥의 C/N 비도 함께 분석하였는데 그 결과와 혼합비율 시험 결과는 다음과 같이 나타났다.

신갈나무 톱밥의 경우 탄소 함량에 대한 질소 함량의 비는 466.73으로 C/N비가 매우 높았다. 탄소 함량이 88.68%로 매우 높은 반면 질소 함량은 0.9%로 낮은 수치였다. C/N비가 높은 유기물일수록 미생물에 의한 분해가 어려워지는 성질이 있다(김 등, 1999)고 하였는데, 실제 순수한 톱밥에 미생물을 접종하여 분해를 유도했을 때 150일 이상 배양을 진행했어도 중량감소율은 50%를 넘지 못하였다. 이것으로 보아 C/N비와 유기물의 부숙과는 밀접한 관계가 있음을 알 수 있었다.

참여기업에서 제조한 PG의 경우 탄소 함량이 31.77%, 질소 함량이 1.01%로 C/N비가 31.45 였다. PG는 참여기업에서 기업의 know-how로 제조된 것인데 C/N비로 보아 부숙이 상당히 이루어져 있는 것으로 보인다.

이와 함께 PG에 리그닌 분해 우수균인 SJ-28을 처리하여 재 부숙시켜 제조한 FPG의 경우 탄소 함량이 21.82%, 질소 함량이 0.80%로 C/N비는 27.27 이었는데 균 처리 전의 PG와 비교해 보았을 때 탄소 함량과 질소 함량이 감소되었고 C/N비도 조금 낮아졌음을 알 수 있었다. 감소된 C/N비로 보아 균 처리에 의해 부숙이 더 진행되었다고 판단된다.

한편 작물 생장에 가장 양호한 FPG와 PG의 혼합비율을 알아보고자 각각의 비율을 5 : 5, 6 : 4, 7 : 3, 8 : 2로 구분하여 상추 재배 실험을 실시한 결과는 다음과 같았다. 상추 잎 채취는 17일 동안 진행하였으며, 일정 크기의 잎을 채취하여 수량과 무게를 측정하였다. 5 : 5의 비율로 처리한 구에서는 총 12장의 잎을 채취하였으며 총 무게는 85.59g 이었고 평균 잎 무게는 7.13g 이었다. 6 : 4의 비율로 처리한 구에서는 총 56장의 잎을 채취하였고, 채취한 잎의 총 무게는 405.48g 이었으며 평균 잎 무게는 7.24g 이었다. 7 : 3의 비

율로 처리한 구에서는 총 57장을 채취하였으며, 채취한 잎의 총 무게는 435.29g 이었고 평균 잎 무게는 7.63g 이었다. 8 : 2로 처리한 구에서는 총 43장의 잎을 채취하였고, 이들의 총 무게는 327.88g 이었으며 평균 무게는 7.62g 이었다.

이러한 결과로 보아 FPG와 PG의 혼합비율은 채취 수량, 총 무게, 평균 무게 모두 가장 높게 나타난 7 : 3이 좋을 것으로 판단된다. 따라서 토양개량제의 작물재배 실험 중 FPG는 PG와의 혼합비율을 7 : 3으로 제조하여 실시하였다.

Table 5. 원료 톱밥과 제조된 토양개량제 FPG와 PG의 C/N비 분석

시료	분석항목			
	C(%)	N(%)	C/N	수분(%)
톱밥	88.68	0.19	466.73	7.47
PG	31.77	1.01	31.45	22.26
FPG	21.82	0.80	27.27	17.46

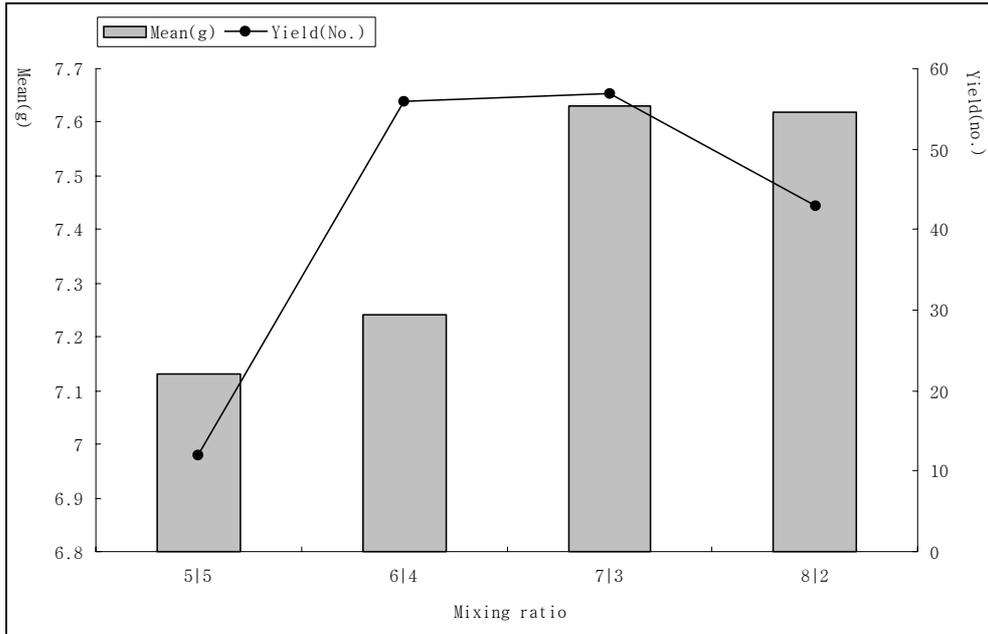


Figure 65. 혼합비율에 따른 상추 재배 수확량과 평균 무게

2) 토양개량제에 의한 작물재배

균 처리를 통해 제조한 토양개량제(FPG)의 토양개량제로서의 가능성을 알아보기 위해 작물재배를 실시하였다. FPG와의 작물재배 효과를 비교하기 위해 균처리 전의 제품(PG)과 zeolite를 처리하여 작물재배 시험을 실시하였다. 작물재배를 위한 기본 토양은 충주시 인근의 하우스 토양을 채취하여 사용하였으며, 하우스 토양 40kg에 각 처리 토양개량제를 혼합하여 60×40×20cm 규격의 나무 상자에 채워 상추 모종을 이식하여 재배실험을 실시하였다. 실험을 위해 채취한 기본 토양인 하우스 토양의 화학적 특성은 table 6과 같다.

pH는 5.71로 약한 산성을 띠고 있으며, EC(전기전도도)는 1.54 dS/m로 조사되었고 유기물의 함량(OM)은 1.34%이었으며 인산(P_2O_5)은 $1432.92\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 매우 높았으며 질산태 질소($\text{NO}_3\text{-N}$)는 $64.15\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 조사되었다. 치환성 양이온의 경우 칼슘(Ca)은 $7.24\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 높게 조사되었고, 마그네슘(Mg)은 $1.98\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 약간 높았으며, 칼륨(K)은 $0.16\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 이었고 나트륨(Na)은 $0.14\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 조사되었다.

