KJEE 46(2) : 276~288 (2013)
http://dx.doi.org/10.11614/KSL.2013.46.2.276
ISSN: 2288-1115 (Print), 2288-1123 (Online)

Original article

토양 내 질소 증가가 미생물 활성 및 식물체의 분해에 미치는 영향

채희명 · 이상훈 · 차상섭 · 심재국*

(중앙대학교 자연과학대학 생명과학과)

Effects of Soil Nitrogen Addition on Microbial Activities and Litter Decomposition. ***Chae, Hee Myung, Sang Hoon Lee, Sang Sub Cha and Jae Kuk Shim* (Department of Life Sciences, Chung-Ang University, Seoul 156-756, Korea)***

The present study investigates the effects of elevated soil nitrogen on growth and decomposition of *Oryza sativa* shoots. The plants were cultivated in greenhouse until leaf senescence and the total biomass of the plant increased 1.9 times at nitrogen addition plot. Total C and N content in shoot increased; however, lignin, C/N, and lignin/N levels decreased in the N-treated soil. The shoot litters collected from the control and N-treated soil were tested for decay and microbial biomass, CO_2 evolution, and enzyme activities during decomposition on the control and N-treated soil at 25°C microcosm. The remaining mass of the shoot litter was approximately 6% higher in the litter collected from the control soil (53.0%) than the litter collected from high N-treated soil (47.1%). However, the high N-containing litter exhibited faster decay in the control soil than in the N-treated soil. The litter containing high N, low C/N, and low lignin/N showed a higher decomposition rate than that of low quality litter. The N-addition showed decreased microbial biomass C and dehydrogenase activity in soil; however, it exhibited high microbial biomass N and urease activity in soil. When the high N-containing litter decays on the N-treated soil, the microbial biomass C increased rapidly at the initial phase of decomposition and decreased thereafter, and dehydrogenase activity was less that of other treatment; however, there was no effect on the microbial biomass N. The urease in the decomposing litter was highest during the early decomposition stage and dramatically decreased thereafter. The present findings suggested that the N-addition increased N content in litter, but inhibited the decomposition process of above-ground biomass in terrestrial ecosystems.

Key words : decomposition, microbial biomass, soil enzyme, soil nitrogen

* Corresponding author: Tel: +82-2-820-5211, Fax: +82-2-825-5206, E-mail: Shimjk@cau.ac.kr

ⓒ The Korean Society of Limnology. All rights reserved.
This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/), which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provide the original work is properly cited.

서 론

육상생태계의 식물과 미생물들에게 질소는 일반적으로 제한 요인으로 작용하기 때문에 질소 유입의 증가는 식물의 생산과 분해와 같은 생태계 과정에 영향을 미친다 (Vitousek and Howarth, 1991). 화석연료 및 비료의 사용 등에 의하여 축적되는 질소의 양은 산업화 이전에 비해 2~7배 정도 증가하였으며 자연적으로 고정되는 질소량과 비슷한 것으로 추정된다(Vitousek *et al.*, 1997; Matson *et al.*, 2002; Galloway *et al.*, 2004). 산림에서는 주로 질소 강하물로 인하여 토양 질소가 증가하며 그 양은 미국 중부와 동부 지역의 경우 연간 7 kg ha^{-1}이며 중앙 유럽의 경우에는 17 kg ha^{-1}, 네덜란드의 경우에는 100 kg ha^{-1}에 이르는 것으로 보고되고 있다(Vitousek *et al.*, 1997; Bakker and Berendse, 1999; Galloway *et al.*, 2004; Stevens *et al.*, 2004). 삼림 내 성장을 유지하기 위해 필요한 질소의 양은 연간 5~10 kg ha^{-1}로 알려져 있다(Glatzel, 1990). 국내의 경우 총 질소 강하량은 연간 18.26 (10.41~30.10) kg ha^{-1}로 추정되며 국내 산림 생태계는 이미 질소 포화의 수준에 달하고 있다(Kim, 2006).

질소는 육상생태계에서 식물의 성장을 제한하는 주된 양분으로서 (Vitousek and Howarth, 1991) 산림 수목의 성장을 증가시킨다고 하였다(Spiecker, 1999). 또한, 생태계로의 질소 유입은 식물체의 질소 함량을 증가시키고 C/N 비율과 lignin 함량을 감소시켜 낙엽의 화학적 조성에 변화를 일으킨다(Norby, 1998; Hobbie, 2000). 이러한 식물체의 화학적 조성의 변화는 그 분해율에 영향을 미치는 가장 중요한 요인으로 인식되어져 왔다(Melillo *et al.*, 1982; Aerts and De Caluwe, 1997).

질소는 산림생태계에서 낙엽분해 과정을 조절하는 중요한 요인으로 알려져 있으며(Melillo *et al.*, 1982; Taylor *et al.*, 1989) 낙엽의 화학적 조성뿐만 아니라 분해의 환경을 변화시켜 분해과정에 영향을 미친다(Berg and Matzner, 1997; Hobbie, 2005). 이러한 질소의 증가는 낙엽의 분해를 촉진, 또는 저해하는 등 다른 양상을 나타낸다. Prescott (1996)은 산림에서 질소의 유입량과 분해율 사이의 직접적인 상관관계가 있음을 보고하였고, Vestgarden (2001)은 외부의 질소 유입이 낙엽 분해를 증가시키는 결과를 보고하였다. 그러나 다른 연구들에서 질소의 유입은 분해율에 아무런 영향을 주지 않았거나(Vitousek, 1998; Hobbie and Vitousek, 2000; Manning *et al.*, 2008), 억제되는 결과가 보고되었다(Magill and Alber, 1998; Ågren *et al.*, 2001; Micks *et al.*, 2004).

또한, 이러한 토양 질소의 증가는 분해뿐만 아니라 분해과정에 관련된 분해 미생물의 변화를 일으키며(Treseder, 2008) 미생물의 성장, 호흡, 분해 효소의 활성 등에 영향을 미친다. Magill and Aber (1998), 그리고 Fog (1999)는 질소 시비가 미생물의 성장과 호흡을 감소시키거나 영향을 미친다고 하였으며 Sinsabaugh *et al.* (2002)은 미생물의 활성이 토양 내 질소의 증가에 의해 억제되며 분해율의 감소에도 영향을 미친다고 하였다. 그러나 미생물과 효소의 활성이 증가하는 결과들도 있어서 (Allen and Schlesinger, 2004; Song *et al.*, 2013) 아직까지 토양 내 질소의 증가에 의한 미생물의 반응은 복잡하여 더 많은 연구가 필요한 실정이다.

본 실험은 질소 비료의 과잉 시비로 인하여 증가된 토양 질소가 식물의 성장 및 식물체의 화학적 조성에 어떠한 영향을 미치는지 야외 성장 실험을 통해 알아보는 한편, 이로 인하여 토양 내 미생물 및 효소활성에 미치는 영향을 측정하고, 과량의 질소 시비에 의해 달라진 식물체의 화학적 조성에 따른 분해율의 변화와 식물체 분해 과정에서의 미생물량 및 그들의 호흡과 몇몇 효소활성의 변화를 알아보고자 실험실 조건의 microcosm에서 분해 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

1. 식물의 배양 및 식물체 분석

실험을 위한 식물체는 벼(*Oriza sativa*)를 사용했으며, 직사각형 화분(가로 34 cm, 세로 45 cm, 높이 19 cm)에 산토:피트모스:펄라이트를 90:5:5 비율로 배합한 토양(19 kg)을 채웠다. 화분은 대조구와 시험구로 나누었으며 모두 4반복으로 실험하였다. 질소가 시비된 상태 하에서 성장한 식물체를 얻기 위해서 토양 1 kg 당 질소(NH_4NO_3) 0.193 g을 식물생육 1주일 전에 가하였고 이러한 질소 시비의 양은 연간 240 kg ha^{-1}에 해당하며 대조구는 질소를 시비하지 않았다(Table 1). 각 화분 당 종자 40개체를 파종하였으며 온실에 설치한 후, 토양은 마르지 않게 3~4일에 한 번씩 급수하였다. 3개월 뒤 결실 완숙 후 식물체의 지상부와 지하부를 수확하여 60°C 건조기에서 4

Table 1. Physical and chemical properties of control soil.

