

시설 포도 유기농 재배지에서 녹비 생육 중 녹비 종류가 토양 미생물상에 미치는 영향

박기춘^{1)*} · 서영진¹⁾ · 김찬용¹⁾ · 김종수¹⁾ · 이영근²⁾ · 서지애²⁾

¹⁾경상북도농업기술원, ²⁾안동대학교 식물의학과
(2008년 9월 10일 접수, 2008년 9월 24일 수리)

Influence of Growing Green Manures on Soil Microbial Activity and Diversity under Organically Managed Grape-greenhouse

Kee-Choon Park^{1)*}, Young-Jin Seo¹⁾, Chan-Yong Kim¹⁾, Jong-Su Kim¹⁾, Young-Keun Yi²⁾, and Ji-Ae Seo²⁾ (¹⁾Gyeongsangbuk-do Agricultural Research & Extension Services, Daegu, 702-708, Korea, ²⁾School of Bioresource Science, Andong National University, Andong 760-749, Korea)

ABSTRACT: The aim of present work was to assess the response of soil microbial activity and diversity to green manures under the organically managed grape-greenhouse in early spring. Hairy vetch, milk vetch, and red clover were seeded in fall, and enzymatic activities by dehydrogenase and fluorescein diacetate (FDA) hydrolase, and microbial diversities by Biolog EcoPlateTM and phospholipid fatty acid (PLFA) were characterized for soils sampled in early spring. Dehydrogenase activity and FDA hydrolytic activity did not differentiate the green manures but the average well color development of Biolog EcoPlate was higher in soils covered with red clover than control soil. Soil microbial functional diversity by Biolog EcoPlate differentiated the soils covered with hairy vetch and milk vetch, and Shannon diversity index by Biolog EcoPlate was higher in soils covered with hairy vetch than control soil. Principal component analysis of PLFA differentiated the soils covered with milk vetch from control soil.

Key Words: green manure, soil microbial diversity, PLFA, Biolog

서 론

시설 재배 조건하에서 부가가치가 높은 포도를 생산하기 위해서는 질소 비료의 공급이 매우 중요하지만 포도의 유기농 인증을 위해서는 화학합성비료는 사용할 수 없기 때문에 이를 대체할 수 있는 양분 자원이 필요한 바, 녹비가 이에 해당된다고 볼 수 있다. 특히 콩과 녹비 작물은 토양 중 질산태 질소의 유실을 억제하고 공중 질소를 고정하여 후작물에 공급할 수 있기 때문에¹⁾, 겨울 동안 비닐하우스 시설에서 생육이 가능한 녹비를 가을에 파종하여 겨울 동안 생육시켜 토양에 혼입하거나 피복하면 포도 시설 재배지에 유기물과 질소를 공급할 수 있다.

녹비 작물의 뿌리 분비물에 의한 토양 유기물 공급은 토

양 미생물 활성을 증가 시키고, 녹비 종류에 따른 유기물의 종류와 량의 차이는 토양 미생물 군락에도 영향을 미친다.^{2,3)} Tejada 등은³⁾ 녹비 특히, 클로버 등의 콩과 녹비 작물 재배의 경우 탈수소효소 등의 토양 효소 활성을 증가시켰으며, 이는 유채 재배 보다 그 효과가 컸다고 보고한 바 있으며, 그 이유는 클로버가 이분해성 성분을 많이 함유하고 있기 때문이라고 하였다. 또한 녹비는 탈수소 효소 활성을 증가 시키고⁴⁾, 레드 클로버는 토양 미생물 활성 증가에 효과적이며⁵⁾, 녹비가 토양 미생물의 다양성에도 영향을 미친다고 하였다.⁵⁾ 식물 근권의 토양 미생물 조성은 근권 밖과는 전혀 다른 미생물 군락을 형성하며, 그 군락은 작물의 종 뿐만 아니라 품종의 차이에 따라서도 특이적인 모습을 나타낸다는 결과가 다수 보고되었다.^{7,8)}

한편 다 자란 녹비가 인위적으로 또는 자연적으로 토양에 공급되는 시기의 토양 미생물상도 중요하지만, 녹비가 다 자라기 전인 봄의 생육 초기에도 작물과 녹비가 경합할 수 있기 때문에 이 시기에도 녹비가 토양에 미치는 효과를 검정할

