

ORIGINAL ARTICLE

농경지에서 재배작물이 토양미생물활성 및 군집구성에 미치는 영향

백계령* · 이정태 · 지삼녀

국립식량과학원 고령지농업연구소

Crop Effects on Soil Microorganism Activity and Community Composition in the Agricultural Environment

Bak Gyeryeong*, Lee Jeong-Tae, Jee Samnyu

Highland Agriculture Research Institute, National Institute of Crop Science, Pyeongchang 25342, Korea

Abstract

Soil microorganism activity in an agricultural field is affected by various factors including climate conditions, soil chemical properties, and crop cultivation. In this study, we elucidate the correlation between microorganism activity and agricultural environment factors using the dehydrogenase activity (DHA) value, which is one of the indicators of soil microbial activity. As a result, the various factors noted above were related to the DHA value. Annual rainfall, soil Mg²⁺, bacterial and fungal diversities, types of crops, developmental stages, seasons, and cultivation status were highly correlated with the DHA value. Furthermore, next-generation sequencing (NGS) analysis was used to identify that the type of crop affected soil microbial compositions of both bacteria and fungi. Soil used for soybean cultivation showed the highest relative abundance for *Verrucomicrobia*, *Planctomycetes*, and *Acidobacteria* but *Actinobacteria* and *Firmicutes* had the lowest relative abundance. In the case of soil used for potato cultivation, *Actinobacteria* had the highest relative abundance but *Proteobacteria* had the lowest relative abundance. *Armatimonadetes* showed the highest relative abundance in soil used for cabbage cultivation. Among the fungal communities, *Mortierellomycota* had the highest relative abundance for soybean cultivation but the lowest relative abundance for cabbage cultivation; further, *Rozellomycota*, *Chytridiomycota*, and *Cercozoa* had the highest relative abundance for cabbage cultivation. Basidiomycota had the highest relative abundance for potato cultivation but the lowest relative abundance for soybean cultivation.

Key words : Dehydrogenase activity (DHA), Soil chemical properties, Microbiota, Climate condition, Crop effect

1. 서론

토양 미생물은 질소 순환, 탄소 순환 등 토양 생태계에서 중요한 역할을 하고 있으며, 작물의 생육과 밀접한 관

련이 있으므로 농업에서 토양미생물은 작물생산성과 관련하여 많은 연구가 이루어지고 있다(Park et al., 2016). 토양 내 미생물의 토양 효소 활성은 토양 비옥도를 반영하여 중요한 지표가 될 수 있으며, 온도, 습도, 토양 양분

Received 10 February, 2021; Revised 12 April, 2021;

Accepted 4 May, 2021

*Corresponding author: Bak Gyeryeong, Highland Agriculture Research Institute, National Institute of Crop Science, Pyeongchang 25342, Korea

Phone: +82-33-330-1950

E-mail: bgl1228@korea.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. 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, provided the original work is properly cited.

등의 비생물적 요인과 함께 토양미생물의 밀도, 다양성 등의 여러 요인의 영향을 받는다(Paul and Clark, 1989; Joa et al., 2009). 환경 조건에 따라서 토양 효소 활성이 달라지기 때문에 농경지 내 토양 효소 활성을 측정함으로써 해당 토양의 건전성을 평가할 수 있다(Dick, 1994; Langer and Günther, 2001).

많은 연구자들은 농경지 내에서 유기물, 작목, 재배 지역, 제초제, 농약 등이 미생물 효소 활성에 미치는 영향을 분석함으로써 토양 건전성과 토양 미생물군집의 다양성을 평가하였으며(Sebiomo et al., 2011; Kim et al., 2012), 토양의 물리화학적 지표들과 토양 미생물 효소 활성 간의 상관관계를 분석하였다(Rogers and Li, 1985; Adak et al., 2014). 또한 최근에는 토양 미생물 군집 분석을 병행하여 토양 내 미생물의 상태를 보다 자세하게 분석하여 농업에서의 토양 미생물의 활용을 적극적으로 고려하고 있다(Chu et al., 2007; Luo et al., 2015).