Table 7은 상추재배 실험 후의 토양의 변화를 조사한 것으로 재배 실험 시작 후 4주와 8주에 각 처리구에서 토양을 채취해 토양의 화학적 특성을 분석한 것이다. pH의 경우 control은 1차로 4주에서 pH 5.35 였고 8주 후 2차 조사에서 pH 5.12로 낮은 산성을 나타냈다. 이러한 경향은 각각의 처리구에서 같은 경향을 나타냈다. Zeolite 처리의 경우 pH 5.27에서 pH 5.12로 낮아졌으며, PG를 처리한 구는 pH 5.62에서 pH 5.59로, FPG를 처리한 구에서는 pH 5.83에서 pH 5.59로 조사되었다. pH의 경우는 우리나라 작물의 생육 적정 범위는 pH 6.0~6.5(신 등, 1988)으로 보고된 바 있으나 본 실험에 사용된 토양의 pH는 높게 조사되었다.

전기전도도(EC)의 경우는 각 처리 모두 4주 째의 1차 조사 때보다 8주 후의 2차 조사 때에 그 값이 매우 높아졌다. Control 구의 경우 2.40dS/m에서 3.31dS/m로, zeolite 처리구는 2.03dS/m에서 2.30dS/m으로, PG 처리구는 2.5dS/m에서 2.87dS/m으로 FPG 처리구는 1.37dS/m에서 1.6dS/m으로 각각 높게 조사되었다. 이러한 이유는 control에서 2차 조사에서 질산태 질소의 함량이 많아진 것이 그 이유로 판단된다.

유기물 함량(OM)의 경우는 control 구와 zeolite 처리구에서 1차 조사 때보다 2차 조사에서 그 함량이 각각 1.72%에서 1.41%로, 1.78%에서 1.71%로 감소하였다. 반면 PG 처리구와 WPG 처리구의 경우 유기물의 함량이 늘었으며, 특히 FPG 처리구의 경우 1.67%에서 1.74%로 유기물 함량이 늘었다. 유기물의 적정한 함량은 3.0~3.5%(박 등, 1988)인 점을

생각하면 유기물의 함량이 부족하다고 생각하며, FPG 처리구의 경우 유기물의 함량이 증가되었으므로 식물성장에 도움이 될 것으로 생각하고 있다. 특히 우리 나라의 기후조건 하에서는 좀처럼 유기물 함량을 증대시키기 어렵고 더욱이 짧은 기간 내 유기물 함량을 높이는 어렵기 때문에 FPG 처리구에서 유기물 함량이 시간이 지남에 따라 미생물의 활동으로 계속 유기물의 함량이 증가가 되므로 바람직한 처리라 생각한다.

유효 인산의 경우 1차 조사에서 control의 경우 $1377.24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, PG 처리구에서 $1380.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, FPG 처리구에서는 $1375.19 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, zeolite 처리구는 $1353.17 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 조사되었다. 2차 조사에서는 control 구에서 $1280.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, PG 처리구에서 $1283.69 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, FPG 처리구에서 $1294.65 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, zeolite 처리구에서 $1245.72 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 로 4개의 처리구에서 모두 높게 조사되었지만 기본토양의 인산 함량인 $1432.92 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 와 비교해 보았을 때 시간이 흐를수록 4개 처리구 모두에서 감소하는 경향을 볼 수 있었다. 인산의 채소재배지 인산진단 기준은 $150 \sim 300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (이 등, 1987)으로 4배 이상 높게 조사되었다. 그러나 각 토양개량제의 처리 4주 후 zeolite 처리구의 경우 인산감소율이 12%로 각 처리구 중 감소율이 가장 높았으며, control 구는 11%, FPG와 PG 처리구는 10%로 그 감소율이 비슷하였다. 유효 인산의 경우 토양에서 고정이 크고 이동이 적으며 그 함량이 높을지라도 작물생육에 대한 피해가 적기 때문에 인식을 못하고 과잉 시비를 하므로 경영비의 그 경제적 손실도 크리라 생각된다.

질산태 질소의 경우는 각 처리간 그 함량의 편차가 크게 조사되었다. Control 구의 경우 $83.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 높았고 FPG의 경우 $11.59 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 로 낮게 조사되어 sampling error가 아닌가 생각된다. $\text{NO}_3\text{-N}$ 의 적절한 함량은 $100 \sim 250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (박 등, 1982)으로 보고하였는데, 각 처리구의 토양은 적절한 함량보다 낮은 함량으로 나타났다. 또한 $\text{NO}_3\text{-N}$ 은 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 이상 함유했을 때 작물의 생육 장애와 토양 침투에 의한 지하수 오염원이 될 수 있으므로 매우 중요하다고 생각된다.

Table 8은 치환성 양이온의 함량을 표시한 것이다. 치환성 Ca의 경우 1차 조사 시 control, PG, FPG, zeolite 처리구의 함량은 각각 $6.63 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $7.60 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $7.12 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$, $6.89 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 조사되어 우리 나라 치환성 Ca 평균 함량 적정 수준인 $3.4 \sim 6.4 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (이 등, 1985) 보다 높게 조사되었고, 2차 조사에서는 그 함량이 1차 조사시보다 더 높게 조사되었다. 2차 조사 때의 함량은 control $8.03 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$, PG $7.95 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$, FPG $7.12 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$, zeolite $7.00 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 각각 조사되었다. 그 증가는 control 구가 17.4%로 가장 높았고, PG 처리구는 4.4%, FPG 처리구는 1.9%, zeolite

처리구는 1.57%로 가장 낮았다.

치환성 마그네슘의 경우 일반적으로 1차 조사보다 2차 조사에서 그 함량이 증가하였다. Control 구의 경우와 zeolite 처리구의 경우는 그 증가율이 각각 10.1%와 11.29%로 zeolite가 약간 높았다. PG 처리구와 FPG 처리구는 그 증가율이 2.01%와 1.25%로 낮았다. 치환성 마그네슘의 우리 나라 평균 적정 수준은 $1\sim 1.5\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ (이 등, 1985)으로서 적정 수준보다 2배 이상 많은 함량이다. 채소의 생리장애는 토양양분의 과잉축적이나 양분의 불균형, 재배환경들의 복합적 요인으로 발생하는 경우가 많은데 과잉의 해 중 K은 Mg과 Ca으로 인하여, 과잉의 Mg은 K과 Ca의 흡수 저해를 야기 시키기 때문에 토양 중 적정 수준의 양분이 있어야 한다고 생각한다.