*연락처:
Tel: +82-54-683-1691 Fax: +82-54-683-1690
E-mail: kcped2@gba.go.kr

필요가 있다. 재배 관리 방법에 따른 토양 특성 변화 중에서 토양의 물리화학적 특성 변화보다 토양 미생물학적 특성 변화가 조기에 감지 되기 때문에 토양 미생물상은 녹비가 토양에 미치는 효과를 조기에 검정하는 수단이 될 수 있다.⁶⁾

토양 미생물 활성 측정을 위해서는 fluorescein diacetate 수화도나 탈수소효소 활성 등의 토양 효소의 활성법을 이용하고 있다.^{9,10)} 토양 미생물 군락의 다양성 측정은 Biolog EcoPlate 분석법과 미생물학적 지표물 보여주는 인지질 지방산(phospholipid fatty acid: PLFA) 분석법을 토양 미생물상을 구분하는 유용한 방법들 중의 하나로서 이용되고 있는데, 전자는 미생물 군락 특히 세균 군락의 기질 이용성 차이를 보여주고, 후자는 전체 미생물 군락의 생리생태적 그리고 구조적 특성을 동시에 보여 주는 장점이 있다.^{11,12)} Gomez 등은¹³⁾ 유기물을 사용한 후 미생물 군락의 기질 이용성 차이를 Biolog EcoPlate를 이용하여 관찰하여 유기물의 종류에 따라서 차이가 있음을 확인하였다. 그리고 Elfstrand 등은¹⁴⁾ 미생물 군락의 인지질 지방산을 분석하여 녹비의 처리 방법에 따른 토양 미생물상의 변화를 보고한 바 있다.

녹비의 효과는 토양, 재배환경, 녹비의 종류, 재배 작물, 작부체계 등에 따라 상이하게 나타남으로¹⁾ 본 연구는 노지재배와 다른 환경인 비닐하우스 내에서 유기농 포도를 재배하면서 녹비를 도입할 경우, 토양 미생물의 활력과 다양성에 미치는 효과는 녹비의 종류에 따라 다를 수 있다는 전제하에서, 가을에 세 종류의 콩과 녹비를 파종한 후 포도 생육 초기인 이른 봄에 토양 미생물의 활성과 다양성을 관찰하여 보고코자 한다.

재료 및 방법

녹비 재배 및 토양 채취

조기 출하를 목적으로 2중 비닐 피복 하우스 내에서 포도를 재배하고 있는 경북 상주시 모동의 유기농 인증 포도 농장에서 질소질 유기물 공급원으로서 헤어리 베치, 자운영, 레드 클로버를 2005년 10월 하순에 파종하였다. 이들 녹비 작물들은 대표적인 겨울철 콩과 녹비 작물로서 저온 생육이 왕성하여 이른 봄에 생물량을 확보하여 토양을 덮거나 토양에 혼입하기에 적당한 작물이다.¹⁵⁾

시험구 배치는 녹비를 파종 하지 않는 대조구를 포함하여 무처리, 헤어리 베치, 자운영, 레드 클로버의 4처리 3반복을 난괴법으로 배치하였다. 녹비종자를 9L 10a⁻¹ 밀도로 파종한 다음 월동 중에는 보온과 가온으로 관리하였으며, 녹비는 당년에 출아하여 비닐 하우스 내에서 겨울 동안 고사하지 않고 자랐다. 녹비 작물 재배시 토양 미생물의 활성 및 다양성 검정을 위하여 토양 시료는 초봄인 3월 20일 경에 10 cm 내 표층을 시험구 당 세 곳에서 직경 2 cm인 채취기로 채취하였다. 이렇게 녹비 작물의 지상부를 토양에 혼입하기 전인 이른 봄에 토양을 채취한 것은 이 시기에 이미 포도가 왕성하게 생육하는 시기로서, 이 시기가 녹비가 다 자라서 지상부를

토양에 혼입하는 후기보다 포도 작물에게는 더 중요하다고 판단했기 때문이다. 채취한 토양을 2 mm 체로 걸러서 식물 뿌리, 자갈, 거친 유기물 등을 제거한 후 토양 미생물의 효소 활력과 기능적 다양성 측정을 위한 시료는 4℃ 냉장고에 보관하면서 1주일 이내에 분석에 이용하였으며, 인지질 지방(PLFA) 분석을 위한 시료는 -80℃에 보관하였다.