그러나 농경지에서 토양 미생물 효소 활성 지표에 영향을 주는 요인들에 대한 종합적인 연구에 대한 실정은 미비한 편으로 본 연구에서는 재배 특성이 다른 세 작목-감자, 배추, 콩을 재배하였을 때 토양 미생물 효소 활성을 나타내는 지표 중 하나인 탈수소 효소 활성에 영향을 줄 수 있는 토양화학성, 작물과 관련된 지표, 기상 자료 등을 함께 분석함으로써 토양 미생물 효소 활성에 미치는 요인들을 종합적으로 평가하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시험 포장 조성 및 재배 관리

본 연구의 시험포장은 강원도 평창군 대관령면에 위치하고 있으며, 토성은 사양토이고 시험구의 크기는 $4 \times 6 \text{ m}^2$ 크기로 2015년 4월에 조성되어 2020년 11월까지 시험을 수행하였다. 작물 처리는 감자, 배추, 콩의 세 종류의 작물로, 각 처리는 매년 동일 작물을 재배하였다. 서리가 내리지 않는 기간이 짧은 대관령 지역의 특성 상 1년에 한 번 작물을 재배하였는데, 감자는 5월부터 8월까지, 배추는 6월부터 8월까지, 콩은 6월부터 10월까지 재배하였다. 모든 시험구는 경운 작업 이후 흑색 비닐로 멀칭을 하였으며, 시비는 경운 작업 전 시험구에서 토양을 채취하여 토양 분석을 수행한 후 각 작물에 맞는 검정시

비량을 농촌진흥청의 토양환경정보 시스템인 흙토람(Soil information system in Korea)에서 처방 받아 투입하였으며, 퇴비는 투입하지 않았다. 감자는 수미 품종을 심었고, 재식 간격은 $75 \times 25 \text{ cm}$, 배추는 수호 품종으로 $75 \times 35 \text{ cm}$, 콩은 대풍 품종으로 $75 \times 15 \text{ cm}$ 로 파종 및 정식하였으며, 각 작물의 시험구는 3반복으로 하여 랜덤으로 배치하였다.

2.2. 토양 시료 채취 및 토양 분석 방법

2.2.1. 토양 화학성 분석

시험 포장의 토양 화학성은 6년 동안 경운 전의 4월과 작물 수확 후인 11월을 포함하여 작물이 생육하고 있는 기간 중에도 4-5회, 0-15 cm 깊이의 표토를 채취하여 분석하였다. 토양 시료 채취 시기는 감자, 배추, 콩 세 작물의 생육기간과 적정 파종시기 등이 다르기 때문에 가장 먼저 파종하는 감자와 가장 늦게 수확하는 콩을 기준으로 하였고, 배추와 콩은 육묘 후 정식하였으나 콩은 씨감자를 파종하여 생장에 시간이 걸리기 때문에 감자 파종 후 약 두 달 후를 첫 번째 시기로 하여 일정 간격을 두고 토양 시료를 채취하였다. 토양 시료의 채취는 포스트 홀 핸드 오거(auger)를 사용하였으며, 동일 시험구의 5지점에서 시료를 채취하여 시료 봉투에 넣고 고르게 섞은 후 직사광선이 들어오지 않는 장소에서 48시간 이상 건조시켜 2 mm 체로 쳐서 분석 시료로 사용하였다. pH는 초자전극법, 유기물함량은 Vario Max (Hanau, Germany) 원소분석기로 탄소 함량을 측정한 후 환산하였고, 유효인산함량은 Lancaster 방법에 따라 UV 720 nm (UV/VIS spectrometer, Lamda 25, PerkinElmer Co., Norwalk, CT, USA)에서 측정하였으며, 치환성 양이온 함량은 토양 시료를 1 M의 NH_4OAc 추출액으로 침출하여 유도결합 플라즈마 분광광도계(Inductively Coupled Plasma Spectrometer, Optima 2100DV, PerkinElmer Co.)로 분석하였다.

