

Research Article



CrossMark

Open Access

일천궁의 연작재배에 따른 토양 이화학적 및 토양세균군집 연구

김기윤¹, 한경민¹, 김현준¹, 전권석¹, 김충우², 정총렬^{1*}

¹산림청 국립산림과학원 산림약용자원연구소, ²충청북도농업기술원 친환경연구과

The Study of Soil Chemical Properties and Soil Bacterial Communities on the Cultivation Systems of *Cnidium officinale* Makino

Kiyoon Kim¹, Kyeong Min Han¹, Hyun-Jun Kim¹, Kwon Seok Jeon¹, Chung Woo Kim², Chung Ryul Jung^{1*}
(¹Forest Medicinal Resources Research Center, National Institute of Forest Science, Korea Forest Service, Yeongju 36040, Korea, ²Environment-Friendly Research Division, Chungcheongbuk-do Agricultural Research and Extension Services, Cheongju 28130, Korea)

Received: 3 January 2020/ Revised: 6 January 2020/ Accepted: 10 January 2020

Copyright © 2020 The Korean Society of Environmental Agriculture

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, provided the original work is properly cited.

ORCID

Kiyoon Kim

<https://orcid.org/0000-0003-1730-8442>

Chung Ryul Jung

<https://orcid.org/0000-0002-8875-7846>

Abstract

BACKGROUND: The aim of this study was to investigate the soil chemical properties and soil bacterial community of the cropping system for *Cnidium officinale* Makino.

METHODS AND RESULTS: The bacterial community was analyzed for the relative abundance and principal coordinated analysis (PCoA analysis) by using by Illumina Miseq sequencing. The correlation analysis between soil chemical properties and soil bacterial community were analyzed by Spearman's rank correlation and DISTLM analysis. Soil bacterial community (phylum and class) showed two distinct clusters consisting of cluster 1 (first cropping) and cluster 2 (continuous cropping) from 2 different cultivation methods of *Cnidium officinale* Makino. PCoA and DISTLM analyses showed that soil pH and Ca significantly affected soil bacterial community in cultivation area of *Cnidium officinale* Makino. In addition, Spearman's rank correlation showed significant correlation between relative abundance (*Acidobacteria* and *Actinobacteria*) and soil factors (soil pH and Ca).

CONCLUSION: The results of this study were considered to be important for determining the correlation between soil properties and soil bacterial community of the cropping method for *Cnidium officinale* Makino. Furthermore, the results will be helpful to investigate the cause of continuous cropping injury of the *Cnidium officinale* Makino by examining the changes of soil properties and soil bacterial communities.

Key words: *Cnidium officinale* Makino, Bacterial community, Illumina Miseq sequencing, First and continuous cropping, Correlation analysis

서론

천궁(川芎, *Cnidii Rhizoma*)은 산형과(Umbelliferae)에 속하는 여러해살이풀로 원산지는 중국이고, 대한민국, 일본 등지에 분포한다. 기원식물에 따라 중국천궁(*Ligusticum chuanxiong* Hort), 일천궁(*Cnidium officinale*), 토천궁(*Ligusticum chuanxiong*)으로 불린다. 분류학적으로 일천궁은 천궁속(*Cnidium*)에 속하고 토천궁은 고본속(*Ligusticum*)에 속한다[1-3]. 일천궁의 학명은 *Cnidium officinale* Makino이고, 토천궁은 중국천궁과 같은 *Ligusticum chuanxiong* Hort로 명명되어 있고, 영문 명칭은 없다.

최근 웰니스(Wellness) 사회의 진입으로 자연에서 채취한

*Corresponding author: Chung Ryul Jung
Phone: +82-54-630-5642; Fax: +82-54-630-5678;
E-mail: crjung92@korea.kr

한약재에 대한 관심과 선호가 높아지고 있다. 국내 대표적인 4대 한약재 중 하나인 천궁은 예로부터 고혈압, 보혈, 진정, 진통의 효과가 뛰어난 것으로 알려져 있다[4]. 최근에는 항산화, 항진균 및 뇌질환 관련 효능에 관한 연구도 보고되고 있다[1, 5-6]. 일천궁은 여름철 햇빛이 너무 강하지 않은 곳에서 잘 자라며 여름철 기온이 30°C 이상으로 상승하면 하고현상이 일어나 잎이 마른다. 따라서 일천궁의 재배적지는 여름철 기온이 급상승하지 않고 오전 또는 오후에 산그늘이 지는 산간고랭지가 적합하다. 일천궁과 토천궁 모두 재배가 가능하지만, 토천궁에 비해 일천궁의 근경이 비대하고 혈관 이완효능이 더 우수하여 대부분 일천궁을 재배하고 있다[2]. 천궁의 재배면적과 수확량을 살펴보면, 1997년도의 재배면적은 789 ha, 생산량은 2,294 M/T (metric ton)이었지만, 2017년도의 재배면적은 185 ha, 생산량은 1,290 M/T으로 현저히 감소하였다(MAFRA, 2017). 이처럼 재배면적과 생산량이 감소한 이유로 첫째, 고온과 가뭄 등의 기후변화에 민감하고 둘째, 연작장애가 심한 작물이기에 지속적으로 재배지를 바꿔줘야 하는 단점이 있기 때문이다[6, 7-8]. 일천궁은 1년 연작만으로도 초작지에 비해 노두수가 60% 가량 감소하며 10a 당 수량은 36% 감소한다[6].