토양 미생물 효소 활성과 다양성 측정 방법

탈수소 효소 활성과 fluorescein diacetate (FDA) 수화도는 Pepper 등과¹⁰⁾ Bandick 와 Dick이⁹⁾ 제시한 방법에 준하여 측정하였다. 토양 미생물 군락의 기능적 다양성은 Biolog EcoPlateTM(Biolog Inc., Hayward, CA)를 이용하여 측정하였다. 이를 요약하면, 토양 5 g을 0.85% NaCl 용액 95 ml에 넣고 15분간 회전용 Shaker로 200 rpm 속도로 흔든 다음 10⁻³ 배로 희석한 후 Microplate의 well에 125 µl 씩 분주하였다. 접종된 Microplate를 물로 적신 종이 수건과 같이 비닐 봉투에 넣은 후 24℃ 암실에서 72시간 배양하였다. 72시간 배양 후 보라색 색깔의 농도(OD)를 interference filter가 장착된 Microplate reader(Molecular Devices Emax)로 590 nm의 파장을 읽었다. 모든 색깔 농도 값은 control well의 control값을 빼고, 음의 수가 나오면 0으로 바꾸었다. 그 후 각 well의 값은 평균 well 값(AWCD)으로 나누어 Plate간의 농도차이에 의한 영향을 최소화하였다.¹⁶⁾ 인지질 지방산의 추출을 위해서 Peacock 등의¹⁷⁾ 방법을 준용하였으며, 간단히 요약하면 전술한 바와 같이 채취된 토양을 -80℃에 보관하면서 분석 직전에 꺼낸 4 g의 토양을 TEFLON 튜브에 넣고 여기에 chloroform : methanol : buffer solution (1 : 2 : 0.8 v/v/v) 혼합 용액을 넣어 지질을 추출하였다. 추출된 지질은 silicic acid 칼럼으로 neutral, glyco, phospholipid 로 분리하였다. 분리된 phospholipid를 메틸화한 다음 MIDI Sherlock Microbial Identification System(MIDI Inc., Newark, DE)으로 분석하였다. 각 인지질 지방산의 값은 각 시료에서 총 인지질 지방산의 퍼센트 비율로 표시하였다. fatty acid methyl ester 19:0 150 ng µl⁻¹ 농도를 내부 표준 물질로 이용하였다. 지방산의 생물학적 분류는 Li 등의¹⁸⁾의 분류 기준을 이용하였다.¹⁰⁾

통계처리

토양 미생물의 기능적 다양성 지수는 Shannon diversity index를 이용하였으며, Biolog EcoPlate의 결과를 다음의 계산식으로 계산하였다.

$$H = -\sum Pi(\ln Pi)$$

이 계산식에서 H는 다양성 지수이고, Pi는 총 기질 활성의 합계에 대한 각 기질 활성의 비율을 의미한다. 통계 처리를 위해서 SAS program version 9.13(SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하였으며, 효소활성과 다양성 지수 그리고 각 미생물 분류 지표에 대해서는 ANOVA duncan test

($P=0.05$)를 이용하였고, Biolog의 탄소 기질과 인지질 지방산에 대한 다변량 분석법을 위해서는 주요인 분석법을 이용하였다.

결과 및 고찰

토양 미생물 활성

토양 미생물 활성을 측정하기 위하여 살아 있는 세포에 반드시 존재하는¹⁹⁾ 탈수소효소 활성을 조사하였다(Fig. 1A). 그 결과 큰별초 등의 야생초가 많이 자란 대조구에 비해서 녹비 처리구 공히 탈수소 효소의 활성은 유의성 있는 차이를 볼 수 없었다. 지방과 단백질 등의 분해 정도를 보여주고 토양의 병역제성 지표로도 이용되는 FDA 수화도는²⁰⁾ 헤어리베치 처리구가 다른 처리구 보다 현저히 낮았지만 유의성은 없었다(Fig. 1B). 그리고 토양 세균의 활성을 보여주는 AWCD 값은 레드 클로버 처리구가 대조구 보다 높았지만, 다른 녹비 처리구와 비교하여 유의성 있는 차이는 없었다(Fig. 1C). 이러한 결과는 가을에 파종된 녹비가 발아하여 자라는 생육초기인 3월까지의 전체 미생물 활성에 미치는 효과가 현저하지 못함을 보여주고 또 녹비간에도 차이가 많지 않음을 보여주고 있다. 녹비의 지상부가 토양에 투입되지 않는 이 시기는 뿌리의 생육 정도나 분비물에 의해 토양 미생물 활성이 좌우되는 시기이고, 곰팡이 등의 전체 미생물의 생육량에 크게 의존하는 탈수소 효소 활성이나 FDA 수화도는 차이가 없고 세균의 활

성과 관계가 많은 Biolog EcoPlate의 AWCD 값만 레드 클로버 처리에서 높다는 것은 녹비의 뿌리 분비물이 곰팡이 보다 세균의 활성에 영향을 미치고 그 정도는 레드 클로버에서 가장 큼을 의미한다.