2.2.2. 토양 미생물 효소 활성 분석

시험 토양의 미생물 활성은 triphenyltetrazolium chloride를 기질로 사용하는 탈수소 효소 활성법(DHA, Dehydrogenase activity analysis)를 이용하여 측정하였다(Casida, 1977). 시험 토양의 분석은 6년 동안 경운 작업 전 4월과 수확 후 11월을 포함하여 작물 재배 시기 중 4-6회 시료를 채취하였고, 채취한 토양 시료는

만 24시간 동안 그늘에서 말린 후 2 mm 체로 쳐서 준비하였다. 시험관에 토양 시료 6 g과 CaCO₃ 0.06 g을 혼합한 후 1 ml의 3% TTC (2,3,5-triphenyltetrazolium) 용액과 2.5 ml의 증류수를 가한 후 시료와 용액을 잘 섞어준 후 37°C에서 24시간 배양을 통해 반응을 시켰다. 배양이 완료된 시료는 메탄올로 추출하여 Watman No.2 여과지에 여과시켜 100 ml까지 채운 후 485 nm (UV/VIS spectrometer, Lambda 25, Perkinelmer Co., Norwalk, CT, USA)에서 측정하여 24시간 동안 토양 내 미생물의 탈수소효소에 의해 환원된 TPF (1,3,5-triphenylformazan)의 값으로 환산하여 구하였다.

2.2.3. 토양 미생물 군집 분석

재배 작물에 따른 토양 미생물 군집 분석은 시험포장을 조성하고 4년이 지난 2019년도 경운 전인 4월에 토양을 채취하였다. 채취한 토양 시료는 24시간이 지나기 전 ISOIL II DNA 추출 키트(Nippongene, Japan)로 제조사의 방법에 따라 토양 DNA를 추출하였으며, 부득이 24시간 안에 추출이 불가능한 경우는 -70°C에서 보관 후 DNA를 추출하였다. 추출한 DNA는 세균의 경우 16S rDNA의 V3-V4 영역을, 곰팡이의 경우 ITS1 영역을 타겟으로 하여 합성된 universal primer pair를 사용하여 증폭시켜 시퀀싱 분석을 의뢰하기 전까지 -20°C 냉동고에 보관하였다. 16s에 해당하는 pair primer는 515F와 806R 이며, ITS에 해당하는 pair primer는 ITS1F와 ITS2R 로 해당 primer pair의 염기서열은 다음과 같다.

515F
(5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAG-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')

806R
(5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')

ITS1F
(5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGA GACAG-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')

ITS2R
(5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAG-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')

해당 토양의 미생물 군집 분석은 천랩(Chunlab)에 의

해 수행되었으며, 증폭한 PCR amplicon을 template로 하여 차세대 염기서열 분석을 수행하기 위한 바코딩 작업을 Illumina의 Nextera barcode를 이용하여 수행하였다. PCR 산물은 불필요한 fragments를 제거하는 정제과정을 거친 후 Illumina의 Miseq 플랫폼 장비(Illumina, USA)를 통해 시퀀싱 자료를 얻었다. 분석된 시퀀싱 자료는 천랩에서 제공하는 분석 플랫폼인 EzBioCloud를 이용하여 분석하였으며, 해당 플랫폼은 미생물학 분야에서 공인된 생물정보데이터를 기반으로 하고 있다. EzBioCloud 분석 플랫폼을 통해 각 작물 재배 시 세균 및 곰팡이 군집의 다양성을 나타내는 α -diversity 분석과 군집을 이루고 있는 relative abundance community composition 분석을 수행할 수 있었다.