연작장애는 동일토양에 동일작물을 연속적으로 재배하여 재배연수가 늘어남에 따라 여러 가지 원인에 의해 작물의 생산량이 감소하고 품질이 떨어지는 현상을 말한다[9]. 연작장애의 발생원인에 관해 현재까지 발생기작이 확실하게 증명되지 않았지만, 토양물리·화학성의 변화에 따른 양분의 불균형, 토양 pH와 물리성의 악화, 토양미생물상의 변화, 토양병원균의 집적, 독소물질의 잔류 등이 연작장애의 원인으로 알려져 있다[10]. 연작장애는 화학적 요인과 생물적 요인으로 나눌 수 있는데 이들의 관계를 보면, 비료의 남용은 토양 내 양분과잉을 초래하고 토양양분의 불균형과 pH 상승으로 이어져 작물의 흡수장애를 일으킨다. 이러한 토양화학성의 변화는 토양에 서식하는 미생물상에 직접적인 영향을 주게 된다. 이처럼 연작장애의 원인이 단순히 병해충으로 인한 것만이 아닌 복합적인 토양악화가 원인으로 대두되면서 고추[11], 토마토[12], 생강[13], 당근[14] 등의 작물과 인삼[9, 15], 작약[16]과 같은 약용작물에서도 연작피해 원인 및 해결방안을 구명하기 위해 연작재배에 따른 토양 이화학성 및 토양 미생물상 분석에 대한 연구가 진행 중에 있다. 하지만 대표적인 약용작물이면서 연작피해에 민감한 천궁의 연작에 따른 토양 이화학성 및 토양 미생물상에 대한 연구는 매우 미흡한 실정이다. 토양미생물은 작물생육과 생산성에 중요한 역할을 하고, 환경요인과 밀접한 관계가 있기 때문에 토양미생물의 군집을 연구하는 것은 환경요인 중 특히 토양특성과의 상관관계 분석에서 필수적이라고 할 수 있다(Petterson, 2004). 이를 위해서는 먼저 일천궁의 재배법에 따른 토양 이화학성 및 토양미생물군집의 변화에 대한 연구가 필요하다.

본 연구에서는 일천궁의 재배법에 따른 토양 이화학성 및 토양세균군집을 비교분석하기 위해 천궁에서 재배 빈도수가 높은 일천궁의 초작 및 연작 재배지를 선정하여 토양 이화학

성 및 토양세균군집 특성을 분석하고, 토양 이화학성 및 토양세균군집 간의 상관관계를 구명하고자 하였다.

재료 및 방법

토양시료 채취 및 준비

2018년 5월 경상북도 영양군 영양읍의 일천궁 재배지 중에서 일천궁을 처음 재배한 재배지(36°41'03.6"N 129°15'34.2"E)와 2017년부터 재배하고 있는 연작 재배지(36°38'32.3"N 129°10'19.7"E)를 각각 선정하였다. 선정한 두 재배지는 일천궁 표준시비량인 퇴비 2,000 kg/10a를 따르고 있었고 초작지와 연작지의 토양통은 각각 반호와 덕천이었다. 토양시료는 8월에 재배법에 따른 각 일천궁 재배지에서 4개의 구역을 선정하고 표토를 제거한 다음 토심 10~30 cm에서 근권토양 100 g을 채취하였다. 채취한 토양시료는 연구목적에 따라 토양세균분석에 사용할 시료는 -20°C에서 보관하였고, 이화학성 분석에 사용할 시료는 2 mm 체를 이용하여 거른 후 서늘한 곳에서 풍건하였다.

토양화학성 분석

토양시료의 분석은 농촌진흥청에서 제시한 토양화학분석법에 따라 실시하였다(RDA, 2013). 토양 이화학성 분석에서 토양산도(pH)와 전기전도도(electric conductivity, EC)는 풍건토와 증류수를 1:5로 희석한 후 30분 동안 진탕하여 pH meter와 EC meter를 이용하여 각각 측정하였다. 유기물(organic matter, OM)은 0.5 mm 체를 친 토양시료를 사용하였으며 Walkley-Black 법을 이용하였고, 유효인산(available phosphate, Av.P₂O₅)은 Lancaster 침출법에 준하여 1-amino-2-naphthol-4-sulfonic acid에 의한 흡광도법을 이용하였다. 양이온치환용량(cation exchange capacity, CEC)은 1 N ammonium acetate 용액으로 침출 후 토양에 치환된 NH₄⁺를 Kjeldhal 증류법으로 측정하였다. 치환성 양이온(exchangeable cation)은 Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES)를 이용하여 측정하였다.

토양세균군집 분석

재배방법에 따른 일천궁 재배지에서 채취한 토양시료의 total DNA는 Powersoil™ DNA isolation kit (MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 추출하였다. 추출한 total DNA의 16S rRNA 염기서열 증폭(polymerase chain reaction, PCR)은 primer 341F (5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCCTACGGGNGGCWGCAG-3')와 805R (5'-GTCCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTAC HVGGGTATCTAATCC-3')을 사용하여 V3-V4 영역을 대상으로 PCR 증폭을 진행하였다. PCR 조건은 initial denaturation: 95°C, 3 min, denaturation: 95°C, 30 sec (25 cycles), primer annealing: 55°C, 30 sec, extension: 72°C, 30 sec, final elongation: 72°C, 5 min 조건에 따라

수행하였다. 증폭한 염기서열에 대한 분석은 천랩(Chunlab, Seoul, Korea)에서 Illumina Miseq sequencing system의 방법에 따라 수행하였다. Raw sequence 분석은 fasta file을 Mothur pipeline (ver. 1.40) [17]와 'Greengene' reference database를 사용하여 염기서열을 분석하였다[18]. 이후 염기서열은 distance based greedy clustering (DGC) 분석을 이용하여 97% 유사수준의 operational taxonomic units (OTUs)로 군집화하여 토양세균군집의 군집화 (clustering), 상대적 빈도수(relative abundance), 주좌표 분석(principal coordinate analysis, PCoA)을 수행하였다 [19].