토양 미생물 군락의 기질 이용성 차이

Biolog Microplate는 1991년에 처음 사용하기 시작하여²¹⁾ 지금은 빠르고 간편하게 배양이 가능한 세균의 기능적 다양성을 조사하는 토양 미생물 분석법이 되었다.²²⁾ 이른 봄인 3월에 채취한 토양의 토양 미생물 군락 생태 차이를 Biolog EcoPlate에 토양을 접종하여 배양한 후 그 결과 값을 주요인 분석이라는 다변량 분석법으로 조사한 결과 전체 변이의 33.7%, 24.8%, 12.3%를 PC1, PC2, PC3이 각각 설명하였다. 대조구는 PC1에 대하여 다른 녹비 처리구와 분리되는 반면, 다른 녹비 처리구는 서로 겹쳐 있었다. PC2는 어떤 처리구도 서로 분리하지 못하였다. PC3는 자운영을 다른 두 가지의 녹비 특히 헤어리 베치 처리구와 분리하였다(Fig. 2). 따라서 녹비가 자라는 토양은 대조구와 기능적으로 완전히 다른 토양 미생물 군락을 형성한다고 보여지며, 자운영이 자라는 토양은 헤어리 베치나 레드 클로버와는 다른 생리적 미생물 군락을 형성한다고 보여진다.

PC1에서 높은 Loading factor 값을 가지는 탄소원은 L-asparagine, D-mannitol, L-serine, D-cellobiose, phenylethyl amine 등이었고, PC3에서 높은 loading factor 값을 가지

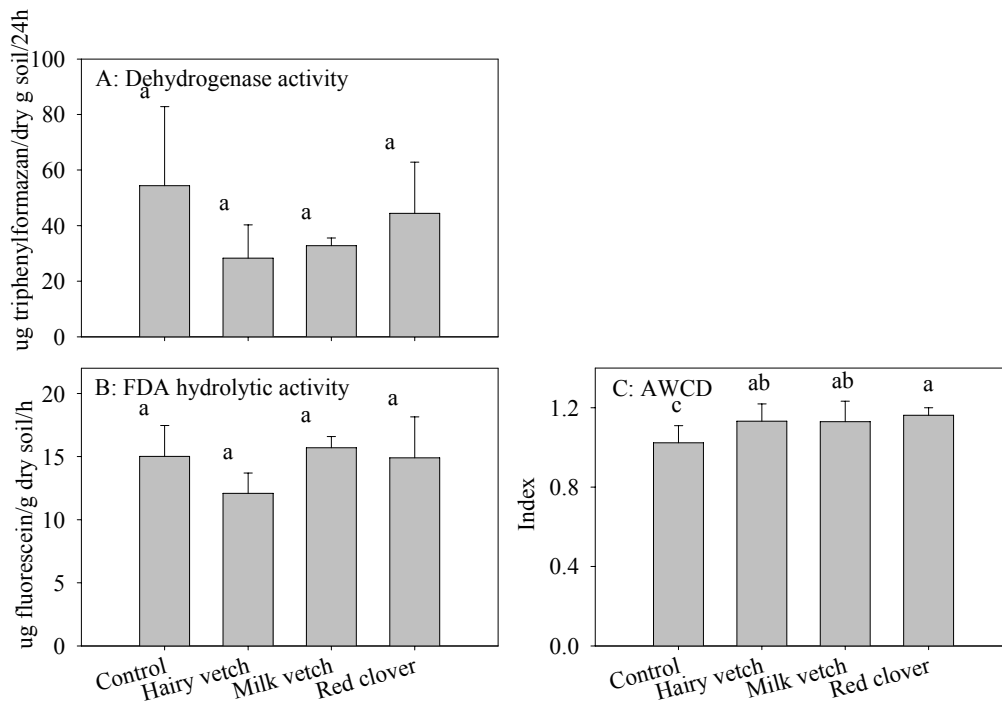


Fig. 1. Dehydrogenase activity (A), FDA hydrolytic activity (B), average well color development (C) in soils covered with green manures hairy vetch, milk vetch, and red clover in the organically managed grape greenhouse. Bars with different lowercase letters indicate a significant difference ($P < 0.05$) among green manures. Error bars indicate standard deviation