2.3. 토양 탈수소 효소 활성과 환경 및 재배 요인 분석

토양 탈수소 효소 활성에 미치는 요인들을 종합적으로 분석하기 위하여 토양 화학성 분석 자료, 기상자료, 토양 미생물 군집 분석을 통해 얻은 세균과 곰팡이 군집의 다양성을 표시하는 Shannon index, 그리고 작물 투입 및 생육과 관련된 지표들을 이용하여 토양 미생물 효소 활성과의 관계를 R (x64, 3.5.3) 프로그램을 이용하여 상관분석과 분산분석을 하여 평가하였다. 기상 자료는 기상청에서 제공하는 대관령 지점 관측 자료(2015-2020)를 이용하였으며, 조사 시기의 평균 기온과 강수량은 조사 전 7일 간의 평균 기온과 누적 강수량으로 표시하였고, 연 평균 기온과 강수량은 조사 시기인 4월부터 11월까지의 평균 기온과 누적 강수량으로 정리하여 기상 요소와 토양 미생물 효소 활성 간의 상관관계를 분석하고자 하였다. 또한 조사 시기를 봄, 여름, 가을로 나누어 계절 별로 자료를 정리하여 분석을 수행하였다. 작물 및 생육과 관련된 지표는 작물 효과, 생육기, 재배 효과로 정리하여 평가하였다. 작물 효과는 콩, 감자, 배추 세 가지 작물 처리를 나타내고, 생육기는 각 작물의 생육 시기를 영양생장기, 개화기, 생식생장기, 수확기로, 재배 효과는 작물을 재배하는 시기와 재배하지 않는 시기로 나누어서 이들 요인이 토양 미생물 효소 활성에 미치는 영향을 분석하고자 하였다.

2.4. 통계분석

모든 조사 자료는 통계분석을 통해 유의성 검정을 수행하였다. 토양 화학성 분석은 동일 처리에서 3반복으로

Table 1. Annual climate conditions over cultivation period

	2015	2016	2017	2018	2019	2020
Average temperature(°C)	13.1	13.6	13.0	13.0	13.4	12.8
Rainfall(mm)	342.9	1063.8	216.6	1590.0	1130.4	1580.7

Investigation period: From April to November

Table 2. Soil chemical properties of three different crops during experimental period

Crop	Year	pH (1:5)	O.M. (g/kg)	P ₂ O ₅ (mg/kg)	K ⁺	Ca ²⁺	Mg ²⁺
					(cmol/kg)		
Soybean	2015	6.6±0.3	26.2±4.9	273.1±69	0.27±0.03	8.84±0.72	1.19±0.1
	2016	6.3±0.2	33.1±2.8	344.3±39.2	0.22±0.03	8.78±0.67	1.31±0.14
	2017	6.9±0.3	25.2±1.2	734.6±69.2	0.18±0.01	8.49±1.13	1.14±0.14
	2018	6.4±0.1	29.9±3	306.6±30	0.19±0.02	7.77±0.89	1.25±0.15
	2019	6.1±0.2	19.6±2.2	221.1±6.6	0.17±0.02	7.54±0.76	1.12±0.05
	2020	6.2±0.1	23.2±2	202.2±21.4	0.17±0.02	7.06±0.85	0.98±0.1
Potato	2015	6.2±0.1	25.8±3.1	272.5±33	0.26±0.02	8.36±0.33	1.17±0.07
	2016	6.4±0.1	24.8±2.4	323.4±81.3	0.19±0.03	7.78±0.66	1.12±0.12
	2017	6.5±0.1	24.9±1.4	783±119.8	0.19±0.01	7.93±0.18	1.22±0.07
	2018	6.7±0.1	24.7±1.4	277.6±66.6	0.19±0.02	7.31±0.11	1.21±0.04
	2019	6.4±0.1	21.2±2.9	263.4±63.5	0.19±0.02	6.91±0.36	1.19±0.05
	2020	6.3±0.1	19.1±1.6	230.3±53.8	0.19±0.03	7.32±0.1	1.19±0.03
Napa Cabbage	2015	6.6±0.2	24.4±0.9	301.4±28.1	0.25±0.02	8±0.22	1.05±0.02
	2016	6.1±0.3	25.8±0.6	377.4±54.9	0.23±0.04	7.17±0.27	1.14±0.03
	2017	6.6±0.5	24.5±3.8	803.1±120.8	0.19±0.03	6.97±0.79	1.09±0.05
	2018	6.3±0.1	26.1±0.6	353.1±42.8	0.2±0.04	7.09±0.68	1.32±0.09
	2019	5.9±0.1	21.8±2	319.7±30.5	0.16±0.02	6.03±0.41	1.16±0.03
	2020	5.9±0.1	18±1.6	260.2±16.2	0.16±0.02	6.13±0.08	1.15±0.05
ANOVA		***	**	**	NS	***	NS