치환성 칼륨의 경우 1차 조사시 control $0.47\text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, PG $0.57\text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, FPG $0.49\text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, zeolite $0.38\text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 이었으며, 2차 조사에서는 control $0.36\text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, PG의 경우 $0.33\text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, FPG는 $0.31\text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, zeolite의 경우는 $0.33\text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 으로 조사되었다. 치환성 칼륨의 우리 나라 시설토양 평균 적정 수준인 $0.32\sim 0.47\text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ (이 등, 1984)으로 이 조사 함량은 적정 수준이라 생각한다.

Table 9는 철, 망간 및 중금속 함량을 나타낸 표이다. 철의 경우 1차 조사에서 control 구에서 $143.13\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, PG 처리구는 $133.60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, FPG 처리구의 경우는 $131.60\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, zeolite 처리구는 $135.68\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 이었다. 그러나 2차 조사에서는 control 구에서 $146.16\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, PG 처리구에서 $143.26\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, FPG 처리구에서 $124.41\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 으로 FPG 처리구에서만 그 함량이 다소 감소하였다. Zeolite는 $142.22\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 으로 2차 조사에서 그 함량이 높아졌다. 일반적으로 철의 함량은 낮은 pH와 매우 밀접한 관계에 있으므로 그 증가 이유가 여기에 있다고 생각할 수 있다.

Mn의 경우는 1차 조사 시 보다는 2차 조사에서 그 함량이 감소하였다. 2차 조사시 control, PG, FPG, zeolite의 각 처리구에서 그 함량이 71.93, 69.51, 77.91, 65.91 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 으로 조사되었다.

중금속 아연의 경우 실험 전 토양의 아연의 함량이나 실험 후 1차 및 2차 조사의 함량에서 그 차이가 없다고 생각한다. 1차 조사시 아연의 함량은 control $35.01\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, PG $33.80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, FPG $34.93\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, zeolite $33.80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 이었으며, 2차 조사에서는 31.63, 32.28, 35.71, 30.51 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 으로 각각 조사되었다. 이 등(1991)은 호남 및 충남지역의 시설재배지 토양 중 아연의 함량은 $10.1\sim 22.3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 범위에 있다고 하였다. 아연은 식물 생육에 있어서 탈수소 효소 및 펩티드 가수분해 효소 등에 필수적인 요소이며 보

통 토양 중의 아연 함량은 $10\sim 300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 이고 토양 중 농작물 피해농도는 $150\sim 500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (김, 1993)이다. 시설재배지 토양의 아연 함량은 정 등(1997)이 보고한 우리나라 평균 함량은 $23.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 채소재배지 $16.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (김 등, 1992) 보다 높았다. 토양 개량제가 들어간 토양에서의 그 함량 변화는 PG 처리구와 FPG 처리구에서는 함량의 차이를 볼 수 없었으며 zeolite 처리구는 약간의 감소를 보였다.

구리의 경우에는 PG, FPG, zeolite의 처리구에서 약간의 함량 감소를 보였다. PG, FPG, zeolite 처리구의 1차 조사에서 함량은 각각 $10.64 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $10.57 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $11.63 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 이었으며, 2차 조사에서는 각각 $10.43 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $10.35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $10.91 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 약간 감소하는 경향을 보였다. 정 등(1997)의 보고에 의하면 우리나라 시설재배지 토양의 구리 평균 함량이 $3.69 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 보아 본 처리구 별 실험 토양의 구리 함량은 우리나라 평균 시설재배지 구리 함량보다 2배 이상 많았다.

카드뮴의 경우 1차 조사시 보다 2차 조사시에 그 함량이 약간 감소하였다. 1차 조사시 control 구는 $0.33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, PG 처리구는 $0.33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, FPG 처리구는 $0.35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, zeolite 처리구는 $0.37 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 조사되었고, 2차 조사에서는 각각 $0.27 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $0.29 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $0.30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $0.31 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 조사되었다. 우리나라 시설재배지의 카드뮴 평균 함량은 $0.20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (정 등, 1997)으로 우리나라 시설재배지 평균 함량보다는 본 실험의 처리구별 토양에서 카드뮴 함량이 높게 나타났으나 기본토양인 하우스 토양의 카드뮴 함량인 $0.33 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 과 비교해 보았을 때 시간이 경과함에 따라 감소함을 알 수 있었다.

납의 경우 실험 전 하우스 토양에서 $2.95 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 인 것에 비해 각 처리별 실험 토양에서 납 함량이 높았다. 1차 조사에서 control 구는 $4.56 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, PG 처리구는 $4.66 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, FPG 처리구는 $4.48 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, zeolite 처리구는 $4.73 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 나타났으며, 2차 조사에서는 각각 $3.31 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $3.89 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $4.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, zeolite $4.06 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 으로 나타났다. 모든 처리구에서 우리나라 시설재배지 납의 평균 함량인 $2.49 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (정 등, 1997) 보다 높았다. 비록 납 함량이 기본 토양인 하우스 토양보다 1차, 2차 조사에서 높게 나타났지만 1차 조사 때보다 2차 조사에서 모든 처리구에서 감소하는 경향을 나타내었다.

Table 6. 시험 전 기본 토양(하우스 토양)의 화학적 특성

Treatment	pH (1:5)	EC (dS · m ⁻¹)	OM (g · kg ⁻¹)	P ₂ O ₅ (mg · kg ⁻¹)	NO ₃ -N (mg · kg ⁻¹)	NH ₄ -N (mg · kg ⁻¹)	Ca (cmol · kg ⁻¹)	Mg (cmol · kg ⁻¹)
하우스 토양 ^x	5.71	1.54	13.40	1432.92	64.15	53.97	7.24	1.98
Treatment	K (cmol · kg ⁻¹)	Na (cmol · kg ⁻¹)	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd	Pb
하우스 토양	0.16	0.14	75.53	74.36	31.33	7.93	0.33	2.95