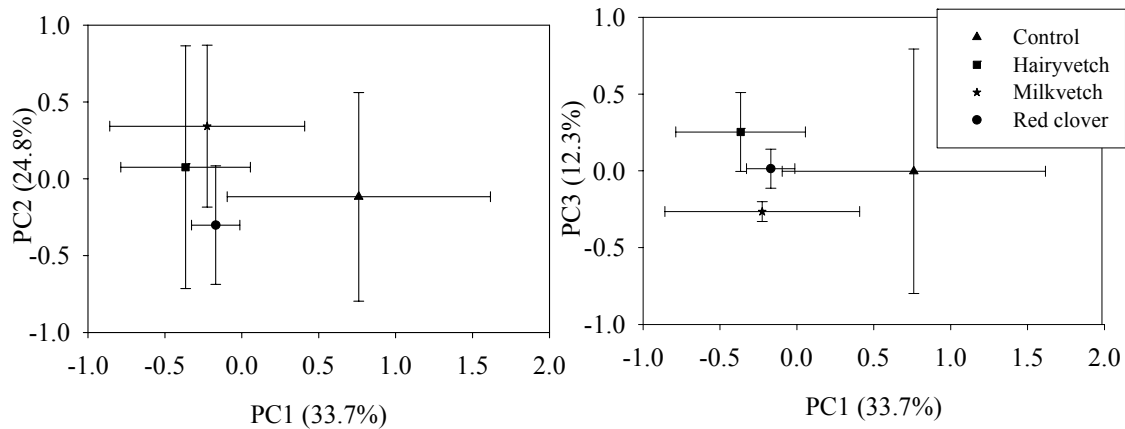


Fig. 2. Community level physiological profiling (CLPP) by Biolog EcoPlate of soils amended with green manures hairy vetch, milk vetch, and red clover in the organically managed grape greenhouse. Error bars indicate standard deviation.

Table 1. Carbon substrates with high loading values (> | 0.1 |) in the principal component analysis of Biolog EcoPlate in distinguishing the microbial communities of the soils covered with green manures under grape-greenhouse managed organically in early spring

Carbon substrate	PC1	PC2	PC3
β -methyl-D-glucoside	0.17	-	-
D-galacturonic acid	0.11	-	-
L-arginine	0.17	0.22	0.28
pyruvic acid methyl ester	-	-	0.16
D-xylose	-	-	0.32
L-asparagine	0.43	-	-
Tween 40	-	-0.24	-
i-erythritol	-	0.45	0.38
2-hydroxy benzoic acid	-0.17	-	-0.10
L-phenylalanine	-0.15	-0.13	0.34
Tween 80	-	-0.14	-
D-mannitol	0.32	-	0.12
4-hydroxy benzoic acid	0.16	-	-0.20
L-serine	0.35	-	-
α -cyclodextrin	0.24	-	-0.44
N-acetyl-D-glucosamine	0.13	-	-
γ -hydroxybutyric acid	0.11	-0.10	0.14
Gycogen	0.14	-	-0.31
Itaconic acid	-	0.10	0.10
D-cellobiose	0.31	-	-
Glucose-1-phosphate	0.10	-	-
Phenylethyl amine	0.35	-	-
α -D-lactose	-	0.77	-0.26
D-malic acid	0.18	-	-0.16
Putrescine	0.17	-	-