통계 및 상관관계 분석

분석된 토양세균군집의 상대적 빈도수와 토양 화학성 데이터는 평균 \pm 표준오차 값으로 나타냈고, 실험 데이터의 통계 처리 및 유의성 검정은 SAS (ver. 9.4, SAS Institute, Inc., Cary, NC, USA)를 이용하여 토양세균군집 cluster 간의 상대적 빈도수와 토양 이화학성을 T-검정을 통해 유의성을 검정하고, 최소유의차(least significant difference, LSD)는 $P < 0.05$ 수준에서 통계처리하였다. 토양 이화학성과 토양세균군집 간의 상관관계(correlation analysis)를 분석하기 위해 DISTLM 분석과 STATISTICA (ver. 7.1, TIBCO Software, Inc., Hillview, CA, USA)를 사용하여 유의성($P < 0.05$)을 확인하였다.

결과 및 고찰

재배년수에 따른 토양 이화학적 특성

재배년수에 따른 토양 이화학성을 비교분석한 결과, 초작 재배지에 비해 연속 재배지의 토양 pH ($P=0.0264$), P_2O_5 ($P=0.0063$), Ca ($P=0.0007$)이 유의적으로 높은 것을 확인하였다(Table 1). [16]은 천궁과 같은 약용작물인 작약 연속재배지의 토양 이화학성을 분석하였는데, 본 연구결과와 마찬가지로 토양 pH, 유효인산, 치환성 칼슘이 유의적으로 증가한

다고 보고하였다. [20] 또한 유기질비료와 가축분 퇴비를 주로 사용하는 시설재배지에서는 연작연수와 토양 유효인산 함량이 고도의 정의 상관관계를 보인다고 하였다. 일반적으로 재배자들은 천궁을 연속재배할 때 토양산성화를 방지하기 위해 밀거름으로 석회질 비료와 무기질 비료를 혼용한다. 석회질 비료는 화학비료의 사용으로 인해 산성화된 토양 pH를 상승시키는 목적으로 사용하지만, 과용하게 되면 오히려 토양 pH를 상승시키는 원인이 되기도 한다. 토양 pH가 7 이상으로 상승하여 알칼리성 토양이 되면 토양 내 유효인산(P_2O_5)이 칼슘(Ca)과 주로 결합하여 인산과 칼슘의 유효도 감소를 초래하는 원인으로 작용하게 된다(RDA, 2013). 또한 토양 내 칼슘이 과잉상태가 되면 알칼리 장애와 토양 내 철(Fe), 망간(Mn), 붕소(B)가 용해되기 어려워 흡수장애가 일어나 작물의 생육을 저해시키기도 한다[21]. 본 연구에서는 일천궁의 초작보다 연속 재배지에서 토양 pH, P_2O_5 , Ca의 함량이 유의적으로 높은 것을 확인하였다. 이러한 결과는 일천궁의 재배형태에 따라 토양 이화학성의 변화로 인해 연작장애가 유발되어 작물생육을 저해시키는 원인으로 작용할 수 있을 것으로 판단된다.

토양세균군집 및 상대적 빈도수

일천궁의 재배법에 따른 토양세균군집의 군집화를 Mothur application을 이용하여 확인한 결과, 토양세균군집이 일천궁의 초작 및 연속재배에 따라 2개의 cluster (cluster 1: 초작 재배지 토양세균군집, cluster 2: 연속 재배지 토양세균군집)로 군집화됨을 확인하였다(Fig. 1). 일천궁 재배지에 따른 토양세균군집의 상대적 빈도수를 확인하였는데, 먼저 초작 재배지의 Phylum 수준에서는 *Proteobacteria*가 35.7%로 우점종으로 나타났고, *Acidobacteria* (14.1%), *Actinobacteria* (11.1%), *Bacteroidetes* (8.7%) 순으로 나타났다. Class 수준에서는 *Alphaproteobacteria* (16.2%)가 우점이었고, *Betaproteobacteria* (8.1%), *Actinobacteria_class* (7.6%), *Gammaproteobacteria* (6.3%) 순으로 나타났다. 연속 재배지에서는 *Proteobacteria* (34.3%)가 우점이었으며, *Actinobacteria*

Table 1. Comparison of soil properties of *C. officinale* cultivation fields

Cultivation types	Soil chemical properties								
	pH	EC ¹⁾	OM ²⁾	Av.P ₂ O ₅ ³⁾	Exchangeable cations				CEC ⁴⁾
					K	Ca	Mg	Na	
(1:5)	dS/m	g/kg	mg/kg	----- cmol ⁺ /kg -----					
FC ¹⁾	6.43±0.21 b	1.30±0.38 a	24.8±0.93 a	589.7±56.0 b	1.66±0.13 a	6.28±0.58 b	2.52±0.45 a	0.07±0.01 a	13.3±1.41 a
CC ²⁾	7.19±0.15 a	0.71±0.09 a	27.9±2.49 a	946.9±66.5 a	1.45±0.06 a	13.1±0.91 a	3.35±0.21 a	0.11±0.03 a	17.5±0.57 a
<i>P</i> value	0.0264*	0.1794	0.2837	0.0063**	0.1905	0.0007***	0.1479	0.1839	0.031*
LSD	0.6377	0.9568	6.5044	212.77	0.3515	2.6294	1.2228	0.0704	3.7199

Each value represents the average of four replicates per treatment \pm S.E. Significant difference according to least significant difference (LSD) at $P \leq 0.05$ levels are indicated by different letter. Significance are demonstrated as: $P \leq 0.05$ (*), $P \leq 0.01$ (**), and $P \leq 0.001$ (***).
¹⁾FC: First cropping, ²⁾CC: Continuous cropping, ³⁾EC: Electric conductivity, ⁴⁾OM: Organic matter, ⁵⁾Av.P₂O₅: Available phosphate, ⁶⁾CEC: Cation exchange capacity.