X : Sampling time : May 08

Table 7. 재배 시험 후 각 처리별 토양의 화학적 특성

Treatment	Sampling time	pH (1:5)	EC (dS · m ⁻¹)	OM (g · kg ⁻¹)	P ₂ O ₅ (mg · kg ⁻¹)	NO ₃ -N (mg · kg ⁻¹)	NH ₄ -N (mg · kg ⁻¹)
Control	1 ^Y	5.35±0.15 ^X	2.40±0.46	17.20±0.60	1377.24±19.18	83.05±15.33	54.64±10.03
	2 ^Z	5.12±0.15	3.31±0.34	14.10±3.10	1280.25±19.18	120.48±23.28	53.36±11.09
PG	1	5.62±0.10	2.50±0.31	17.40±3.40	1380.00±13.26	79.14±21.30	58.70± 1.76
	2	5.59±0.14	2.87±0.53	17.60±3.30	1283.69±21.75	75.48±27.83	48.42± 4.60
FPG	1	5.83±0.08	1.37±0.17	16.70±1.90	1375.19±18.51	11.59± 7.21	55.63± 4.63
	2	5.59±0.06	1.60±0.32	17.40±2.30	1294.65±53.88	7.46± 3.88	27.75± 3.46
Zeolite	1	5.27±0.13	2.03±0.12	17.80±2.60	1353.17± 6.30	53.27± 4.91	51.94± 4.56
	2	5.11±0.06	2.30±0.14	17.10±2.50	1245.72±79.85	63.88± 9.02	30.73± 3.83

X : Standard Deviation

Y : Sampling time 1 : June 07

Z : Sampling time 2 : June 30

Table 8. 작물 재배 후 각 처리별 토양의 치환성 양이온 함량

Treatment	Sampling time	Exchangeable cation (cmol · kg ⁻¹)			
		Ca	Mg	K	Na
Control	1 ^Y	6.63±0.07 ^X	2.21±0.05	0.47±0.05	0.27±0.01
	2 ^Z	8.03±0.80	2.46±0.17	0.36±0.02	0.35±0.03
PG	1	7.60±0.07	2.38±0.05	0.57±0.07	0.46±0.05
	2	7.95±0.46	2.43±0.19	0.33±0.04	0.56±0.15
FPG	1	7.12±0.22	2.36±0.07	0.49±0.04	0.38±0.01
	2	7.26±0.50	2.39±0.19	0.31±0.11	0.39±0.07
Zeolite	1	6.89±0.10	2.12±0.06	0.38±0.02	0.47±0.04
	2	7.00±0.31	2.39±0.08	0.33±0.06	0.41±0.10

X : Standard Deviation

Y : Sampling time 1 : June 07

Z : Sampling time 2 : June 30

Table 9. 작물 재배 후 각 처리별 토양의 철, 망간 및 중금속 함량

Treatment	Sampling time	Fe	Mn	Zn	Cu	Cd	Pb
		----- (mg · kg ⁻¹) -----					
Control	1 ^Y	143.13± 2.93 ^X	78.78±1.63	35.01±1.77	11.41±0.54	0.33±0.02	4.56±0.41
	2 ^Z	146.16± 5.90	71.93±8.56	31.63±0.33	11.62±0.20	0.27±0.02	3.31±0.16
PG	1	133.60± 9.27	71.02±1.59	33.80±0.60	10.64±0.10	0.33±0.01	4.66±0.30
	2	143.26± 3.16	69.51±4.25	32.28±1.06	10.43±0.09	0.29±0.03	3.89±0.21
FPG	1	131.60± 2.53	79.73±1.65	34.93±1.30	10.57±0.09	0.35±0.01	4.48±0.39
	2	124.41±18.51	77.91±4.45	35.71±4.94	10.35±0.04	0.30±0.03	4.00±0.11
Zeolite	1	135.68± 3.19	70.63±6.72	33.80±0.72	11.63±0.19	0.37±0.03	4.73±0.24
	2	142.22± 9.88	65.91±6.74	30.51±1.68	10.91±0.33	0.31±0.02	4.06±0.30

X : Standard Deviation

Y : Sampling time 1 : June 07

Z : Sampling time 2 : June 30

토양의 화학적 특성에 이어 작물재배를 실시하기 전·후의 기본 토양인 하우스 토양을 비롯해 하우스 토양에 각각의 토양개량제재를 혼합한 토양에서의 토양미생물 변화를 조사해 보았다.

Figure 66은 작물재배 전후의 세균 수 변화를 나타낸 것으로 기본토양인 처음의 하우스 토양의 세균 수는 $15.13 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 건토 였는데, 작물 재배 4주 째 채취한 각 토양개량제가 혼합된 토양에서의 세균 수는 control, FPG, PG, zeolite 처리구에서 $12.80 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 건토, $8.95 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 건토, $15.36 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 건토, $12.73 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 건토로 나타나 PG 처리구를 제외 하고는 세균수가 감소했음을 알 수 있었고, 8주 째는 $8.68 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 건토, $7.29 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 건토, $7.18 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 건토, $10.26 \times 10^6 \text{cfu/g}$ 건토으로 세균수가 4주째보다 감소되었다.

Figure 67은 방선균 수의 변화를 나타낸 것으로 하우스 토양의 경우 $1.16 \times 10^5 \text{cfu/g}$ 건 토이었던 것에 비해 4주 째에는 control, FPG, PG, zeolite 처리구에서 $6.98 \times 10^5 \text{cfu/g}$ 건토, $31.97 \times 10^5 \text{cfu/g}$ 건토, $12.81 \times 10^5 \text{cfu/g}$ 건토, $12.73 \times 10^5 \text{cfu/g}$ 건토 로 방선균 수가 증가되었으며 8주 째는 $8.68 \times 10^5 \text{cfu/g}$ 건토, $35.25 \times 10^5 \text{cfu/g}$ 건토, $16.76 \times 10^5 \text{cfu/g}$ 건토, $13.68 \times 10^5 \text{cfu/g}$ 건토로 4주 째보다 더 증가하였다. 특히 FPG 처리구의 방선균 수는 다른 처리구 에 비해 높은 증가를 나타내었다.

Figure 68은 사상균 수의 변화를 나타낸 것으로 하우스 토양의 경우 $2.33 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 건 토 이었는데 4주 째에는 control, FPG, PG, zeolite 처리구에서 $5.82 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 건토, $10.23 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 건토, $7.68 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 건토, $6.37 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 건토 로 그 수가 증가하였고 8주 째는 $9.92 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 건토, $10.94 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 건토, $9.58 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 건토, $14.83 \times 10^4 \text{cfu/g}$ 건토 로 4주 째보다 사상균 수가 더 증가하였다.

Control 구를 비롯해 토양개량제로서 처리한 FPG, PG, zeolite 모두 토양 내에서 유익한 토양 미생물의 활동에 좋은 효과가 있음을 알 수 있었다.