ANOVA between crop and each chemical properties

NS: no significance, **0.05 < P value < 0.01, *** 0.001 > P value

시험을 수행하여 평균과 표준편차 값을 표시하였으며, 토양 화학성에 재배 작물이 미치는 영향은 R (x64, 3.5.3) 프로그램을 이용하여 분산분석을 수행하였다. 토양 미생물 효소 활성 실험과 토양 미생물 군집 분석도 처리에 따라 3반복으로 실험을 수행하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 시험 기간 중의 기상 상황

2015년부터 2020년까지의 토양 미생물 효소 활성 측

정 기간인 4월부터 1월까지의 기상 개황을 Table 1에 나타내었다. 시험기간 동안의 평균 기온은 최저 12.8°C에서 최고 13.6°C로 전반적으로 13°C 전후의 평균기온을 나타내었으며, 연차 간의 차이가 크지 않았다. 그러나 시험 기간 동안의 강수량은 최저 216.6 mm에서 최대 1590.0 mm로 연차 간의 차이가 컸음을 알 수 있었다.

3.2. 재배 작물에 따른 토양 화학성 변화

농경지에서 토양 화학성 조사는 토양 내 교란이 가장 적다고 판단되는 경운 작업 전에 수행하게 된다. 콩, 감

자, 배추 세 종류의 작물 재배가 토양 화학성에 영향을 주는지 분석하기 위하여 매년 4월 경운 작업 전에 조사한 토양 화학성 자료를 토대로 분석을 수행하였다(Table 2). 작물 재배 시 퇴비의 투입은 토양 유기물과 유효인산 함량을 증진시키는데(Park et al., 2009) 본 시험에서는 퇴비를 넣지 않고 재배하였기 때문에 유기물(O.M.), 유효인산(P_2O_5), K^+ , Ca^{2+} 함량은 작물과 관계 없이 감소한 것으로 생각된다. pH는 배추를 재배한 시험구에서 6.6에서 5.9로 큰 폭으로 감소하였는데 이는 대관령 지역의 농경지 모니터링 연구 결과 감자, 당근, 양배추 등을 재배한 포장보다 배추를 재배하는 포장의 pH가 낮다는 결과와 일치하는 경향을 보였다(Park et al., 2011). 토양 유기물과 Ca^{2+} 함량은 연차에 따른 경향성을 보이지는 않았으나 5년 간의 재배 이후 2020년과 재배 전인 2015년의 자료를 비교해 보면 유기물 함량은 콩을 재배했을 시 가장 적은 폭으로 감소하였으며, Ca^{2+} 함량은 감자 재배 시 가장 적은 폭으로 감소하였다. ANOVA 분석 결과 재배 작물이 토양의 pH, 유기물, 유효인산, Ca^{2+} 함량과 관련이 있다는 것을 알 수 있으며, 특히 pH와 Ca^{2+} 은 재배 작물과 고도의 유의성을 나타내었다. 콩의 검정시비량은 배추와 감자보다 적기 때문에 작물에 따른 검정시비량의 차이가 재배 작물이 토양 화학성에 유의한 영향을 주는 것과 관련이 클 것으로 추측된다.