Soil texture (%)			C (%)	N (%)	C/N	pH
Sand	Silt	Clay				
25.0	53.3	21.7	0.33	0.87	0.38	4.53

일 동안 건조시켜 건중량을 측정하고 지상부는 5 cm 간격으로 잘라 microcosm 분해실험에 사용하였다.

배양된 식물체는 60°C의 건조기에서 건조시킨 후, Wiely mil (GE Motors: 5KH39QN5525A)로 갈아 1 mm 이하가 되도록 분쇄하여 ADF (acid detergent fiber) 방법 (Rowland and Roberts, 1994; Shin *et al.*, 2006)으로 lignin, cellulose 함량을 분석하였다. 일부는 ball mill로 갈아 C와 N 함량의 측정에 사용하였다. C와 N의 함량은 CHN analyzer (240XA, Beckman)를 사용하여 측정하였다.

2. 분해 실험을 위한 Microcosm 제작

Microcosm은 뚜껑의 탈착이 가능한 1 L 용량의 유리병을 사용하였으며 뚜껑에는 9 mm의 구멍을 뚫고 고무마개를 끼워 밀폐가 가능하고 필요 시 병 내부의 기체를 채취할 수 있도록 제작하였다. 병의 바닥에는 식물체의 재배에 사용한 토양 400 g을 넣고 포장수용량의 45%가 되도록 수분을 맞추어 습도가 일정하게 유지되도록 하였다.

식물체는 비닐 재질의 그물 낙엽주머니 (가로 8 cm × 세로 8 cm, 망목 크기 1.2 mm^2)를 제작하여 그 안에 건조된 식물체를 1.5 g씩 넣고, microcosm의 토양 위에 올려놓았다. Microcosm은 25°C 항온실에 두었으며 습도가 일정하게 유지되도록 3일 간격으로 증발된 양만큼의 수분을 첨가하였다.

Microcosm내의 토양은 대조구 토양 (Cs)과 질소 처리된 토양 (Ns) 두 종류를 사용하였으며, microcosm의 대조구 토양에는 대조구 토양에서 배양한 식물체 (Cs-Cp)와 질소 처리 시험구에서 재배된 식물체 (Cs-Np)의 낙엽주머니를 각각 올려놓았다. 또한, microcosm의 질소 처리 토양 위에는 질소 처리 토양에서 재배된 식물체의 낙엽주머니를 올려놓았다 (Ns-Np).

Microcosm 내의 낙엽주머니는 실험 시작 후 154일 동안 총 4차례 회수를 하였으며 2차 회수까지는 35일 간격으로, 그 후 두 번의 회수는 42일 간격으로 회수하였다. 회수한 낙엽의 일부는 회수 즉시 microbial biomass C와 microbial biomass N, 그리고 효소활성의 측정에 사용하였고, 나머지는 60°C에서 충분히 건조시킨 후, 무게를 측정하여 분해량의 산출에 사용하였다.

분해 중인 낙엽으로부터 발생되는 CO_2의 측정은 초기에는 3~4일 간격으로, 중반 이후에는 14일 간격으로 채취하여 측정하였다. 25°C에서 2시간 동안 microcosm 병의 내부에 생성된 CO_2를 IRGA (LI-840, LICOR)로 측정하여 CO_2의 발생량 ($\mu mol\ g^{-1}\ h^{-1}$)을 정량하였다 (Shim *et al.*, 2011).

토양에서 질소 처리에 의한 microbial biomass C, microbial biomass N 그리고 dehydrogenase와 urease 활성의 변화를 측정하기 위해 추가적으로 microcosm에서 대조구와 질소 처리구를 각각 4반복으로 제작하였으며 낙엽주머니는 놓지 않았다. Microcosm은 25°C 항온실에 두었으며 습도가 일정하게 유지되도록 3일 간격으로 증발된 양만큼의 수분을 첨가하였고 30일 후 측정에 사용하였다.

3. 분해 식물체의 미생물량 (microbial biomass) 측정

분해 식물체 및 토양의 미생물량 (microbial biomass)은 Ross and Sparling (1993)의 chloroform extraction 방법에 따라 측정하였다 (Ryou *et al.*, 2009). Microcosm에서 회수한 낙엽 0.2 g (토양의 경우 20 g)을 2 mm 크기로 잘게 잘라 진공 desiccator에 넣고 chloroform으로 24시간 동안 암실에서 훈증한 후, 여러 차례 감압과 회복을 반복하면서 chloroform을 제거하고, 0.5 M K_2SO_4 40 mL로 추출 여과하여 microbial biomass C와 microbial biomass N의 측정에 사용하였다.

Microbial biomass C의 측정은 추출 여과액 8 mL에 66.7 mM $K_2Cr_2O_7$ 2 mL, H_2SO_4 (98%)와 H_3PO_4 (88%)을 2 : 1로 섞은 혼합액 15 mL를 첨가하여 환류 가열 후 diphenylamine 1 g을 진한 황산에 녹인 지시약 0.5 mL를 첨가하여 ferrous ammonium sulphate로 적정하였다. 측정된 organic C의 양을 microbial biomass C로 환산하기 위하여 Microbial biomass C=Ec/0.38 (Vance *et al.*, 1987)을 사용하였다. Ec는 훈증한 시료의 적정치에서 훈증하지 않은 시료의 적정치를 뺀 값이다.

Microbial biomass N의 측정은 0.5 M K_2SO_4 추출액 0.75 mL에 ninhydrin-reagent 1.25 mL와 citric acid 1.75 mL를 첨가하여 끓는 물에서 반응시키고 상온에서 식힌 후 증류수와 1 : 1 비율로 혼합한 에탄올 4.5 mL와 섞어 spectrophotometer (DU650, Beckman)를 사용하여 570 nm에서 흡광도를 측정하였다. 측정된 NH_4-N을 microbial biomass N으로 환산하기 위해 Microbial biomass N=5.0 · E_N을 사용하여 microbial biomass N을 산출하였다 (Joergensen and Brookes, 1990). E_N은 훈증한 시료의 흡광도 수치에서 훈증하지 않은 시료의 흡광도 수치를 빼준 값이다.

4. 분해 식물체의 효소활성 측정

Dehydrogenase의 활성은 회수된 분해 식물체 0.2 g

(토양의 경우 5 g 사용)에 tris-buffer 1.5 mL와 2-(p-iodophenyl)-3-(p-nitrophenyl)-5-phenyltetrazoliumchloride (INT) 2 mL를 첨가하여 40°C에서 2시간 반응시킨 후 여과하였다. 이 여과액에 N,N-dimethylformamide 10 mL를 넣고 1시간 정치시켜 발색시킨 뒤 생산된 iodonitrotetrazolium formazan (INTF)을 464 nm에서 흡광도를 측정하여 효소의 활성도로 환산하였다(Mersi and Schinner, 1991; Ryou *et al.*, 2010).

Urease의 활성은 시료 0.2 g (토양의 경우 5 g 사용)에 기질로서 urea (79.9 mM) 2.5 mL를 첨가하여 37°C에서 2시간 동안 반응시킨 후 2 M potassium chloride 용액 50 mL로 반응을 정지시키고, 여과하였다. 이 여과액 1 mL에 증류수 9 mL와 0.3 M sodium hydroxide+sodium salicylate 용액 5 mL, 그리고 2 mL의 dichloroisocyanurate 용액을 첨가하여 30분간 상온에 정치하여 발색시킨 다음, 생산된 NH_4-N을 690 nm에서 흡광도를 측정하여 효소의 활성도로 환산하였다(Kandeler and Gerber, 1988; Ryou *et al.*, 2010).

5. 통계분석

각 측정치는 SPSS ver. 12.0.1을 이용하여 통계처리를 하였다. 분해율, 호흡, 건중량, 낙엽의 화학적 조성 등의 분석에 T-Test와 One-way ANOVA를 사용하였고, 상관분석은 Pearson 계수로 유의성을 검증하였으며, 선형회귀분석을 이용하였다.

결 과

1. 식물의 성장 및 화학적 조성

토양의 질소 처리 유무에 따라 식물체의 성장은 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다(Fig. 1). 질소를 시비한 토양에서 재배된 식물체는 개체당 건중량이 1.9배 크게 나타났으며, 지상부와 지하부의 비율(S/R)은 대조구에서 2.61, 처리구에서 3.51로 나타나 질소 시비로 지상부 증가를 초래하였다.