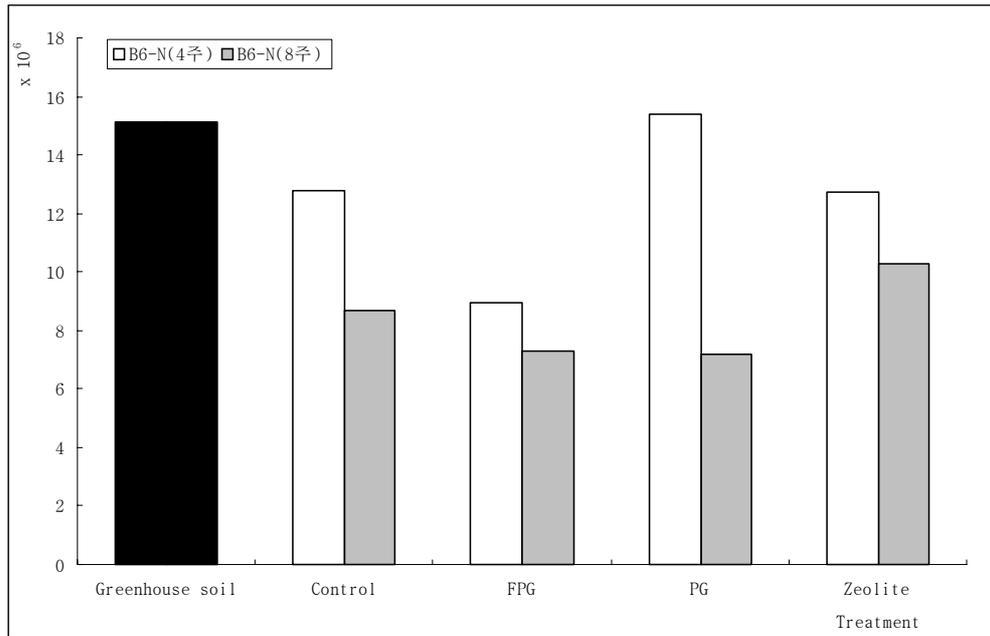


Figure 66. 기본토양(하우스 토양)과 각 토양개량제 처리구 토양에서의 세균의 변화

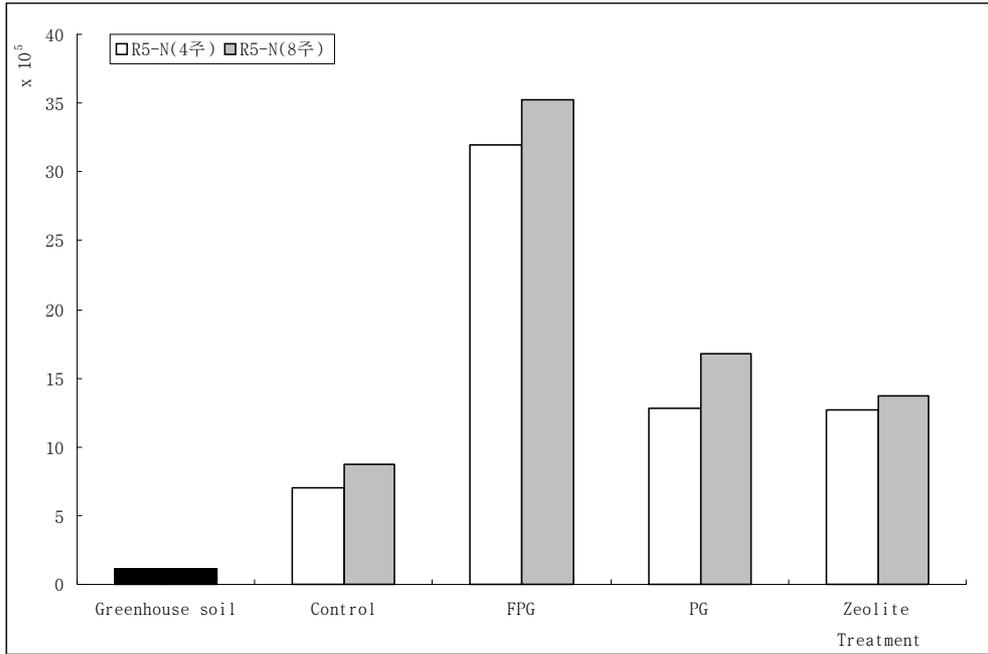


Figure 67. 기본토양(하우스 토양)과 각 토양개량제 처리구 토양에서의 방선균의 변화

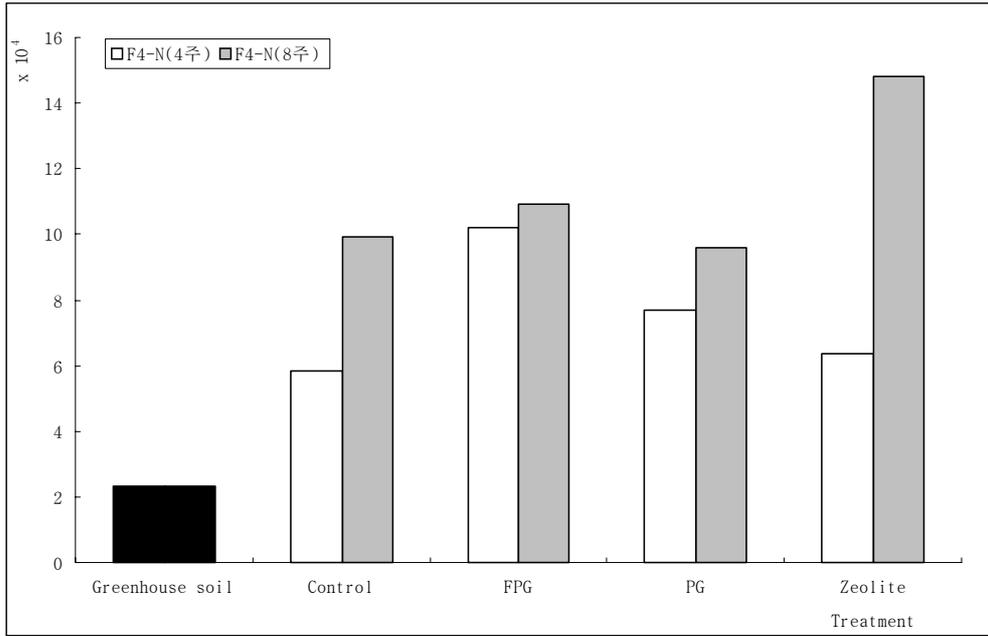


Figure 68. 기본토양(하우스 토양)과 각 토양개량제 처리구 토양에서의 사상균의 변화

Table 10은 각 처리구의 기간별 상추의 수확량과 평균 중량을 나타낸 것이다. 각 처리별 총 평균 중량으로 비교해 보았을 때 FPG 처리구에서 7.52g으로 가장 좋게 나타났으며, PG 처리구에서 6.85g, zeolite 처리구에서 6.79g, control 구에서 6.16g의 순서로 나타났다. 또한 각 처리구에서의 기간별 평균 중량을 비교해 보면 모든 처리구에서 2주간 째 가장 좋은 중량을 나타내었다. FPG 처리구에서 9.16g으로 가장 좋았으며, zeolite 처리구에서 8.26g, PG 처리구에서 8.23g, control 구에서 7.10g을 나타내었다. 총 수확량에 의한 평균 중량에서는 PG 처리구가 zeolite 처리구보다 높았으나 기간별로 비교해 보았을 때는 zeolite 처리구가 조금 상회하였다.