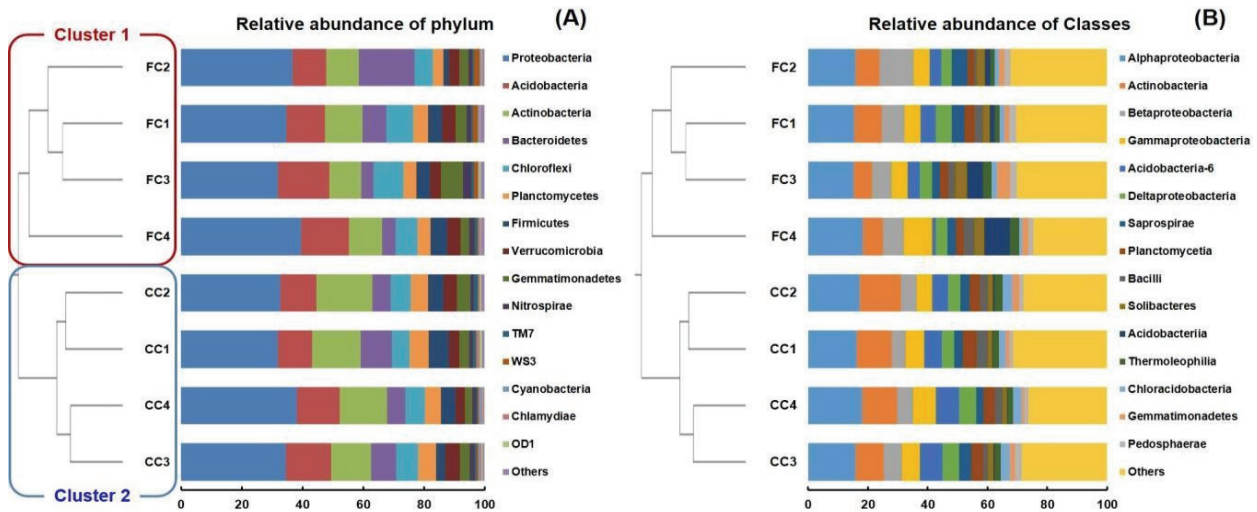


Fig. 1. Clustering and relative abundance of bacterial community in two different methods of *C. officinale* cultivation fields. (A) Phylum, (B) Classes. FC: First cropping, CC: Continuous cropping.

Table 2. Comparison of relative abundance of bacterial Phylum and Classes between two clusters

Bacterial communities	Phylum						
	<i>Proteobacteria</i>	<i>Acidobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Chloroflexi</i>	<i>Plantomycetes</i>	<i>Nitrospirae</i>	<i>Chlamydiae</i>
Cluster 1 (FC)	35.7±1.63 a	14.1±1.38 a	11.1±0.45 b	7.94±0.84 a	4.26±0.34 b	1.72±0.34 a	0.24±0.03 b
Cluster 2 (CC)	34.3±1.41 a	13.1±0.84 a	15.8±1.06 a	6.48±0.29 a	5.80±0.18 a	1.28±0.12 a	0.50±0.10 a
<i>P</i> value	0.5203	0.5415	0.0065**	0.1533	0.0067**	0.2649	0.0456*
LSD	5.22629	3.9582	2.8085	2.1816	0.9273	0.8851	0.2510

Bacterial communities	Classes					
	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Saprosirae</i>	<i>Plantomycetia</i>	<i>Solibacteres</i>	<i>Acidobacteriia</i>
Cluster 1 (FC)	16.2±0.75 a	7.59±0.69 b	3.76±0.65 a	2.62±0.28 b	3.05±0.36 a	4.40±1.64 a
Cluster 2 (CC)	16.8±0.51 a	11.7±0.87 a	3.21±0.38 a	3.90±0.20 a	1.59±0.09 b	0.29±0.09 b
<i>P</i> value	0.5004	0.010**	0.4920	0.0098**	0.0081**	0.0459*
LSD	2.2067	2.7201	1.8465	0.8385	0.9160	4.0075

* Each value represents the average of four replicates per treatment ± S.E. Significant difference according to least significant difference (LSD) at $P \leq 0.05$ levels are indicated by different letter. Significance are demonstrated as: $P \leq 0.05$ (*), $P \leq 0.01$ (**), and $P \leq 0.001$ (***). ¹FC: First cropping, ²CC: Continuous cropping.

(15.8%), *Acidobacteria* (13.1%), *Bacteroidetes* (7.7%) 순으로 초작 재배지와 유사하였다. Class 수준에서도 초작 재배지와 마찬가지로 *Alphaproteobacteria*가 16.8%로 우점종으로 나타났고, *Actinobacteria_class* (11.7%), *Gammaproteobacteria* (6.1%), *Betaproteobacteria* (5.4%) 순으로 상대적 빈도수가 높았다. 일천공의 재배법에 따른 토양세균군집의 상대적 빈도수를 cluster 간 비교 분석하였다. *Actinobacteria* ($P=0.0065$), *Plantomycetes* ($P=0.0067$), *Chlamydiae* ($P=0.0456$), *Actinobacteria_class* ($P=0.01$), *Plantomycetia* ($P=0.0098$)의 상대적 빈도수는 연속 재배지에서 유의적으로 높았고,

Solibacteres ($P=0.0081$)와 *Acidobacteriia* ($P=0.0459$)는 초작 재배지에서 상대적 빈도수가 유의적으로 높은 것으로 나타났다(Table 2). 동일작물을 지속적으로 재배하는 연속재배는 토양에 서식하는 토양미생물의 군집구조를 변화시켜 생물적 및 비생물적 스트레스에 대한 식물의 완충능력을 감소시키고, 질병의 발생률을 증가시킴으로써 식물의 생산성을 감소시키는 원인으로 작용한다[22-24]. 본 연구에서도 일천공은 재배법에 따라 토양세균군집의 구조 및 상대적 빈도수가 유의적으로 차이가 있음을 확인할 수 있었다. [25]은 콩 재배 시 다양한 재배법에 따른 토양미생물의 군집변화를 분석하여 모