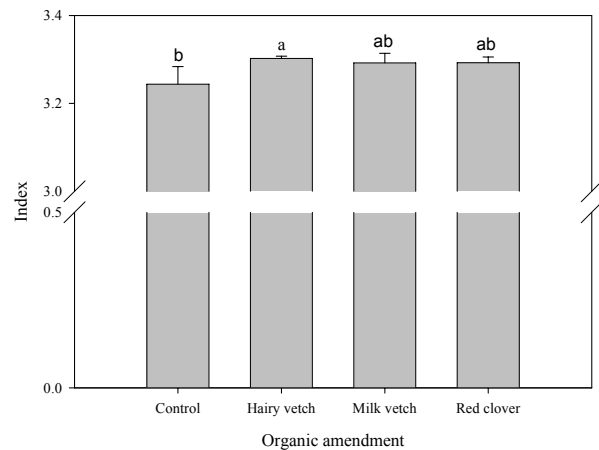


Fig. 3. Microbial functional diversity in soils covered with green manures hairy vetch, milk vetch, and red clover in the organically managed grape greenhouse. Bars with different lowercase letters indicate a significant difference ($P < 0.05$) among green manures. Error bars indicate standard deviation.

는 탄소원은 D-xylose, i-erythritol, L-phenylalanine, α -cyclodextrin, glycogen 등이었기 때문에 이들 탄소 기질들이 자운영이 다른 녹비와 구분되게 하는 주요 탄소원이었다(Table 1). 미생물 군락의 기능적 다양성 지수를 Biolog EcoPlate 결과 값으로 계산한 결과, 헤어리 베치 처리구의 미생물의 기능적 다양성 지수가 대조구 보다 높았고, 다른 녹비는 처리간에 유의성 있는 차이가 없었다(Fig. 3). 따라서 자운영과 헤어리 베치는 토양 미생물 군락의 기능적 다양성에 영향을 미치고 그 정도는 이들 두 작물이 레드 클로버보다 큼을 의미한다. 이러한 작물의 종류가 토양 미생물 군락의 기질 이용성의 차이에 미치는 효과는 다른 연구에서도 보고된바 있는데, 특히 식물 군락과 종이 토양 미생물의 기질 이용성의 차이에 미치는 효과는 초지를 이용한 실험에서 이미 보고되었다.²³⁾

PLFA에 의한 토양 미생물 군락 분석

Biolog EcoPlate에 의한 토양 미생물 분석시 나타나는 배양에 의한 편차를 줄이기 위하여 토양 속의 지질을 직접 추출하여 메틸화된 인지질 지방산을 GC-midi로 분석한 결과 총 41개의 지방산이 확인되었고, 12개의 샘플 중에서 6개 이하의 샘플에서만 확인되는 8개의 지방산은 제거하고 33개의 지방산을 분석에 이용하였다. 전체 미생물 군락의 처리간 유사도를 보기 위해서 개별 지방산의 비율을 주요인분석으로 분석한 결과 PC1이 총 변이의 54.80%를, PC2가 13.7%를 각각 설명하였다. PC1은 어떤 처리도 구분하지 못했다. 그리고 PC2는 처리구간에 차이를 만들었는데, 대조구와 가장 구분되는 것은 자운영이었고 그 다음이 헤어리 베치였으며, 레드 클로버는 구분되지 못했다. 그리고 녹비 간에는 차이가 없었다(Fig. 4). 한편 18:1 ω7c, 17:1 ISO I, 16:1 20H, and 19:0 CYCLO ω8c 등의 지방산 들이 PC2에 높은 부의 상관 관계를 가졌고, 15:0 ISO, 16:0, and 18:3 ω6c (6,9,12) 등의 지방산들은 PC2에 높은 정의 상관 관계를 보임에 따라서 이들 지방산들이 각기 반대 방향으로 자운영을 대조구와 구분되게 하였다(Table 2). 따라서 전체 지방산 구성에 의한 미생물 군락의 차이는 콩과 식물의 종류에 따른 차이보다 녹비 재배구와 녹비를 재배하지 않아서 큰별초 등의 잡초가 자라는 대조구와의 차이가 큼을 보여준다. 이러한 결과는 Bezemer 등이²⁴⁾ 초지에서 식물 종이 토양 미생물 군락에 미치는 유의성 있는 효과와 일치하며, 식물간의 유연관계가 멀수록 그 차이는 커짐을 의미한다.