상추 모종 이식 후 25일 째부터 수확을 시작하여 4주간 실시한 결과를 총 수확량과 총 평균 중량으로 비교해 보면 control 구는 424장/6.159g, PG 처리구는 639장/6.852g, FPG 처리구는 629장/7.527g, zeolite 처리구는 521장/6.788g 이었다. 이 결과를 control 구를 기준으로 증가량을 비교해 보면 FPG 처리구는 수확량에 있어서는 약 148% 이상 증가했으며 평균 중량은 약 122% 이상 증가를 나타내었다. PG 처리구는 수확량은 약 150% 이상을 평균 중량은 약 111% 이상의 증가를 보였으며, Zeolite 처리구는 수확량은 약 122% 이상을 평균 중량은 약 110% 이상의 증가율을 보였다.

이것으로 보아 비록 총 수확량에서는 PG 처리구에 비해 약 1.5% 정도 낮은 두 번째 수확량을 보였으나 총 평균 중량 대비로 비교해 보았을 때 FPG 처리구가 PG 처리구보다 약 9% 정도 높게 나타나 가장 높은 중량을 나타내 상추생육에 가장 좋은 효과를 나타내었음을 알 수 있었다. 이와 함께 참여기업의 균처리 전의 PG 처리구는 zeolite 처리구나 control 구보다 양호하게 나타나 상추 생육에 좋은 효과를 미치리라고 판단된다.

Table 10. 각 처리에 따른 주간별 수확 상추의 평균수량

Treatment	1주	2주	3주	4주
	-----Fresh weight (g/plant)-----			
Control	6.35d ^x	7.10c	6.24b	4.76b
PG	7.53b	8.23b	7.16a	4.49b
FPG	8.16a	9.16a	7.56a	5.24a
Zeolite	7.24c	8.26b	7.25a	4.40b

^xMean separation within treatment by DMRT at 5% level

토양 생태계에서 끊임없이 진행되는 물질 변환의 주역은 토양 생물이다. 이 과정이 총체적으로 토양 생태계의 안정성을 유지할 수 있게 할뿐만 아니라 하나의 지구 생태계에서 서로 연계된 지상 생물의 안정성에도 긍정적인 기여를 할 수 있어야 한다. 생화학적 변화는 단계마다 효소가 매개한다. 흙 속에도 이런 변화에 필요한 온갖 종류의 효소가 토양 생물에 의해 합성되어 토양 속으로 배출된다. 이 효소에 의해 유기물이 분해되고 새로운 토양 유기물인 부식이 형성된다. 물론 이 부식 역시 오랜 시간의 경과와 함께 분해된다. 무기 물질도 토양의 생화학적인 반응 체계에 들어오면 토양 생물의 영향을 받는다. 단순한 무기 화합물의 형태로 남아 있을 경우에도 산화 또는 환원되는 변화를 겪는 것이 많다. 복잡한 구조를 가진 유기 화합물의 한 성분이 되기도 한다. 이 모든 변화의 주체는 토양 생물, 특히 토양 미생물이다. 일반적으로 거론되는 토양 생성 요인 5가지 중에서 식생이라고 하는 것은 식물과 식물의 잔해인 유기물이 직접적으로 토양을 형성한다는 의미가 아니다. 토양 생물의 영양원이 되어 토양 생물이 토양 형성에 관여한다는 뜻이다. 그렇지만 지상의 식생이 토양 생물의 활동 여하에 따라 생장이 좌우된다는 것도 사실이다. 이에 따른 지상 식생의 성장과 발달, 그리고 생산성은 대부분 중속영양체인 지상 동물상의 생존 여건이 된다. 그러므로 토양 생태계의 중요성은 식물에게 토양이 마련해 줄 수 있는 환경이 필수조건이라는 관점에서 고찰해야 한다. 식물이 성장하는데 알맞은 토양 온도를 비롯해서 토양 미생물의 대사활동 결과를 통해 식물에게 제공되는 필수 영양소의 함량 등이 특히 주의 깊게 논의되어야 한다.

지금까지의 실험 결과를 토대로 본 과제의 최종 연구 목표인 선발한 균 처리에 의한 토양개량제의 개발은 어느 정도 달성되었다고 판단된다.

제 4 장 목표 달성도 및 관련분야에의 기여도

제 1 절 목표 달성도

본 과제의 연구개발 목표는 크게 5가지로 대별되며, 연구개발 목표의 달성도는 다음과 같다.

1. 톱밥의 부숙화 활성을 위해 토착미생물 중 우수 균주 선발

연구범위는 기후대별 부후목 수집, 균 분리 및 배양, 우수 균주 선발, 균주별 발효특성 및 효과 비교로, 기후대별 부후목 수집의 경우 우리 나라를 4개 기후대로 구분하여 산림지역에서 143개의 부후목 및 자실체를 채취하였다.

균 분리 및 배양은 143개의 부후목으로부터 부후균을 screening 과정을 통해 171개 균주를 분리하여 배양하였다.

우수 균주 선발은 리그닌 분해효소 활성 시험을 통해 우수균 30개를 선발하였다.

균주별 발효특성 및 효과 비교는 우수균으로 선발된 30개 균주를 대상으로 신갈나무 톱밥에 배양하여 목재의 조성분 중 가장 분해가 어려운 리그닌의 분해 정도로 비교하였다.

이 결과 리그닌 분해균으로 알려진 균보다 리그닌 분해능이 우수했던 균주는 19개였으며 이들 중 SJ-28 균주에서 가장 높은 리그닌 분해율을 보였다.

2. 톱밥의 부숙화 활성을 위한 조건 구명

연구범위는 톱밥의 크기 및 전처리에 따른 조건 구명으로 톱밥을 이용한 토양개량제는 침엽수보다는 활엽수가 비료와 토양개량의 효과가 높다는 요구사항에 따라 참나무를 중심으로 활성을 조사하였다.

톱밥의 크기에 따른 선별 실험을 통해 톱밥 입자 크기 5mm 이하에서 가장 좋은 결과를 나타내었다.