든 재배지에서 *Proteobacteria*가 우점종임을 확인하였다. 콩을 연작한 재배지에서는 *Actinobacteria*의 상대적 빈도수가 다른 재배지에 비해 유의적으로 높았고, *Acidobacteria*의 상대적 빈도수는 유의적으로 낮았다고 보고하였다. [25-26]은 딸기를 장기적으로 연작한 재배지의 토양세균 군집구조를 분석하여 딸기의 연작여부에 따라 미생물군집의 유의적인 차이가 있음을 보여주었다. 본 연구결과와 유사하게 *Proteobacteria* (phylum)와 *Alphaproteobacteria* (class)가 우점종으로 나타났으며, genera *Allokutzneria* (class *Actinobacteria*)의 상대적 빈도수가 연작 재배지에서 연작하지 않은 재배지에 비해 유의적으로 높은 것으로 보고하였다[26]. 이러한 선행연구와 본 연구결과를 바탕으로 정리해 보면 동일작물의 연작은 재배지 토양에 서식하는 토양세균군집의 구조에 영향을 주는 것으로 확인되었으며, 일천공의 연작재배 시 토양세균군집 구조의 변화가 일천공의 생장 및 생산성에도 영향을 줄 수 있을 것으로 판단된다.

토양세균군집과 토양 요인과의 상관관계

본 연구결과에서 일천공의 재배법에 따라 재배지의 토양 이화학적 및 토양세균군집이 유의적으로 차이를 보이는 것을 확인하였다(Table 1, 2). 토양 이화학과 같은 환경적인 요인은 토양미생물의 군집과 매우 밀접한 관계가 있기 때문에 토양미생물군집을 분석함에 있어 토양요인과의 상관관계는 필수적이다. 본 연구에서는 초작 및 연작재배에 따라 토양세균군집의 구조가 뚜렷하게 구분됨을 확인하였으며, 이에 따라

주좌표 분석(PCoA analysis)와 DISTLM 분석을 통해 토양 요인 중 어떠한 요인이 토양세균군집에 유의적으로 영향을 주는지를 분석하였다. 먼저 주좌표분석은 Bray-curtis similarity를 이용하여 토양세균군집의 염기서열 간의 유사성을 ordination 한 결과로써 일천공 재배연수에 따른 초작과 연작 재배지의 토양세균 군집화를 나타낸다(Fig. 2). 일천공의 재배법에 따른 토양시료의 토양세균 염기서열은 phylogenetic tree 결과와 같이 주좌표 분석에서도 뚜렷하게 2개의 cluster로 군집화를 이루는 것으로 나타났고, cluster 1 (초작 재배지)에는 *Actinobacteria* 계열과 *Planctomycetes* 계열의 토양세균이 우점하고, cluster 3 (연작 재배지)에서는 *Acidobacteria* 계열이 우점으로 서식하는 것으로 확인하였다. 또한 각 토양 샘플의 이화학적 결과를 입력하여 각 축에 대한 상관계수를 통해 토양 요인을 주좌표 분석에 표시하였다. 각 축의 variation (%)은 토양세균군집의 변화량을 말하며, 각 좌표에 위치한 토양요인은 종 또는 횡좌표로 나뉘지는 토양세균군집과 연관성을 가진다. Fig. 2에서 PC1의 variation (41.6%)이 PC2의 variation (19.9%) 보다 높다는 것은 그래프의 종좌표에 위치한 토양요인보다 횡좌표에 위치한 토양요인이 토양세균군집과 보다 연관이 있다고 할 수 있다. 즉 종좌표에 위치한 토양요인인 토양 pH, Ca, K가 횡좌표에 위치한 Ave. P₂O₅와 Mg보다 더 토양세균의 군집화에 영향을 준다고 판단된다. 이러한 주좌표 분석의 결과를 뒷받침하기 위해 DISTLM 분석을 이용하여 토양세균군집과 토양 이화학적 간의 유의적인 상관관계를 확인하였다. DISTLM 분석을 이용하여 토양세

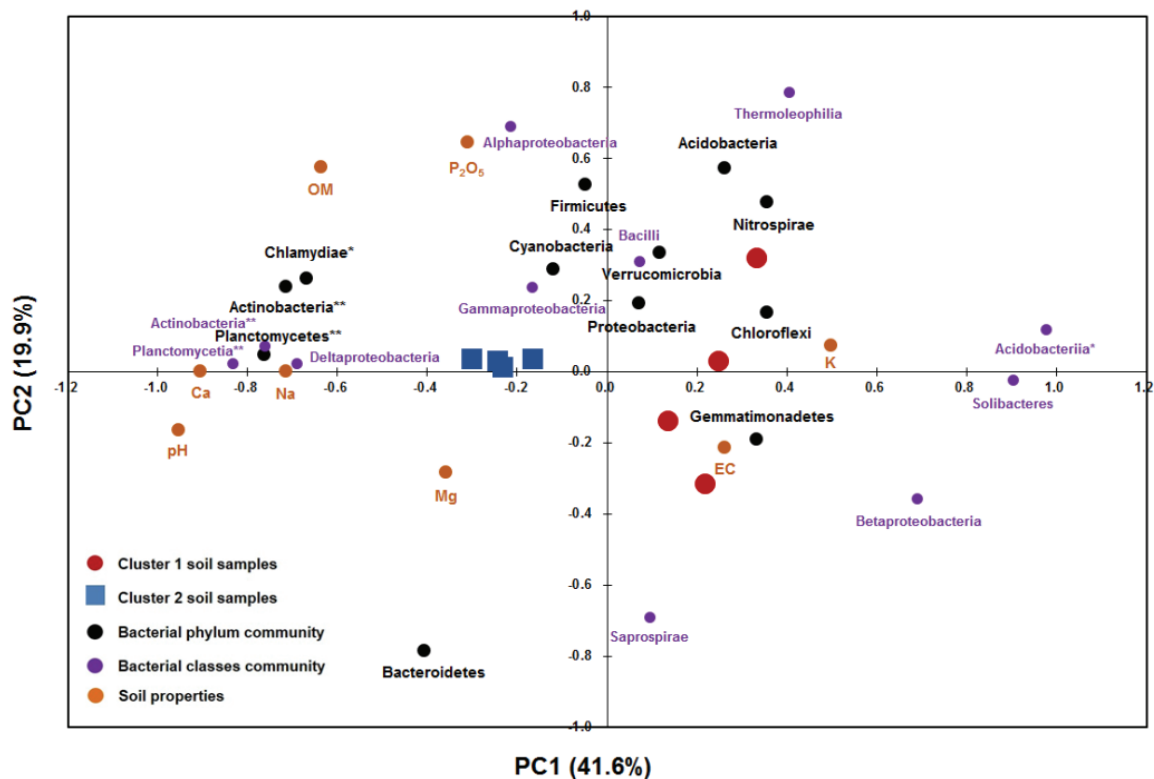


Fig. 2. PCoA analysis based on Bray-Curtis similarity of the bacterial community generated using Mothur platform.