결론적으로 헤어리 베치, 자운영, 레드 클로버 등의 녹비는 녹비를 재배하지 않는 토양과 비교하여 생육 초기인 봄에도 특이적인 미생물 군락을 형성하며, 특히 자운영이 미생물의 기능적 다양성이나 지방산 구성에 의한 미생물의 다양성 면에서도 다른 녹비와는 다른 미생물 군락을 형성한다고 판

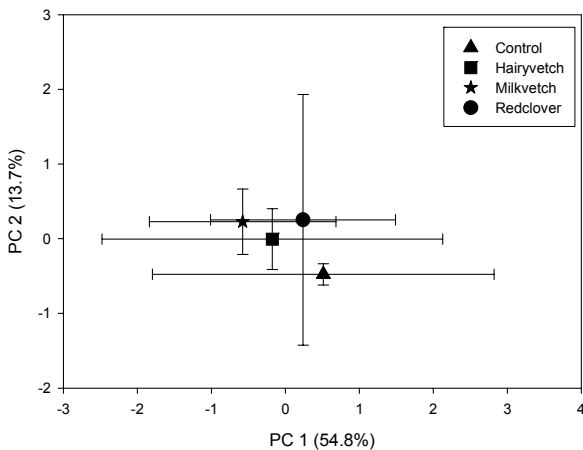


Fig. 4. Principal component analysis for abundance of FAME in soils covered with green manures hairy vetch, milk vetch, and red clover in the organically managed grape greenhouse. Error bars indicate standard deviation.

단된다. 유기농 포도 시설 재배에서 생육 중인 녹비 작물이 이른 봄의 토양 미생물상에 미치는 효과는 당년의 자라고 있는 녹비 작물의 효과뿐만 아니라 전년도에 혼입된 녹비 작물의 지상부도 영향을 미침으로 누년 효과를 검토하여 결론을 내리는 것이 타당할 것으로 보인다.

초 록

시설 유기농 포도 재배지에서 공중 질소 고정과 잡초 억제 목적으로 도입할 수 있는 월동 녹비가 녹비 생육 초기인 봄에 토양 미생물 활성화와 다양성에 미치는 효과를 검토하기 위하여 헤어리 베치, 자운영, 레드 클로버를 녹비로 파종한 후 효소 활성화와 토양 미생물 군락의 기질 이용성 및 인지질 지방산 차이에 의한 토양 미생물 다양성을 조사하였다. 탈수소효소 활성화와 FDA 수화도에 의한 미생물 활성화로 측정된 토양 미생물 활성화는 처리간에 차이가 없었다. Biolog Ecoplate의 평균 색도 변화는 레드 클로버가 대조구에 비하여 높았다. Biolog EcoPlate에 의한 토양 미생물 군락의 기질 이용성은 자운영 처리구가 헤어리 베치구 및 레드 클로버 처리구와 뚜렷이 구분되었다. 그리고 미생물 군락의 기능적

Table 2. phospholipid fatty acids (PLFA) with high loading values ($> |0.1|$) in the principal component analysis of PLFA in distinguishing the microbial communities of the soils covered with green manures under grape-greenhouse managed organically in early spring

Fatty acids	PC1	PC2
18:1 ω7c	-0.34	-0.31
17:1 ISO I	-	-0.27
16:1 20H	-	-0.24
19:0 CYCLO w8c	0.82	-0.24
20:4 ω6,9,12,15c	-	-0.21
18:1 ω9c	-	-0.21
16:1 ω5c	-0.20	-0.19
18:2 ω6, 9c	-0.19	-0.16
16:1 ω7c	-0.27	-0.11
16:1 ISO H	-	-0.11
17:0 CYCLO	-	-0.10
15:0 ANTEISO	-	0.11
17:0 ANTLISO	-	0.11
16:0 10 methyl	-	0.14
17:0 ISO	-	0.14
16:1 ω9c	-	0.16
19:0 10 methyl	-	0.19
15:0 ISO	-	0.27
16:0	-0.13	0.29
18:3 ω6c (6,9,12)	-	0.46

다양성 지수는 헤어리 베치구가 대조구 보다 유의성 있게 높았다. 인지질 지방산 구성에 의한 미생물 군락의 차이를 주요인 분석으로 분석한 결과 자운영이 대조구와 현저히 구분되었고 녹비 처리구 간에는 차이가 없었다.

감사의 글

본 연구는 2005년도 농촌진흥청 지역특화개발과제의 지원으로 수행되었으며 이에 감사 드립니다.