또한 전처리에 따른 조건은 열연화 및 알카리 처리에 의한 부숙 활성을 증량감소율로

조사하였는데 무처리 구에서 가장 좋은 결과를 나타내었다.

따라서 톱밥의 입자 크기는 5mm 이하로 전처리를 실시하지 않은 톱밥이 가장 부숙화 활성에 좋으리라고 판단된다.

3. 선발된 우수 균주에 의한 퇴비화 성능 시험

연구범위는 선발균에 의한 톱밥의 부숙화와 부숙 톱밥의 성분 변이 분석으로 원료 톱밥의 조성분 분석과 균처리로 부숙 후의 톱밥 조성분을 분석하였다. 조성분 분석은 목재의 주성분 중 난분해 물질인 lignin을 중심으로 실시하였으며, Klason법으로 lignin을 정량하였다. 리그닌 외의 다른 성분의 분해 특성을 조사하기 위해 전섬유소를 분석하였는데, 전섬유소는 아염소산법으로 측정하였다.

선발균에 의한 톱밥의 부숙화는 30개 선발균 중 AS-4로 실시하였는데, 톱밥 입자 5mm 이하의 크기로 중량감소율로 측정하였다. 116일 동안 부숙을 진행한 결과 약 47.44%의 중량감소율을 나타내었다.

부숙 톱밥의 성분 변이 분석은 부숙화를 실시했던 AS-4의 경우 리그닌은 52.5%의 분해율을 나타내었으며 전섬유소는 37.31%의 분해율을 나타내었다. 또한 리그닌 분해능이 가장 우수했던 균인 SJ-28에서 리그닌은 약 63%의 분해율을 나타냈으며, 이 균에 의한 전섬유소 분해율은 약 38%를 나타내었다.

4. 퇴비화 성능시험을 통한 최적 종균 생산

연구범위는 선발 균주에 의한 종균 생산으로 리그닌 분해능 시험에서 가장 리그닌 분해율이 높았던 SJ-28 균주를 종균으로 하였다. 종균 생산은 참나무 미세 톱밥을 배지로 하여 생육에 적당한 환경을 만들어 SJ-28을 접종하여 배양하여 생산하였다.

5. 최적 종균에 의한 토양개량제의 생산

연구범위는 최적 종균에 의한 배양토 및 토양개량제 생산, 토양개량제 혼합비율에 따른 재배시험, 조건별 재배시험으로 배양토의 개발을 위해 상토로서의 가능성과 토양개량제로서의 가능성을 작물재배 시험으로 조사하였다.

상토의 경우 작물재배 시험은 시판 상토와 참여기업 제품과 선발균을 처리한 제품으로 실시하였고, 토양개량제의 경우 기본 토양인 하우스 토양과 zeolite, 참여기업 제품, 선발균을 처리한 제품을 혼합하여 상추로 생산성을 조사하였다. 상토 및 토양개량제 모두 균 처리 한 제품에서 가장 좋은 작물 생산성을 나타내었다. 본 시험에 사용한 상토 및 토양개량제는 참여기업에서 제조하여 사용하였다.

제 2 절 관련분야에의 기여도

관련분야에의 기여도는 참여기업의 대표가 작성한 것으로 그 내용은 다음과 같다.

목질 파쇄물인 톱밥이나 수피 등은 현재 퇴비 등의 토양개량제의 재료로 쓰여지는 다수의 원료에 속한다. 그러나 이 물질들은 탄소율이 높아 제대로 발효되지 않은 상태로 토양 내에 들어가게 될 경우 토양 내의 질소는 물론 작물체 내의 질소까지 빼앗아 갈 위험 즉 질소기아 현상 위험이 높을 뿐더러 발효되면서 작물 뿌리에 열상을 입힐 위험성이 다분히 높다.

본 연구는 이러한 톱밥 발효의 새로운 장을 열 수 있는 계기가 되었다.

발효기간을 당겼고, 발효도를 충실히 했으며, 저온 발효를 유도함으로써 에너지의 손실을 크게 줄였다.

결국 토양개량 원료로서 안전·신속하게 처리될 수 있게 했고 미생물 숫자의 증식도 향상시킴으로서 기간 내의 이익은 물론 품질향상을 기했다.

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

연구개발결과의 활용계획도 참여기업의 대표가 작성한 것으로 그 내용은 다음과 같다.

추가 연구의 필요성으로 미생물의 활성화 방안을 들 수 있다. 분리 추출된 리그닌, 섬유소 분해에 효율적인 미생물의 증폭 방안과 이들만으로 구성된 미생물 제제의 현실적 적용 방안에 대한 연구가 요구된다.

타 연구에의 응용 방안으로는 저온 혐기성 발효로 퇴비, 토양개량제 발효에 응용이 가능하다고 볼 수 있다.

기업화 추진 방안은 필드 실험을 거쳐 수년 내 제품 생산을 전제로 1차년도 시제품을 생산해서 인증 농산물 생산 단체에 정식 실험을 의뢰해 작물 실험을 실시할 계획 임. 이 실험 결과에 따라 2004년 하반기부터는 상품화할 계획 임.

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

일본의 경우 미생물과 mineral을 토대로 토양개량제 또는 농약이나 화학비료를 대체할 수 있는 품목을 개발 중에 있음.

일본 도부현(道府縣)에서 보고된 토양 만들기 사례는 전체로서 51개로서 집단 42, 개인 9개가 되고 있다. 작목별로는 채소가 26사례로 가장 많고 다음이 수도 16, 과수 6등. 지역별로 채소는 관동에서 지방에서, 수도는 동북, 북륙지방이 많다.

일본 농수성농업연구센터는 공동연구를 통해 폐기물인 간벌재 등 목재나 버섯의 균상을 잘게 분쇄한 토양 개량제가 수도 육묘용 배양토로 활용할 수 있음을 파악했다. 상토로 쓰면 육묘 시 Mat의 강도는 관행 입상배양토 이용과 같은 정도로 굳고 묘는 순조롭게 생육했다. 복토는 비료를 섞은 입상배양토를 쓴 편이 묘질은 좋았다. 육묘상 무게는 관행보다 30% 가벼워 운반작업도 편하게 할 수 있다.