대조구와 질소 처리구에서 재배한 벼 지상부의 C, N, lignin, cellulose 함량은 Table 2와 같다. C와 N 함량은

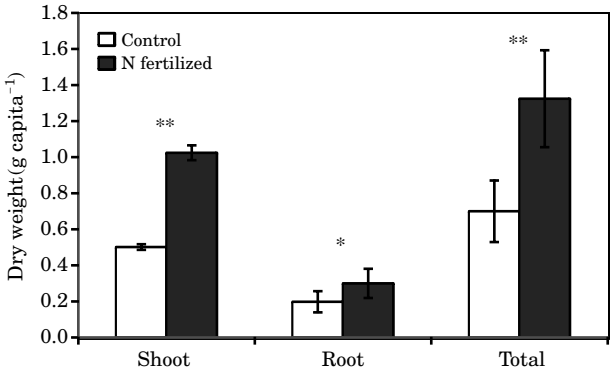

Fig. 1. Dry weight (g) of per capita in each soil treatment. Vertical bars are standard deviation (n=40). Difference has been tested by *t*-test. *: $p<0.05$; **: $p<0.01$.

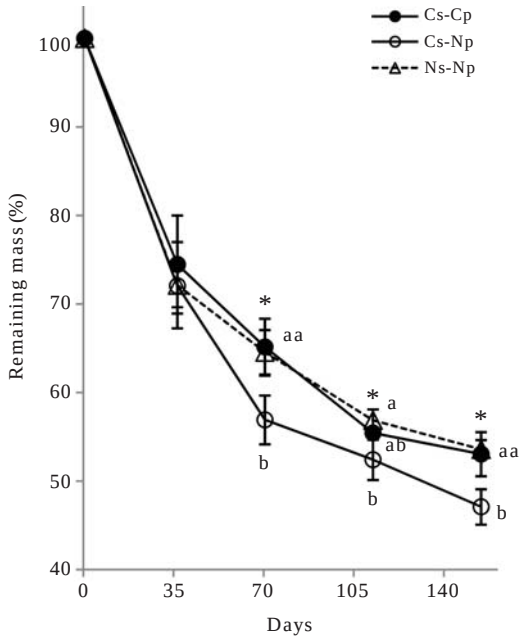

Fig. 2. Changes in remaining mass of litter with different soil treatments and litter quality during experimental period in microcosm at 25°C. Bars are standard deviation (n=4). Different lowercase letters indicate a significant difference between treatments (*: $p<0.05$; Tukey HSD). Cs-Cp, control litter on control soil; Cs-Np, high-N litter on control soil; Ns-Np, high-N litter on N-treated soil.

Table 2. Litter quality of *Oryza sativa* shoot samples obtained from two soil treatment (Mean±standard deviation).

Soil	C (%)**	N (%)**	Lignin (%)*	Cellulose (%)	C/N**	Lignin/N**	Cellulose/N**
Control soil	37.11±1.33	1.40±0.12	3.13±0.44	20.38±0.67	26.7±3.1	2.3±0.4	14.6±1.3
N fertilized soil	40.10±0.24	2.04±0.10	2.13±0.44	19.70±0.46	19.7±1.0	1.1±0.2	9.4±0.4

Difference has been tested by *t*-test (n=4). *: $p<0.05$; **: $p<0.01$.

모두 질소 처리구에서 대조구에서보다 통계적으로 유의하게 높은 함량을 나타내었으며, cellulose의 함량은 두 처리구 사이에 차이가 없었으나 lignin 함량은 질소 처리구에서 낮은 값을 나타내었다. 특히 질소 처리구에서 재배된 식물체의 C와 N 함량이 모두 증가하였는데, N의 함량은 대조구보다 약 1.5배 증가하였으나, C/N, lignin/N, cellulose/N의 비율은 대조구에서 높은 값을 나타내었다 (Table 2).

2. 분해 식물체의 건중량 변화

Microcosm을 이용한 분해실험에서 Cs-Np 처리구의 분해가 다른 두 microcosm, Cs-Cp와 Ns-Np 처리구에서 보다 빠르게 진행되었다(Fig. 2). 154일간의 분해가 진행되는 동안 Cs-Cp와 Cs-Np, Ns-Np에서 분해 식물의 잔존량은 각각 초기 건중량의 53.0%, 47.1%, 53.6%를 나타내었다.

낙엽분해 초기 35일까지는 모든 처리구에서 분해율의 유의한 차이를 나타내지 않았으나 70일 이후부터는 Cs-Np의 분해가 다른 두 처리구에 비하여 뚜렷이 증가하였다. 특히, Cs-Np와 Ns-Np는 식물체의 화학적 조성이 동일함에도 불구하고 토양의 질소 시비에 의하여 분해가 억제되는 결과를 나타내었다.

Cs-Np에서의 분해가 Cs-Cp에서보다 빠르게 진행된 것은 식물체의 화학적 조성의 차이에 따라 분해율의 차이가 발생된 것이며(Table 2), Cs-Np에서 Ns-Np보다 분해가 빠르게 나타난 것은 질적으로 동일한 낙엽일지라도 토양의 질소 처리에 의해 분해율이 변화했음을 의미하는 결과이다.

3. 질소 처리에 의한 토양 미생물량과 효소활성의 변화

분해실험을 위해 microcosm 내에 사용한 두 가지 형태의 토양, 즉 대조구 토양과 질소가 시비된 토양에서의 microbial biomass C, microbial biomass N, 그리고 dehydrogenase와 urease 효소 활성은 Table 3과 같다.

질소 처리구 토양에서 microbial biomass C는 대조구 토양에서보다 현저히 작은 값을 보였으나, microbial biomass N은 질소 처리구에서 현저히 큰 값을 보였다. Microbial biomass C는 질소 처리구 토양에서 189.4 mg C g^{-1}, 대조구 토양에서 317.6 mg C g^{-1}로 질소 처리로 인하여 1.7배 감소하였고, microbial biomass N은 질소 처리구 토양에서 53.0 μg ninhydrin g^{-1}, 대조구 토양에서 24.7 μg

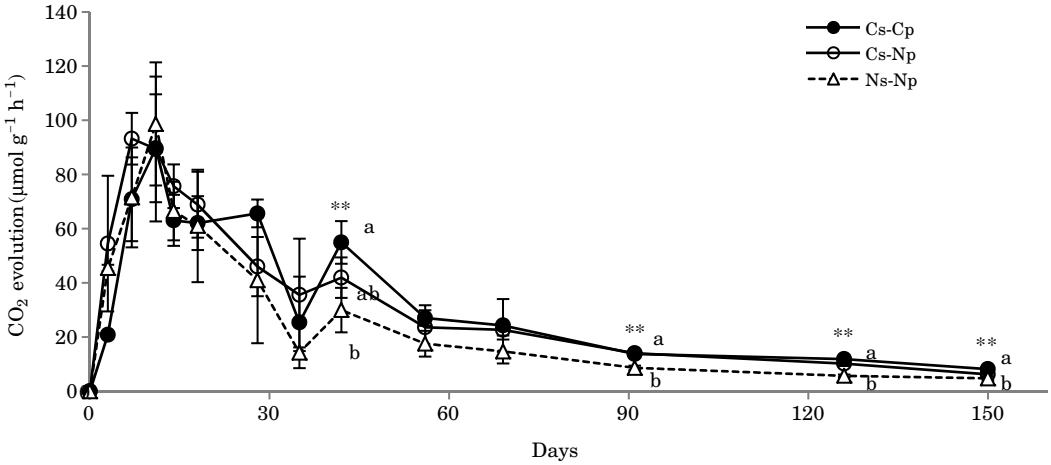

Fig. 3. Changes in CO_2 evolution from decaying litter in microcosm. Different lowercase letters indicate a significant difference between treatments (*: $p<0.05$, **: $p<0.01$; Tukey HSD).

Table 3. Microbial biomass and enzyme activities of soil at each experimental microcosm (Mean ± standard deviation).

Soil	Microbial biomass C** (mg C g^{-1})	Microbial biomass N* (μg ninhydrin g^{-1})	Dehydrogenase (μg INTF g^{-1} h^{-1})	Urease** (μg NH_4-N g^{-1} h^{-1})
Control soil	317.6±29.5	24.7±7.9	11.9±1.8	37.8±4.9
N fertilized soil	189.4±29.5	53.0±7.6	12.6±1.3	165.1±14.8

Difference has been tested by *t*-test (n=4). *: $p<0.05$; **: $p<0.01$.

ninhydrin g^{-1}로 질소 시비에 의해 2.1배 증가하였다.