Table 3. Marginal and sequential tests of DISTLM on relation of soil parameters variables to the bacterial community of soil samples

Soil parameters	Marginal tests		Sequential tests		
	<i>P</i> value	Proportion	<i>P</i> value	Proportion	Cumulative
pH	0.0051	0.3818	0.0051	0.3818	0.3818
Ca	0.0013	0.3379	0.0302	0.1675	0.5492
OM	0.2349	0.1772	0.1597	0.1211	0.6704
P ₂ O ₅	0.0374	0.2799	0.3273	0.098	0.7683
Na	0.3259	0.1608	0.4046	0.0857	0.8540
K	0.0794	0.2248	0.5013	0.0731	0.9271
EC	0.4416	0.1431			
Mg	0.0907	0.2327			

Table 4. Relationship between relative abundance of the bacterial communities and soil properties of *C. officinale* cultivation fields using Spearman rank correlation analysis

Bacterial communities	Soil properties	
	pH	Ca
<i>Actinobacteria</i> (Class)	0.714 (0.047)*	0.762 (0.028)*
<i>Acidobacteriia</i> (Class)	-0.905 (0.002)**	-0.833 (0.010)**
<i>Plantomycetia</i> (Class)	0.786 (0.021)*	0.690 (0.058)
<i>Micromonosporaceae</i> (Actinobacteria family)	0.762 (0.028)*	0.833 (0.010)**
<i>Koribacteraceae</i> (Acidobacteria family)	-0.881 (0.004)**	-0.857 (0.007)**

Spearman's rho values (R) written are significantly correlated between the variables compared. Negative values denote negative correlation and positive values denote positive correlation. Values in brackets means P value (*** $P \leq 0.001$, ** $P \leq 0.01$, * $P \leq 0.05$).

균군집과 토양 이화학적 요인 간의 유의적인 관계를 확인하였다(Table 3). Marginal tests를 통해 토양세균군집과 토양 요인 각각의 상관관계를 분석한 결과, 토양 pH ($P=0.0051$), Ca ($P=0.0013$), P₂O₅ ($P=0.0374$)이 유의적으로 토양세균군집에 영향을 주는 것으로 나타났고, Sequential tests를 통해 토양 요인 중에서 어떠한 요인이 토양세균군집과 유의한 상관관계를 가지는지 비교분석한 결과에서는 토양 pH ($P=0.0051$)와 Ca ($P=0.0302$)이 다른 토양요인보다 토양세균군집과 유의적인 상관관계를 가지는 것으로 나타났다. 미생물이 토양에 서식할 때 토양 pH는 가장 중요한 토양요인으로 토양 pH에 따른 토양미생물 군집구조의 변화 연구는 최근까지도 활발히 진행 중이다[27-28]. [29]도 Illumina Miseq sequencing 분석을 통해 확인하였는데, 가지를 연작한 재배지에서 토양 pH가 토양세균군집 구조의 영향을 주는 중요한 환경적인 요인 중 하나라고 보고하였다. 칼슘이온은 고온 스트레스, 병원성, 주화성(chemotaxis), 세포의 분화 및 주기 등 세균의 기능에 광범위하게 관여한다고 알려져 있다 [30]. [31]은 토양세균의 상대적 빈도수와 다양성은 토양의 칼슘이온과 유의적인 상관관계를 가지고, 토양세균의 군집과 활성을 결정하는 중요한 요인으로 작용한다고 보고하였다. Spearman's 상관관계 분석을 이용하여 각 cluster에서 상대적 빈도수가 유의적으로 높은 토양세균군집과 토양 이화학적 중 토양세균군집에 유의

적으로 영향을 주는 토양 요인(pH, Ca) 간의 상관관계를 분석하였다. 토양세균군집 중 *Actinobacteria* ($R=0.714$, $P=0.0047$), *Plantomycetia* ($R=0.786$, $P=0.021$), *Micromonosporaceae* ($R=0.762$, $P=0.028$)는 토양 pH, Ca와 유의적인 정의 상관관계를 보였고, *Acidobacteriia* ($R=-0.905$, $P=0.002$)와 *Koribacteraceae* ($R=-0.881$, $P=0.004$)는 유의적인 부의 상관관계를 보이는 것으로 확인되었다(Table 4). [32]은 오이의 연작에 따른 토양 미생물 군집구조와 다양성을 분석하여 토양 pH의 미세한 변화는 *Acidobacteria*와 *Actinobacteria* 군집의 변화와 유의적인 관련이 있는 것으로 보고하였다. [33]은 대부분의 *Actinobacteria*는 약알칼리 조건에서 대부분 성장한다고 보고하였고, [34]은 산양삼 재배지 토양의 토양세균군집과 토양 이화학적성과의 상관관계를 분석하여 *Acidobacteria* 계열의 군집이 토양 pH와 유의적인 부의 상관관계를 가지는 것으로 보고하였다. 칼슘이온은 *Actinobacteria*의 포자 형성과 관련이 있어 *Actinobacteria*의 분리 또는 생장을 측정하는 배지에 이용된다. [35-36]은 아미존 토양에서 *Acidobacteria* group과 환경요인과의 상관관계를 Spearman's 상관관계 분석을 통해 확인한 결과, 일부 *Acidobacteria* 계열의 군집이 토양 칼슘이온과 유의적인 부의 상관관계를 보이는 것을 확인하였다. 이러한 선행연구는 본 연구에서 일천공 재배지의 토양세균군집과 토양요인과의 상관관계에 대한 결과를 뒷받침할 수 있

으며, 향후 일천궁 외에도 토양세균군집과 토양요인과의 상관 관계를 구명하는데 있어 중요한 정보를 제공할 수 있을 것으로 판단된다.