제 7 장 참고문헌

김민호, 손무정, 이재효, 최병순. 1999. 흙과 퇴비와 유기물. 동화기술

김복영, 소규호, 김규식, 우기대, 유순호. 1992. 채소작물과 그 재배토양 중 중금속 자연 함유량에 관한 조사연구. 농시논문집(토양비료편) 32(2) : 56~70

박양호, 유인수, 김영남, 허범량. 1982.新开척지 사질토에서의 콩-보리에 대한 인산 전면 살포 시용의 효과. 한국토양비료학회지 15(3) : 172~177

선병문. 1993. 하우스 토양의 특성과 개량. 한국원예기술정보센터

신영오. 2000. 흙과 삶. 연세대학교 출판부

신원교, 박중춘. 1988. VIII시설재배 토양의 염류집적과 제염효과에 관한 연구. 農研報 22 (1) : 209-222

이상은, 박준규, 윤정희, 김만수. 1987. 비닐하우스 토양의 화학적 특성에 관한 연구. 농시논문집 29(1) : 166~171

이상은, 이강만. 1985. 시설원예지 염류집적 토양에 대한 화학적 특성조사 농사시험연구 보고서. 농기연. 318~329

이상은, 이강만, 신철우, 윤정희. 1984. 인산의 흡수력이 다른 배추 재배지 토양의 인산함량과 인산 시용량과의 상관연구. 농사시험연구보고서. 농기연. 389~393

이종식, 유철현, 강조국, 신기호, 소재돈. 1991. 경작년수에 따른 시설재배 토양의 미량성분 집적양상에 관한 조사. 농시논문지(토양비료편) 33(3) : 81~83

정구복, 정기열, 조국현, 정병간, 김규식. 1997. 시설재배지 토양 및 채소류 중 중금속 조사. 한토비지 30(2) : 152~160

강규영, 조병목, 오정수. 2001. 목재의 biopulping 적용을 위한 백색부후균의 평가 및 목질 분해 특성. 2001 한국목재공학회 추계학술발표논문집 64~66

김운수, 위승곤, 이광호, 이성진, 채정기. 1999. 식용 및 약용버섯에 의한 아까시나무의 분해에 관한 초미시구조적 특징. 한국목재공학회 99추계학술발표논문집 : 298~301

손동원, 김사익, 오정수. 1995. 갈색부후균 *Tyromyces palustris*와 백색부후균 *Coriolus versicolor*의 부후형 비교. 동국대학교 연습림논문집 4 : 77~85

신동소, 안세희. 1996. 목재보존학. 서울대학교 출판부

유태방, 최우영. 1990. 리그닌 분해균 *Coriolus versicolor*의 분리 및 특성. 펄프종이기술 22(1) : 47~54

윤승락, 최인규, 이재원, 김재경. 2000. 목질분해균에 의한 인피섬유의 미생물분해 특성. 한국목재공학회 2000추계학술발표논문집 314~319

이종규, 오은성. 1998. 백색목재부후균 중 biopulping에 이용가능한 선택적 리그닌 분해균의 스크리닝. 한국균학회지 26(2) : 144~152

이종윤, 장준복, 한상열. 1990. 폭쇄처리에 의한 biomass 자원의 전처리 및 당화 신공정의 개발 (II) 산 및 알카리에 의한 신갈나무와 이태리포플라 폭쇄재의 탈 리그닌. 펄프종이기술개발 22(4) : 26~34

임창숙, 조남석. 1990. 백색부후균 *Phanerochaete chrysosporium*에 의한 신갈나무 재의 생물학적 분해에 관한 연구. 한국 펄프·종이 공학회지 22(3) : 32~44

정현채, 박서기, 김병수, 박종열. 1995. 리그닌 분해와 리그닌 분해효소 생성을 위한 목재부 후균의 선발과 평가(I) 고효성 리그닌 분해균의 선발. 목재공학 23(4) : 108~116

조남석. 1984. 알칼리에 의한 고수율 설파이트 펄프의 탈리그닌에 관한 연구. 영남대학교 자원문제연구 3(1) : 83~89

조남석, 이종윤. 1989. 알칼리 탈리그닌을 이용한 고수율 설파이트 펄프의 제조에 관한 연구(제1보) 설파이트-소오다 2단 증해가 탈리그닌에 미치는 영향. 영남대학교 자원문제 연구 8(1) : 79~84

조남석. 1990. 목질계 폐재를 이용한 토양개량제 제조에 관한 연구. 영남대학교 자원문제 연구소. 자원문제 연구논문집 9 : 1~9

Akhtar, M., Attridge, M. C., Myers, G. C., Kirk, T. K. and Blanchette, R. A. 1992. Biomechanical pulping of loblolly pine with different strains of the white-rot fungus *Ceriporiopsis subvermispora*. Tappi J.(Feb.) 105~109

Blanchette, R. A. 1984. Screening wood decayed by white rot fungi for preferential lignin degradation. Appl. and Environ. Microbiol. 48 : 647~653

Blanchette, R. A. 1991. Delignification by wood decay fungi. Annu. Rev. Phytopathol. 29 : 381~398

Blanchette, R. A. 1995. Degradation of the lignocellulose complex in wood. Can. J. Bot. 73(Suppl. 1) S999~S1010

Kazutoshi Yoshihara, Isao Akamatsu, Hiroshi Kamishima and Toshiro Fujii. 1985. Screening of a White-rot Fungus with Strong Lignin Degrading Activity. 紙八技協誌.vol.39(7) : 681~690.

Leonowicz, A. and Grzywnowicz, K.. 1981. Quantitative estimation laccase forms in some white-rot fungi using syringaldazine as a substrate. *Enzyme Microbiol. Technol.* 3(1) : 55~58

Nakaya, M. 1999. Cultivation of some edible mushrooms using the sawdust of waste shitake bed logs. *한국목재공학회 99추계학술발표논문집* : 7~12

Nishida, T., Kashino, Y., Mimura, A. and Takahara, Y.. 1988. Lignin bio-degradation by wood-rotting fungi I. -Screening of lignin-degrading fungi-. *Mokuzai Gakkaishi* 34(6) : 530~536

Robert A. Blanchette. 1984. Screening Wood Decayed Rot Fungi for Preferential Lignin Degradation. *Applied and Environmental Microbiology*. Sept. 48(3) : 647~653.

Tomoaki Nishida, Yoshinori Kashino, Akio Mimura and Yoshimasa Takahar. 1988. Lignin Biodegradation by Wood-Rotting Fungi I -Screening of lignin-degrading fungi- *Mokuzai Gakkaishi* 34(6) : 530~536

U. Tuor, K. Winterhalter, A. Fiechter. 1995. Enzymes of white-rot fungi involved in lignin degradation and ecological determinants for wood decay. *Journal of Biotechnology* 4 : 11~17.

Yoshihara, K., I. Akamatgu, H. Kamishima and T. Fujii. 1985. Screening of a white-rot fungus with strong lignin degrading activity. *Japan Tappi* 39(7) : 65~74

주 의

1. 이 보고서는 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 농림부에서 시행한 농림기술개발사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 아니됩니다.