또한, 대조구 토양과 질소 처리구 토양에서 dehydrogenase의 활성은 유의한 차이를 보이지 않은 반면 urease 활성은 질소 처리구 토양에서 165.1 μg NH_4-N g^{-1} h^{-1}, 대조구 토양에서 37.8 μg NH_4-N g^{-1} h^{-1}을 보여 질소 처리로 인하여 4.4배 증가된 결과를 나타내었다(Table 3).

4. 분해 식물체의 microbial biomass C와 microbial biomass N의 변화

분해 중인 식물체에서의 microbial biomass C와 microbial biomass N의 변화는 Fig. 4와 같다. Microbial biomass C와 microbial biomass N 모두 분해 초기에 증가하다 후기에 감소하는 경향을 보였다. 토양에 질소를 처리한 Ns-Np의 경우 대조구와는 다르게 실험 시작 35일 후에 가장 높은 microbial biomass C를 보였으나 이후 급격히 감소하였다. 대조구 토양에서 낙엽의 화학적 조성이 다른 두 처리구 Cs-Cp와 Cs-Np에서는 모두 실험 70일 후에 최고치의 microbial biomass C를 나타내었고 이후 서서히 감소하였다.

Microbial biomass N의 경우 세 처리구 모두 큰 차이를 나타내지 않았다. 그러나 Cs-Cp에서 다른 두 처리구

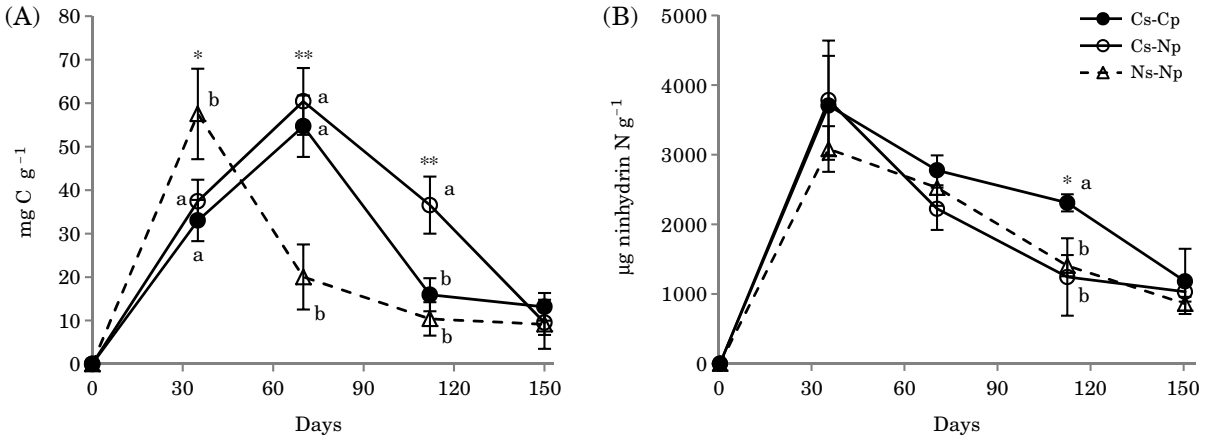

Fig. 4. Changes in microbial biomass C and N in decomposing litter. (A) microbial biomass C; (B) microbial biomass N. Bars are standard deviation. Different lowercase letters indicate a significant difference between treatments (*: $p<0.05$, **: $p<0.01$; Tukey HSD).

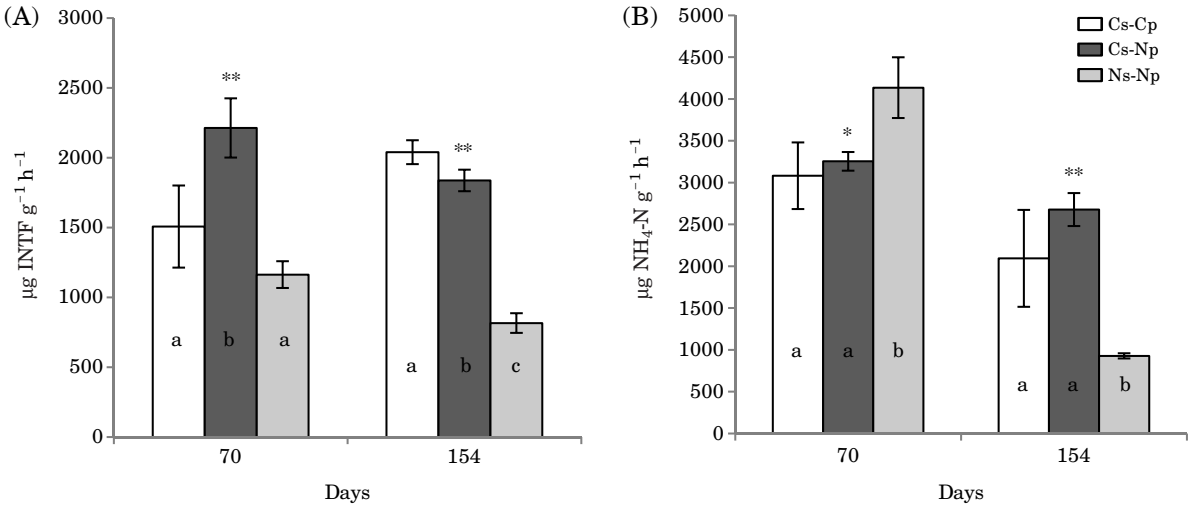

Fig. 5. Enzyme activities in decomposing litter on the two sampling dates, the 70 and 154 days after experiment start. (A) Dehydrogenase activity; (B) Urease activity. Bars are standard deviation. Different lowercase letters indicate a significant difference between treatments (*: $p<0.05$, **: $p<0.01$; Tukey HSD).

Cs-Np, Ns-Np보다 큰 값을 보였으나 112일에 측정된 값을 제외하고 통계적으로 유의한 차이를 보이지 않았다.

5. 분해 식물체의 미생물 호흡과 효소활성

Microcosm에서 낙엽이 분해되는 동안 미생물의 활동에 의하여 발생되는 CO_2 양은 분해 초기에 급격히 증가하여 10일 전후에 최고에 달하고 이후 점차 감소하여 100일 후부터는 안정화되는 경향을 보였다(Fig. 3). 각 처리구의 호흡량은 초기에는 큰 차이를 나타내지 않았으나 30일 이후부터 Ns-Np의 호흡량이 다른 처리구에 비해 통계적으로 유의하게 낮게 나타났다.

Dehydrogenase의 활성은 Ns-Np에서 가장 낮은 값을 보였다. Cs-Cp에서는 실험 70일 후보다 154일 후에 측정된 값이 더 높았으나 그와는 달리 Cs-Np에서는 실험 154일 후의 결과보다 70일 후에 측정된 값에서 더 높은 활성을 나타내었다(Fig. 5(A)).

Urease의 활성은 Cs-Cp, Cs-Np 두 처리구에서 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 70일 후보다 154일 후에 측정된 결과에서 감소하는 경향을 보였다. 이러한 urease활성의 감소 경향은 Ns-Np에서 가장 현저하게 나타났다. 70일 후에는 4135 μg NH_4-N g^{-1} h^{-1}으로 가장 높은 활성을 보이다 150일 이후에는 928 μg NH_4-N g^{-1} h^{-1}으로 가장 낮은 활성을 나타내어 실험 초기와 큰 차이를 나타내었다(Fig. 5(B)).

Dehydrogenase와 urease의 활성은 낙엽의 화학적 조성의 차이 때문이 아니라 토양의 질소 시비에 의해 효소활성의 변화가 발생한 것으로 통계적으로 유의한 차이를 나타내었다.