요 약

본 연구에서는 일천궁의 연작재배에 따른 토양 이화학성 및 토양세균군집을 비교 분석하기 위해 천궁 중에서 재배 빈도수가 높은 일천궁의 초작 및 연작 재배지를 선정하여 토양 이화학성 및 토양세균군집 특성을 분석하고, 토양 이화학성 및 토양세균군집 간의 상관관계를 구명하고자 하였다. 토양 이화학성은 농촌진흥청 토양분석법을 이용하였고, 토양세균군집 분석은 Illumina Miseq sequencing system을 이용하여 상대적 빈도수 및 주좌표 분석을 하였다. 토양 이화학성과 토양세균군집 간의 상관관계는 DISTLM과 Spearman's 상관관계 분석을 이용하였다. 일천궁 재배지의 토양세균군집은 일천의 재배법에 따라 뚜렷하게 2개의 cluster로 군집화를 이루었고, 초작 및 연작 재배지 모두 *Proteobacteria*와 *Alphaproteobacteria*가 우점종으로 나타났다. 주좌표 분석과 DISTLM 분석에서는 일천궁 재배지의 토양 pH와 Ca이 토양세균의 군집화에 유의적으로 영향을 주고 있음을 확인하였고, Spearman's 상관관계 분석을 통해 일천궁의 재배법에 따라 유의적인 차이를 보였던 *Acinobacteria*와 *Acidobacteria*의 상대적 빈도수는 토양 pH, Ca 함량과 유의적인 상관관계를 보이는 것으로 나타났다. 본 연구는 일천궁의 재배법에 따른 토양 이화학성 및 토양세균군집의 변화와 상관관계를 구명하는데 중요한 자료가 될 것으로 판단된다. 또한, 토양 이화학성과 토양세균군집의 변화에 따른 일천궁 재배지의 연작장해 원인을 구명하는데 있어 도움을 줄 수 있을 것이다. 향후 본 연구를 바탕으로 향후 일천궁의 재배법에 따른 곰팡이(fungi)의 군집과 병원성 미생물군집의 변화를 확인하고 토양 이화학성과의 상관관계를 분석할 수 있다면 일천궁의 연작장해 원인을 명확하게 구명하는데 도움을 줄 수 있을 것으로 사료된다.

Note

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgment

This work was supported by a grant from "Forest Science and Technology Development" (Project No. FE0702-2018-1) funded by the Korea Forest Service, Republic of Korea.

References

1. Park YK (1998) The study on antioxidative effects and quality comparison of *Ligusticum chuanxiong* and

- Cnidium officinale* (1). The Korea Journal of Herbology, 12, 103-114.
2. Lee HW, Cho HG, Park YK (1999) The study on antioxidative effects and quality comparison of *Ligusticum chuanxiong* and *Cnidium officinale* (II). The Korean Journal of Herbology, 14, 1-6.
3. Song IG, An BR, Seo BI, Park SJ (2009) Molecular maker to identify and origin of *Cnidii Rhizoma* from Korea and China. The Korean Journal of Herbology, 24, 1-8.
4. Lee JH, Choi HS, Chung MS, Lee MS (2002) Volatile flavor components and free radical scavenging activity of *Cnidium officinale*. Korean Journal of Food Science and Technology, 34, 330-338.
5. Oh YJ, Seo HR, Choi YM, Jung DS (2010) Evaluation of antioxidant activity of the extracts from the aerial parts of *Cnidium officinale* Makino. Korean Journal of Medicinal Crop Science, 18, 373-378.
6. Seo YJ, Nam HH, Jang WC, Kim JS, Lee BY (2018) Effect of meteorological factors on evapotranspiration change of *Cnidium officinale* Makino. Korean Journal of Agricultural and Forest Meteorology, 20, 366-375.
7. Kim DH, Park JM, Kang SM, Lee SM, Seo CW, Lee IY, Lee IJ (2015) Distribution characteristics of weeds and vegetation types in *Cnidium officinale* field. Weed & Turfgrass Science, 4, 279-287.
8. Jung CR, Jeong DH, Park HW, Kim HJ, Jeon KS, Yoon JB (2019) Molecular identification of thrips in two medicinal crops, *Cnidium officinale* Makino and *Ligusticum chuanxiong* Hort. Korean Journal of Medicinal Crop Science, 27, 17-23.
9. Kang SW, Yeon BY, Hyeon GS, Bae YS, Lee SW, Seong NS, Kang SW (2007) Changes of soil chemical properties and root injury ratio by progress years of post-harvest in continuous cropping soils of ginseng. Korean Journal of Medicinal Crop Science, 15, 157-161.
10. Zhang YS, Lee GJ, Joo JH, Lee JT, Ahn JH, Park CS (2007) Effect of winter rye cultivation to improve soil fertility and crop production in alpine upland in Korea. Korean Journal of Environmental Agriculture, 26, 300-305.
11. Hwang JM, Park KC, Kim SJ (2010) Contents of soil microbial Phospholipid fatty acids as affected by continuous cropping of pepper under Upland. Korean Journal of Soil Science and Fertilizer, 43, 1012-1017.
12. Jung YJ, Nou IS, Kang KK (2015) Effects of green manure crops on tomato growth and soil improve-