참고문헌

- Fageria, N. K. (2007) Green Manuring in Crop Production. *J. Plant Nutr.* 30, 691-719.
- N'Dayegamiye, A. and Tran, T. S. (2001) Effects of green manures on soil organic matter and wheat yields and N nutrition. *Can. J. Soil Sci.* 81, 371-382.
- Tejada, M., Gonzalez, J. L., García-Martínez, A. M. and Parrado, J. (2008) Application of a green manure and green manure composted with beet vinasse on soil restoration: effects on soil properties. *Bioresource Technol.* 99, 4949-4957.
- Stark, C., Condrón, L. M., Stewart, A., Di, H. J. and O'Callaghan, M. (2007) Influence of organic and mineral amendments on microbial soil properties and processes. *Appl. Soil Ecol.* 35, 79-93.
- Elfstrand, S., Hedlund, K. and Martensson, A. (2007) Soil enzyme activities, microbial community composition and function after 47 years of continuous green manuring. *Appl. Soil Ecol.* 35, 610-621.
- Stenberg, B. (1999) Monitoring soil quality of arable land: Microbiological indicators. *Acta Agri. Scand. B-S.* P. 49, 1-24.
- Chiarini, L., Bevivino, A., Dalmastri, C., Nacamulli, C. and Tabacchioni, S. (1998) Influence of plant development, cultivar and soil type on microbial colonization of maize roots. *Appl. Soil Ecol.* 8, 11-18.
- Marschner, P., Yang C. H., Lieberei, R. and Crowley, D. E. (2001) Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil Biol Biochem.* 33, 1437-1445.
- Bandick, A. K. and Dick, R. P. (1999) Field management effects on soil enzyme activities. *Soil Biol. Biochem.* 31, 1471-1479.
- Pepper, I. L., Gerba, C. P. and Brendecke, J. W. (1995) In *Environmental Microbiology: a Lab Manual.* pp. 51-56. Academic Press, Sandiego, CA.
- Garland, J. L. (1997) Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiol. Ecol.* 24, 289-300.
- Kaur, A., Chaudhary, A., Choudhary, R. and Kaushik, R. (2005) Phospholipid fatty acid - A bioindicator of environment monitoring and assessment in soil ecosystem. *Current Sci.* 89, 1103-1112.
- Gomez, E., Ferreras, L. and Toresani, S. (2006) Soil bacterial functional diversity as influenced by organic amendment application. *Bioresource Technol.* 97, 1484-1489.
- Elfstrand, S., Bath, B. and Martensson, A. (2007) Influence of various forms of green manure amendment on soil microbial community composition, enzyme activity and nutrient levels in leek. *Appl. Soil Ecol.* 36, 70-82.
- http://www.cotswoldseeds.com/Printable%20Versions/winter_green_manures.pdf
- Garland, J. L. (1996) Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization. *Soil Biol. Biochem.* 28, 213-221.
- Peacock, A. D., Mullen, M. D., Ringelberg, D. B., Tyler, D. D., Hedrick, D. B., Gale, P. M. and White, D. C. (2001) Soil microbial community responses to dairy manure or ammonium nitrate applications. *Soil Biol. Biochem.* 33, 1011-1019.
- Li, W. H., Zhang, C. B., Jiang, H. B., Xin, G. R. and Yang, Z. Y. (2006) Changes in soil microbial community associated with invasion of the exotic weed, *Mikania micrantha* HBK. *Plant Soil* 281, 309-324.
- Dick, R. P., Breakwell, D. P. and Turco, R. F. (1996) Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In Doran, J. W. and Jones, A. J. (eds) *Methods for assessing soil quality. Soil Sci Soc Am.* pp 247-271.
- van Bruggen, A. H. C. and Semenov, A. M. (2000) In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Appl. Soil Ecol.* 15, 13-24.
- Garland, J. L. and Mills, A. L. (1991) Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization, *Appl. Environ. Microb.* 57, 2351-2359.
- Preston-Mafham, J., Boddy, L. and Randerson, P. F.

- (2002) Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles-a critique. *FEMS Microbiol. Ecol.* 42, 1-14.
23. Loranger-Merciris, G., Barthes, L., Gastine, A. and Leadley, P. (2006) Rapid effects of plant species diversity and identity on soil microbial communities in experimental grassland ecosystems. *Soil Biol. Biochem.* 38, 2336-2343.
24. Bezemer, T. M., Lawson, C. S., Hedlund, K., Edwards, A. R., Brook, A. J., Igual, J. M., Mortimer, S. R. and Van der Putten, W. H. (2006) Plant species and functional group effects on abiotic and microbial soil properties and plant-soil feedback responses in two grasslands. *J. Ecol.* 94, 893-904.
-