고 찰

1. 식물의 성장 및 식물체의 화학적 조성에 미치는 질소 증가의 영향

대부분의 육상 생태계에서 질소는 식물의 성장을 제한하는 주된 양분으로 알려져 있으며(Vitousek and Howarth, 1991; LeBauer and Treseder, 2008), 식물의 성장과 생산을 증가시키기 위해 넓게 이용된다(Frink *et al.*, 1999). 본 실험에서도 식물의 성장은 대조구 토양에서보다 질소를 시비한 토양에서 증가하였으며, 특히 지상부에서 높은 증가를 보였다(Fig. 1). 질소 시비에 의한 식물 성장의 증가는 토양 내 질소의 유효도 증가에 의해 식물의 광합성률, 엽록소, 그리고 잎 면적 등의 증가에 기인한다(Cooke *et al.*, 2005). 또한, 질소 시비 외에도 질소 강하물 등을 포함한 외부로부터의 질소 유입으로 증가된 토양 내 질소는 일반적으로 산림생태계 내에서 식물의 성장에 긍정적인 영향을 미친다(Matson *et al.*, 2002; LeBauer and Treseder, 2008).

그러나 본 실험 결과 질소의 시비로 인하여 C, N, lignin, cellulose와 C/N, Cellulose/N, lignin/N 과 같은 식물체의 화학적인 조성은 큰 영향을 받았다(Table 2). 특히, 식물체의 N 함량은 증가한 반면 lignin 함량이 감소하는 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 Norby(1998), Hobbie(2000), 그리고 Lee and Lee(2000)의 결과와 일치하며, 따라서 N 함량의 증가로 인하여 C/N, lignin/N, Cellulose/N의 비율은 감소된다. 그러나 cellulose 함량의 변화는 토양의 질소 시비에 의해 통계적으로 유의한 차이를 나타내지 않았는데, 일부 연구에서는 질소 시비에 의하여 식물체의 cellulose 함량이 증가되거나(Lemus *et al.*, 2008) 또는 감소되는 경향을 각각 나타내고 있다(Lee and Lee, 2000). 이러한 식물체의 화학적 조성의 차이는 분해의 과정을 조절하는 가장 중요한 요인 중의 하나이며(Swift *et al.*, 1979), 분해율과 높은 상관관계를 나타낸다고(Melillo *et al.*, 1982; Aerts and Caluwe, 1997) 알려져 있어 질소의 시비에 의해 변화된 식물체의 화학적 조성은 이후 식물의 분해 과정에서 변화를 나타낼 것이다.

2. 분해에 미치는 식물체의 화학적 조성의 변화

낙엽의 분해는 분해가 일어나는 물리적 환경과 낙엽의 화학적 조성에 영향을 받는다(Heal *et al.*, 1997; Sariyildiz and Anderson, 2003). 일반적으로 기후 요소들은 큰 규모에서 낙엽의 분해율을 조절하며, 작은 규모에서는 낙엽의 화학적 조성의 차이가 분해율을 결정하는 중요한 요인이 된다(Berg *et al.*, 1993; Heal *et al.*, 1997).

본 실험 결과 토양에 질소 시비는 식물체의 화학적 조성에 큰 변화를 가져왔다(Table 2). 특히 C, N, lignin의 함량이 증가하였으며, N 함량에 대한 C함량의 비율(C/N) 뿐만 아니라 lignin/N 및 cellulose/N 함량이 낮아졌다. 이러한 식물체의 화학적 조성의 변화는 식물체의 분해율과 유의한 상관을 각각 나타내었다(Fig. 6). 식물체의 높은 lignin 함량과 lignin/N 비는 분해와 음의 상관관계를 나타내며, 이러한 결과는 lignin 함량이 분해를 저해하기 때문이다(Melillo *et al.*, 1982). 특히, 식물체의 N 함량과 C/N 비율은 낙엽 분해율을 결정하는 가장 중요한 요인으로서(Melillo *et al.*, 1982; Taylor *et al.*, 1989) 높은 N 함량은 낙엽의 분해속도 증가와 매우 높은 양의 상관을 나타내

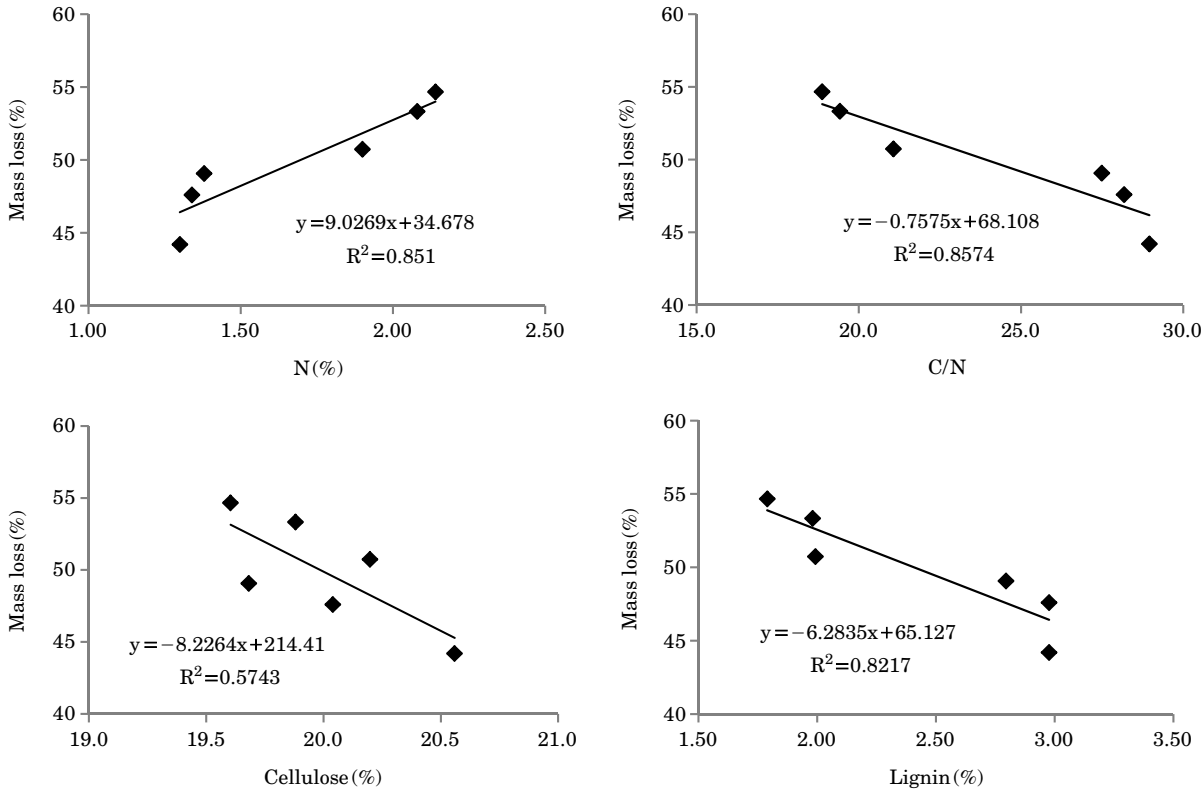

Fig. 6. Relationships between each litter quality parameters and mass loss during the 154 days decomposition experiments period in microcosm at 25°C (n=6).

므로 넓은 범위의 환경에서 분해율의 유용한 예측변수로도 사용된다(Melillo *et al.*, 1982; Hobbie, 2005).

3. 미생물 활성과 식물체 분해에 질소의 증가가 미치는 영향

분해는 주로 미생물 활성, 온도 및 강우와 같은 환경적인 요인, 그리고 낙엽의 화학적 조성 등에 의해서 결정되지만(Berg *et al.*, 1993; Aerts and Caluwe, 1997), 토양의 물리-화학적인 조건 또한 낙엽의 분해율에 영향을 미친다(Gijsman *et al.*, 1997; Seneviratne *et al.*, 1999).

본 실험에서 식물체의 화학적 조성 즉, 낙엽의 질적 차이에 의해 낙엽 분해율은 6.0% 증가되었으나(Cs-Cp와 Cs-Np), 화학적 성분이 동일한 식물체 분해에서는 질소가 시비된 토양에서 분해율이 6.5% 감소하여(Cs-Np와 Ns-Np) 질소 시비는 분해를 억제하는 결과를 나타내었다(Fig. 2). 이러한 질소 시비에 의한 분해율의 저해는 여러 연구들에서 확인되고 있으며(Magill and Alber, 1998; Carreiro *et al.*, 2000; Ågren *et al.*, 2001; Micks *et al.*, 2004), Berg and Matzner (1997)는 질소의 시비가 분해과정을 변화시키고, 이러한 변화가 초기에 분해율을 증가시키는 반면 lignin이 주로 분해되는 분해 후기에는 분해율을 억제한다는 결과를 보고하였으며, 장기간에 걸친 질소 시비의 경우에서도 분해에 부정적인 영향을 미친다고 하였다(Fog, 1988).