- ment for reduction of continuous cropping injury through crop rotation in greenhouse. *Korean Journal of Plant Resource*, 28, 263-270.
13. Jung YJ, Nou IS, Kim YK, Kang KK (2015) Effect of green manure crops incorporation for reduction of *Pythium zingiberum* in ginger continuous cultivation. *Korean Journal of Plant Resource*, 28, 271-278.
 14. Kim SH, Seo DC, Park JH, Lee ST, Lee SW, Kim HC, Cho JS, Heo JS (2013) Effects of green manure crops on growth and yield of carrot for reduction of continuous cropping injury of carrot through crop rotation. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 32, 279-286.
 15. Lee SW, Lee SH, Seo MW, Park KH, Jang IB (2018) Effects of irrigation and ginseng root residue on root rot disease of 2-years-old ginseng and soil microbial community in the continuous cropping soil of ginseng. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, 26, 345-353.
 16. Park JH, Seo YJ, Choi SY, Zhang YS, Ha SK, Kim JE (2011) Soil physico-chemical properties and characteristics of microbial distribution in the continuous cropped field with *Paeonia lactiflora*. *Korean Journal of Soil Science and Fertilizer*, 44, 841-846.
 17. Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JR, Hartmann M, Hollister EB, Lesniewski RA, Oakley BB, Parks DH et al. (2009) Introducing mothur: open source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75, 7537-7541.
 18. Schloss PD (2009) A high-throughput DNA sequence aligner for microbial ecology studies. *PLoS One*, 4, e8230.
 19. Kim KY, Samaddar S, Chatterjee P, Krishnamorthy R, Jeon SY, Sa TM (2019) Structural and functional responses of microbial community with respect to salinity levels in a coastal reclamation land. *Applied Soil Ecology*, 137, 96-105.
 20. Yoon YE, Kim JH, Kim SY, Im JU, Kong MS, Lee YH, Lee YB (2015) Determination of main indicator for the changes of chemical properties in greenhouse soils. *Korean Journal of Environmental Agriculture*, 34, 355-358.
 21. Lim SU (2005) *The Fertilizer*, p. 41. ilsinsa, Seoul, Korea.
 22. Wang Y, Tu C, Cheng L, Li C, Gentry LF, Hoyt GD, Zhang X, Hu S (2011) Long-term impact of farming practices on soil organic carbon and nitrogen pools and microbial biomass and activity. *Soil and Tillage Research*, 117, 8-16.
 23. Mo AS, Qiu ZQ, He Q, Wu HY, Zhou X B (2016) Effect of continuous monocropping of tomato on soil microorganism and microbial biomass carbon. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 47, 1069-1077.
 24. Xiong W, Zhao Q, Xue C, Xun W, Zhao J, Wu H, Li R, Shen Q (2016) Comparison of fungal community in black pepper-vanilla and vanilla monoculture systems associated with vanilla *Fusarium* wilt disease. *Frontiers in Microbiology*, 7, 117.
 25. Song X, Tao B, Guo J, Li J, Chen G (2018) Changes in the microbial community structure and soil chemical properties of vertisols under different cropping systems in Northern China. *Frontiers in Environmental Science*, 6, 1-14.
 26. Li W, Liu Q, Chen P (2018) Effect of long-term continuous cropping of strawberry on soil bacterial community structure and diversity. *Journal of Integrative Agriculture*, 17, 2570-2582.
 27. Zhao J, Li S, He X, Liu L, Wang K (2014) The soil biota composition along a progressive succession of secondary vegetation in a karst area. *PLoS ONE*, 9, e112436.
 28. Wu Y, Zeng J, Zhu Q, Zhang Z, Lin X (2017) pH is the primary determinant of the bacterial community structure in agricultural soils impacted by polycyclic aromatic hydrocarbon pollution. *Scientific Reports*, 7, 40093.
 29. Li T, Liu T, Zheng C, Kang C, Yang Z, Yao X, Song F, Zhang R, Wang X et al. (2017) Changes in soil bacterial community structure as a result of incorporation of Brassica plants compared with continuous planting eggplant and chemical disinfection in greenhouses. *PLoS ONE*, 12, e0173923.
 30. Norris V, Grant S, Freestone P, Canvin J, Sheikh F N, Toth I, Trinei M, Modha K, Norman RI (1996) Calcium signaling in bacteria. *Journal of Bacteriology*, 178, 3677-3682.
 31. Xue L, Ren H, Li S, Leng X, Yao X (2017) Soil bacterial community structure and co-occurrence pattern during vegetation restoration in karst rocky desertification area. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2377.
 32. Ali A, Chani IM, Li Y, Ding H, Meng H, Cheng Z (2019) HiSeq base molecular characterization of soil microbial community, diversity structure, and pre-

- dictive functional profiling in continuous cucumber planted soil affected by diverse cropping systems in an intensive greenhouse region of Northern China. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 2619.
33. Lewin GR, Carlos C, Chevrette MG, Horn HA, McDonald BR, Stankey RJ, Fox BG, Currie CR (2016) Evolution and ecology of *Actinobacteria* and their bioenergy applications. *Annual Review of Microbiology*, 70, 235-254.
34. Kim KY, Um YR, Jeong DH, Kim HJ, Kim MJ, Jeon KS (2019) Study on the correlation between the soil bacterial community and growth characteristics of wild-simulated ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer). *Korean Journal of Environmental Biology*, 37, 380-388.
35. Fang BZ, Salam N, Han MX, Jiao JY, Cheng J, Wei DQ, Xiao M, Li WJ (2017) Insights on the effects of heat pretreatment, pH, and calcium salts on isolation of rare *Actinobacteria* from Karstic caves. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1535.
36. Navarrete AA, Venturini AM, Meyer KM, Klein AM, Tiedje JM, Bohannan BJM, Nüsslein K, Tsai SM, Rodrigues JLM (2015) Differential response of *Acidobacteria* subgroups to forest-to-pasture conversion and their biogeographic patterns in the western Brazilian amazon. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1443.