또한, 이러한 토양 내 질소의 증가로 인한 분해율의 저해는 분해 미생물량과 활성의 감소에 의한 것으로서(Sinsabaugh *et al.*, 2002) 특히, NH_4NO_3 형태의 질소 첨가는 미생물 호흡과 활성을 저해시키는 것으로 보고되었다(Magill and Aber, 1998; Fog, 1999).

본 연구에서는 질소 시비에 의해 토양과 분해 중인 식물체에서 microbial biomass C는 감소하였다(Table 3 & Fig. 4). 이러한 결과는 여러 연구들의 결과와 일치하며(Garcia and Rice, 1994; Lovell *et al.*, 1995; Lee and Jose, 2003), 또한 분해 중 낙엽으로부터 발생하는 미생물의 호흡량(CO_2 발생량)도 질소의 시비에 의해 감소하였다. 이러한 결과는 미생물량의 감소에 기인하는 것으로 판단되며, 질소 시비에 의한 토양호흡의 감소는 다른 연구들과도 일치하는 결과이다(Lee and Jose, 2003; Treseder, 2008). 그러나 토양의 microbial biomass N은 microbial

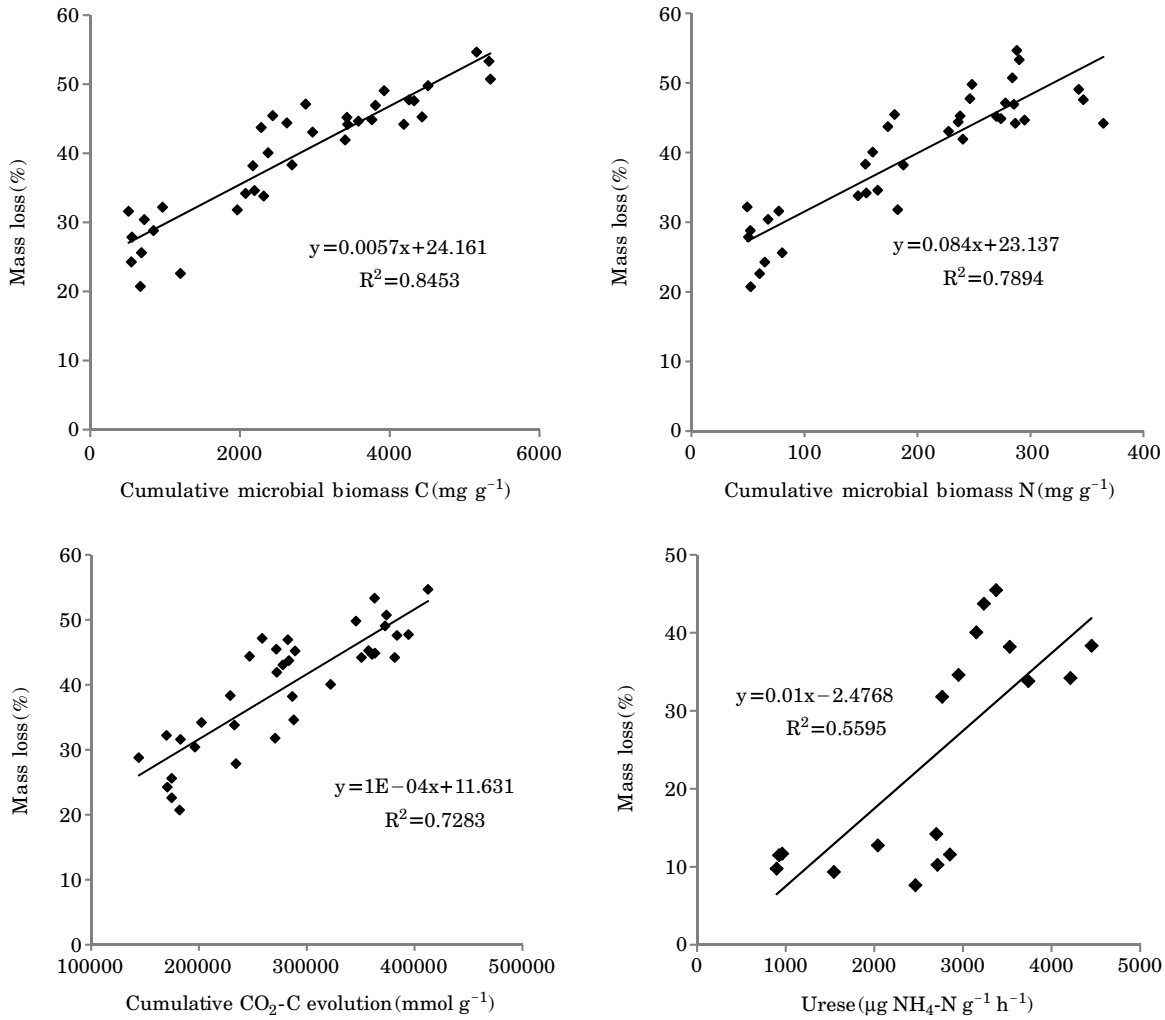

Fig. 7. Relationship between litter mass loss and each biological activities at all measurement dates during the 154 days experiments period in microcosm at 25°C (n=36).

biomass C와는 다르게 질소 시비에 의해 증가하였으며 (Hart and Stark, 1997; Allen and Schlesinger, 2004), 이러한 토양의 microbial biomass N의 증가는 토양미생물의 일시적인 질소의 부동화로 미생물 내 질소 함량의 증가가 그 원인으로 판단된다(Fisk and Schmidt, 1996). 하지만 식물체에서 측정된 microbial biomass N은 토양 내 질소의 증가에 의하여 유의한 증가나 감소를 나타내지 않았으나, microbial biomass C와 microbial biomass N을 포함한 미생물량과 미생물 호흡은 분해율과 뚜렷한 양의 상관관계를 나타내고 있다(Fig. 7). 결국 식물체의 분해는 분해되는 식물체 내의 미생물량과 미생물 호흡을 포함한 다양한 분해생물의 작용에 의하여 일어나는 종합적 과정인 것이다.

Treseder (2008)는 메타분석을 통하여 질소 시비에 의해 평균 15% 정도의 미생물량이 감소함을 확인하였다. 이러한 미생물량의 감소는 질소의 시비로 인하여 lignin과의 복합체를 형성함으로써 난분해성 및 독성 물질이 생산되어 미생물 성장 및 활성이 저해되며(Garcia and Rice, 1994; Lovell *et al.*, 1995), lignin과 cellulose 분해효소의 생산이 질소 시비에 의해 직접적으로 억제되기 때문이라고 하였다(Carreiro *et al.*, 2000).

본 실험에서 토양의 질소 시비에 의해 토양 microbial biomass C는 감소하였으며 분해 식물체에서 초기에 일시적으로 microbial biomass C의 증가를 가져오나 이후 다른 처리구에서보다 현저한 감소를 보였다. 이와 같은 미생물량의 감소는 분해 낙엽에서 dehydrogenase의 활성을 감소시키는 결과를 보였다(Ajwa *et al.*, 1999; Weon *et al.*, 2004). 이러한 dehydrogenase 활성의 감소는 dehydro-

genase가 세포내효소로서 주로 미생물 호흡 과정에 관여하며 (Frankenberger and Dick, 1983), microbial biomass C와 매우 높은 상관관계를 나타내기 때문이다 (Dick *et al.*, 1998; Ajwa *et al.*, 1999). 또한, 질소 시비에 의해 생성된 NO_3^-가 선택적 전자수용체로서의 역할을 함으로 인해 활성이 낮아진다고 알려져 있다 (Goyal *et al.*, 1992).

그러나 질소 시비 후 30일 경과 시 토양의 microbial biomass N과 urease활성은 증가되었으며 (Saiya-Cork *et al.*, 2002; Song *et al.*, 2013), 분해 중인 낙엽에서의 microbial biomass N은 전 실험 기간을 통하여 다른 처리구와 유의한 차이를 나타내지 않았으나 초기 분해 기간인 70일 경과에서는 urease 활성이 급격히 증가하다가 154일 경과 시에는 현저히 감소되는 경향을 보였다 (Ajwa *et al.*, 1999; Kang and Lee, 2005). 이러한 urease 활성의 감소는 분해의 진행에 따라 urease의 활성이 미생물에 동화된 NH_4^+와 NO_3^-의 최종산물이나 부산물에 의해 억제되거나 (McCarty *et al.*, 1992), NH_4NO_3형태의 질소 시비에 의해 억제된다는 Ajwa *et al.* (1999)의 연구가 잘 설명해 주고 있다고 판단된다.

적 요

본 연구는 질소 시비에 의해 증가된 토양 질소가 식물의 성장 및 식물체의 화학적 조성에 미치는 영향과 이로 인한 분해에서의 변화를 확인하고자 야외성장실험과 분해실험을 진행하였다. 온실에서 질소 시비구와 비시구 토양에 각각 벼를 재배하였으며 식물이 성숙한 뒤 수확하여 C, N, lignin, cellulose 함량을 측정하였다. 대조구와 질소 처리구 토양에서 재배된 식물의 개체 당 평균 건중량은 각각 0.70 g, 1.32 g로 질소 시비에 의해 1.9배 증가하였다. 식물체의 N 및 C 함량은 질소 시비에 의해 증가하였고 lignin, C/N, lignin/N, cellulose/N은 감소하였다. 이후, 수확된 식물의 지상부는 microcosm 분해실험에 이용되었으며, 분해 식물체에서 건중량의 변화, microbial biomass C와 microbial biomass N, 그리고 dehydrogenase와 urease 활성을 측정하고, 분해과정 중 발생하는 CO_2의 양을 정량하였다. 대조구 토양에서 분해시킨 대조구 식물체와 질소 처리구 식물체, 그리고 질소를 처리한 토양에서 분해시킨 질소 처리구 식물체의 잔존량은 각각 초기 건중량의 53.0%, 47.1%, 53.6%를 나타내었다. 질소 시비는 식물체에서 N 함량을 높이고 C/N 및 lignin/N을 낮추어 식물체의 분해를 촉진하였으나, 분해 과정에서의 토양 질소 처리는 분해를 억제하였다. 질소 시비에 의해 토양에서 microbial biomass C와 dehydrogenase 활성은 감소하였고, 반면에 microbial biomass N과 urease 활성은 증가하였다. 분해 중 발생한 CO_2의 양은 30일 이후부터 질소 시비에 의해 감소하였다. 분해 식물체에서 측정된 microbial biomass C는 질소 처리에 의해 초기에 증가하였으나 이후 저해되는 양상을 나타냈으며 microbial biomass N은 유의한 차이를 보이지 않았다. 질소 시비에 의해 분해 식물체에서 dehydrogenase 활성은 저해되었으며 urease는 분해 초기에 가장 높은 활성을 보였으나 분해 후기에 현저한 감소를 나타냈다. 본 실험에서 질소 시비는 식물의 성장을 증가시키고 식물체의 N 함량을 높여 화학적 조성의 변화를 일으키며 분해율을 증가시키나 분해 단계에서 질소의 시비는 미생물의 활성을 억제시켜 분해를 저해하는 결과를 나타내었다.

인 용 문 헌

Aerts, R. and H. De Caluwe. 1997. Nutritional and plant-mediated controls on leaf litter decomposition of *Carex* species. *Ecology* **78**(1): 244-260.

Ågren, G.K., E. Bosatta and A.H. Magill. 2001. Combining theory and experiment to understand effects of inorganic nitrogen on litter decomposition. *Oecologia* **128**: 94-98.

Ajwa, H.A., C.J. Dell and C.W. Rice. 1999. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization. *Soil Biology and Biochemistry* **31**(5): 769-777.

Allen, A.S. and W.H. Schlesinger. 2004. Nutrient limitations to soil microbial biomass and activity in loblolly pine forests. *Soil Biology and Biochemistry* **36**(4): 581-589.

Bakker, J.P. and F. Berendse. 1999. Constraints in the restoration of ecological diversity in grassland and heathland communities. *Trends in Ecology & Evolution* **14**(2): 63-68.

Berg, B. and E. Matzner. 1997. Effect of N deposition on decomposition of plant litter and soil organic matter in forest systems. *Environmental Review* **5**: 1-25.

Berg, B., M. Berg, P. Bottner, E. Box, A. Breymeyer, R.C. de Anta, M.M. Couteaux, A. Gallardo, A. Escudero, W. Kartz, M. Madeira, E. Malkonen, C. McClaugherty, V. Meentemeyer, F. Munoz, P. Piussi, J. Remacle and A.V. de Santo. 1993. Litter mass loss rates in pine forests of Europe and Eastern United States: some relationships with climate and litter quality. *Biogeochemistry* **20**: 127-159.

Carreiro, M., R. Sinsabaugh, D. Repert and D. Parkhurst.

2000. Microbial enzyme shifts explain litter decay responses to simulated nitrogen deposition. *Ecology* **81**: 2359-2365.

Cooke, J.E., T.A. Martin and J.M. Davis. 2005. Short-term physiological and developmental responses to nitrogen availability in hybrid poplar. *New Phytologist* **167**(1): 41-52.

Dick, R.P., D.D. Myrold and E.A. Kerle. 1988. Microbial biomass and soil enzyme activities in compacted and rehabilitated skid trail soils. *Soil Science Society of America Journal* **52**(2): 512-516.

Fisk, M.C. and S.K. Schmidt. 1996. Microbial responses to nitrogen additions in alpine tundra soil. *Soil Biology and Biochemistry* **28**(6): 751-755.

Fog, K. 1988. The effect of added nitrogen on the rate of decomposition of organic matter. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* **63**(3): 433-462.

Frankenberger, W.T. and W.A. Dick. 1983. Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. *Soil Science Society of America Journal* **47**(5): 945-951.

Frink, C.R., P.E. Waggoner and J.H. Ausubel. 1999. Nitrogen fertilizer: retrospect and prospect. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **96**(4): 1175-1180.

Galloway, J.N., F.J. Dentener, D.G. Capone, E.W. Boyer, R.W. Howarth, S.P. Seitzinger, G.P. Asner, C.C. Cleveland, P.A. Green, E.A. Holland, D.M. Karl, A.F. Michaels, J.H. Porter, A.R. Townsend and C.J. Vörösmarty. 2004. Nitrogen cycles: past, present, and future. *Biogeochemistry* **70**(2): 153-226.

Garcia, F.O. and C.W. Rice. 1994. Microbial biomass dynamics in tallgrass prairie. *Soil Science Society of America Journal* **58**(3): 816-823.

Gijsman, A.J., H.F. Alarcón and R.J. Thomas. 1997. Root decomposition in tropical grasses and legumes, as affected by soil texture and season. *Soil Biology and Biochemistry* **29**(9): 1443-1450.

Glatzel, G. 1990. The nitrogen status of Austrian forest ecosystems as influenced by atmospheric deposition, biomass harvesting and lateral organomass exchange. *Plant and Soil* **128**(1): 67-74.

Goyal, S., M.M. Mishra, I.S. Hooda and R. Singh, 1992. Organic matter-microbial biomass relationships in field experiments under tropical conditions: Effects of inorganic fertilization and organic amendments. *Soil Biology and Biochemistry* **24**(11): 1081-1084.

Hart, S.C. and J.M. Stark. 1997. Nitrogen limitation of the microbial biomass in an old-growth forest soil. *Ecoscience* **4**(1): 91-98.

Heal, O.W., J.M. Anderson and M.J. Swift. 1997. Plant litter quality and decomposition: an historical overview, p. 3-30. *In*: Driven by nature-plant litter quality and decomposition (Cadisch, G. and K.E. Giller, eds.). CAB International, Wallingford.

Hobbie, S.E. 2000. Interactions between litter lignin and soil nitrogen availability during leaf litter decomposition in a Hawaiian montane forest. *Ecosystems* **3**(5): 484-494.

Hobbie, S.E. 2005. Contrasting effects of substrate and fertilizer nitrogen on the early stages of litter decomposition. *Ecosystems* **8**(6): 644-656.

Hobbie, S.E. and P.M. Vitousek. 2000. Nutrient limitation of decomposition in Hawaiian forests. *Ecology* **81**(7): 1867-1877.

Joergensen, R.G. and P.C. Brookes. 1990. Ninhydrin-reaction measurements of microbial biomass in 0.5 M K_2SO_4 soil extracts. *Soil biology and Biochemistry* **22**(8): 1023-1027.

Kandeler, E. and H. Gerber. 1988. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biology and Fertility of Soils* **6**(1): 68-72.

Kang, H. and D. Lee. 2005. Inhibition of extracellular enzyme activities in a forest soil by additions of inorganic nitrogen. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **36**(15-16): 2129-2135.

Kim, J.H. 2006. Atmospheric acid deposition : Nitrogen saturation of forests. *Journal of Ecology and Field Biology* **29**(3): 305-321.

LeBauer, D.S. and K.K Treseder. 2008. Nitrogen limitation of net primary productivity in terrestrial ecosystems is globally distributed. *Ecology* **89**: 371-379.

Lee, H.S. and I.D. Lee. 2000. Effect of N fertilizer levels on the dry matter yield, quality and botanical composition in 8-species mixtures. *Korean Journal of Animal Science* **42**: 727-734.

Lee, K.H. and S. Jose. 2003. Soil respiration, fine root production, and microbial biomass in cottonwood and loblolly pine plantations along a nitrogen fertilization gradient. *Forest Ecology and Management* **185**(3): 263-273.

Lemus, R., E. Charles Brummer, C. Lee Burras, K.J. Moore, M.F. Barker and N.E. Molstad. 2008. Effects of nitrogen fertilization on biomass yield and quality in large fields of established switchgrass in southern Iowa, USA. *Biomass and Bioenergy* **32**(12): 1187-1194.

Lovell, R.D., S.C. Jarvis and R.D. Bardgett. 1995. Soil microbial biomass and activity in long term grassland: effects of management changes. *Soil Biology and Biochemistry* **27**(7): 969-975.

Magill, A.H. and J.D. Alber. 1998. Long-term effects of experimental nitrogen additions on foliar litter decay and humus formation in forest ecosystems. *Plant and Soil* **203**(2): 301-311.

Manning, P., M. Saunders, R.D. Bardgett, M. Bonkowski, M.A. Bradford, R.J. Ellis, E. Kandeler, S. Marhan and D. Tscherko. 2008. Direct and indirect effects of nitrogen deposition on litter decompositon. *Soil Biology and Biochemistry* **40**(3): 688-698.

Matson, P.A., K.A. Lohse and S.J. Hall. 2002. The globalization of nitrogen deposition: consequences for terrestrial ecosystems. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* **31**(2): 113-119.

McCarty, G.W., D.R. Shogren and J.B. Bremner. 1992. Regulation of urease production in soil by microbial assimilation of nitrogen. *Biology and Fertility of Soils* **12**: 261-264.

Melillo, J.M., J.D. Aber and J.F. Muratore. 1982. Nitrogen and lignin control of hardwood leaf litter decomposition dynamics. *Ecology* **63**(3): 621-626.

Mersi Von, W. and F. Schinner. 1991. An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with iodonitrotetrazolium chloride. *Biology and Fertility of Soils* **11**(3): 216-220.

Mick, P., M.R. Down, A.H. Magill, K.J. Nadelhoffer and J.D. Alber. 2004. Decomposition litter as a sink for 15N-enriched addition to an oak forest and a red pine plantation. *Forest Ecology and Management* **196**(1): 71-87.

Norby, R.J. 1998. Nitrogen deposition: a component of global change analyses. *New Phytologist* **139**(1): 189-200.

Prescott, C.E. 1996. Influence forest floor type on rates of litter decomposition in microcosms. *Soil Biology and Biochemistry* **28**(10): 1319-1325.

Ross, D.J. and G.P. Sparling. 1993. Comparison of methods to estimate microbial C and N in litter and soil under *Pinus radiata* on a coastal sand. *Soil Biology and Biochemistry* **25**: 1591-1599.

Rowland, A.P. and J.D. Roberts. 1994. Lignin and cellulose fractionation in decomposition studies using acid detergent fibre methods. *Communications in Soil Sciences and Plant Analysis* **25**: 269-277.

Ryou, S.H., J.M. Kim and J.K. Shim. 2009. Studies on the decomposition of leaf litter containing heavy metals in Andong serpentine area, Korea I. Microcosm Experiment. *Korean Journal of Environmental Biology* **27**(4): 353-362.

Ryou, S.H., J.M. Kim, S.S. Cha and J.K. Shim. 2010. Decomposition of leaf litter containing heavy metals in the Andong serpentine area, Korea. *Korean Journal of Environment and Ecology* **24**(4): 426-435.

Saiya-Cork, K.R., R.L. Sinsabaugh and D.R. Zak. 2002. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry* **34**: 1309-1315.

Sariyildiz, T. and J.M. Anderson. 2003. Interactions between litter quality, decomposition and soil fertility: a laboratory study. *Soil Biology and Biochemistry* **35**: 391-399.

Seneviratne, G., L.H.J. Van Holm, L.J.A. Balachandra and S.A. Kulasooriya. 1999. Differential effects of soil properties on leaf nitrogen release. *Biology and fertility of Soils* **28**(3): 238-243.

Shim, J.K., J.H. Shin and K.C. Yang. 2011. The effects estimation of heavy metals on the microbial activity during leaf litter decomposition. *Korean Journal of Environment and Ecology* **25**(6): 887-892.

Shin, J.H., S.K. Choi, M.H. Yeon, J.M. Kim and J.K. Shim. 2006. Early stage decomposition of emergent macrophytes. *Journal of Ecology and Field Biology* **29**(6): 565-572.

Sinsabaugh, R.L., M.M. Carreiro and D.A. Repert. 2002. Allocation of extracellular enzymatic activity in relation to litter composition, N deposition, and mass loss. *Biogeochemistry* **60**(1): 1-24.

Song, Y., C. Song, Y. Li, C. Hou, G. Yang and X. Zhu. 2013. Short-term effects of nitrogen addition and vegetation removal on soil chemical and biological properties in a freshwater marsh in Sanjiang Plain. Northeast China. *Catena* **104**: 265-271.

Spiecker, H. 1999. Overview of recent growth trends in European forests. *Water, Air, and Soil Pollution* **116**: 33-46.

Stevens, C.J., N.B. Dise, J.O. Mountford and D.J. Gowing. 2004. Impact of nitrogen deposition on the species richness of grassland. *Science* **303**: 1876-1879.

Swift, M.J., O.W. Heal and J.M. Anderson. 1979. Decomposition in terrestrial ecosystems. Blackwell, Oxford.

Taylor, B.R., D. Parkinson and W.F. Parsons. 1989. Nitrogen and lignin content as predictors of litter decay rates: a microcosm test. *Ecology* **70**(1): 97-104.

Treseder, K.K. 2008. Nitrogen additions and microbial biomass: A meta-analysis of ecosystem studies. *Ecology Letters* **11**(10): 1111-1120.

Vance, E.D., P.C. Brookes and D.S. Jenkinson. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry* **19**(6): 703-707.

Vestgarden, L.S. 2001. Carbon and nitrogen turnover in the early stage of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) needle litter decomposition: effects of internal and external nitrogen. *Soil Biology and Biochemistry* **33**(4): 465-474.

Vitousek, P.M. and R.W. Howarth. 1991. Nitrogen limita-

tion on land and in the sea: How can it occur?. *Biogeochemistry* **13**: 87-115.

Vitousek, P.M. 1998. Foliar and litter nutrients, nutrient resorption, and decomposition in Hawaiian *Metrosideros polymorpha*. *Ecosystems* **1**(4): 401-407.

Vitousek, P.M., J.D. Aber, R.H. Howarth, G.E. Likens, P.A. Matson, D.W. Schindler, W.H. Schlesinger and D.G. Tilman. 1997. Human alteration of the global nitrogen cycle: source and consequences. *Ecological applications* **7**(3): 737-750.

Weon, H.Y., J.S. Kwon, Y.K. Shin, S.H. Kim, J.S. Suh and W.Y. Choi. 2004. Effects of composted pig manure application on enzyme activities and microbial biomass of soil under Chinese cabbage cultivation. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer* **37**(2): 109-115.

(Manuscript received 5 June 2013,
Revised 12 June 2013
Revision accepted 13 June 2013)