3.3. 재배 작물에 따른 토양 미생물 효소 활성 및 요인 분석

6년의 재배기간 동안 세 종류의 작물 휴한기와 재배기에 토양 탈수소 효소 활성을 측정하고 결과 콩, 감자, 배추는 각각 32.3-117.7 $\mu\text{gTPF/g}$, 32.5-114.3 $\mu\text{gTPF/g}$, 24.7-94.7 $\mu\text{gTPF/g}$ 의 범위 안에서 증감을 반복하였다(Fig. 1). 6년 동안의 평균 DHA 값은 콩 64.8 $\mu\text{gTPF/g}$, 감자 63.5 $\mu\text{gTPF/g}$, 배추 54.1 $\mu\text{gTPF/g}$ 로 콩과 감자를 재배한 토양에 비해 배추를 재배한 토양에서 낮은 DHA 값을 보였다. DHA값과 토양 화학성, 기온과 강수량, 토양 내 세균 및 곰팡이 군집의 다양성을 나타내는 지표들 간의 상관관계를 분석한 결과는 Table 3에 나타내었다. 전반적으로 토양 화학성 성분과는 유의한 상관관계를 보이지 않고 Mg^{2+} 과 약한 양의 상관관계를 보였다. DHA값과 유기물은 양의 상관관계와(Dinesh et al., 1998) 음의 상관관계(Garcia et al., 1997)가 모두 보고되었는데,

본 연구에서도 콩과 배추 재배의 경우 약한 양의 상관관계를 보였으나 감자 재배 토양의 경우 유의한 관계를 찾을 수 없으므로 유기물의 영향은 다양한 농경지를 대상으로 관련 연구를 지속적으로 수행해야 할 필요가 있을 것으로 판단된다.

기온과 DHA값과의 관계는 연 평균 기온과는 약한 음의 상관관계를 측정 시점의 기온과는 약한 양의 상관관계를 보였다. 많은 미생물의 생육 적온이 25-30°C임을 고려할 때 온도의 차이가 큰 단일조건에서 연구를 수행하면 기온과 DHA값과의 강한 양의 상관관계를 관찰할 수 있을 것으로 생각되며, 10, 20, 30°C의 온도 조건 하에서 DHA값이 기온과 양의 상관관계를 보였다는 보고가 이를 뒷받침해주었다(Brzezińska et al., 1998). 강수량에 따른 DHA값은 재배 기간 중 누적 강수량과는 뚜렷한 양의 상관관계를 보였는데, 토양 수분과 DHA값이 양의 상관관계를 보인다는 결과들과(Ross and Roberts, 1970; Brzezińska et al., 1998) 일치하여, 재배 기간 중의 강수량이 DHA값에 영향을 준다고 판단할 수 있었다. 미생물 군집의 다양성을 나타내는 지표인 Shannon index는 종의 개수와 분포 정도를 고려한 지표이며, 값이 높을수록 다양한 종이 해당 군집을 이루고 있다고 판단하게 된다. 본 연구에서 토양 미생물 효소 활성과 곰팡이 및 세균 군집의 다양성지표인 Shannon index와의 상관관계를 분석한 결과 곰팡이 군집의 다양성과는 강한 음의 상관관계를 보인 반면 세균 군집의 다양성과는 강한 양의 상관관계를 보였다. 토양 내 세균의 Shannon index와 DHA값과의 상관관계를 고찰한 다른 연구들(Grządziel and Gałazka; 2018, Yang et al., 2019)에서도 양의 상관관계를 보였다. 또한 세균과 곰팡이 군집의 Shannon index를 비교한 연구에서(Yang et al., 2019) 두 군집의 Shannon index는 음의 상관관계를 보여 본 연구와 비슷한 경향을 나타내었다. 그러나 본 연구에서 Shannon index의 측정은 한 번의 시기에서만 이루어졌고, DHA값은 환경변화에 민감하기 때문에 토양 세균 및 곰팡이 군집의 다양성이 DHA값에 강한 상관관계를 가지고 있는지에 대해서는 추가적인 연구가 필요하다.

작물의 종류, 재배 상황, 생육기, 계절이 DHA값에 영향을 주는지 알아보기 위해 토양 미생물 효소 활성을 종속 변수로 하여 one-way 및 two-way ANOVA를 수행한 결과 변수 간의 상호작용 효과(two-way ANOVA)는

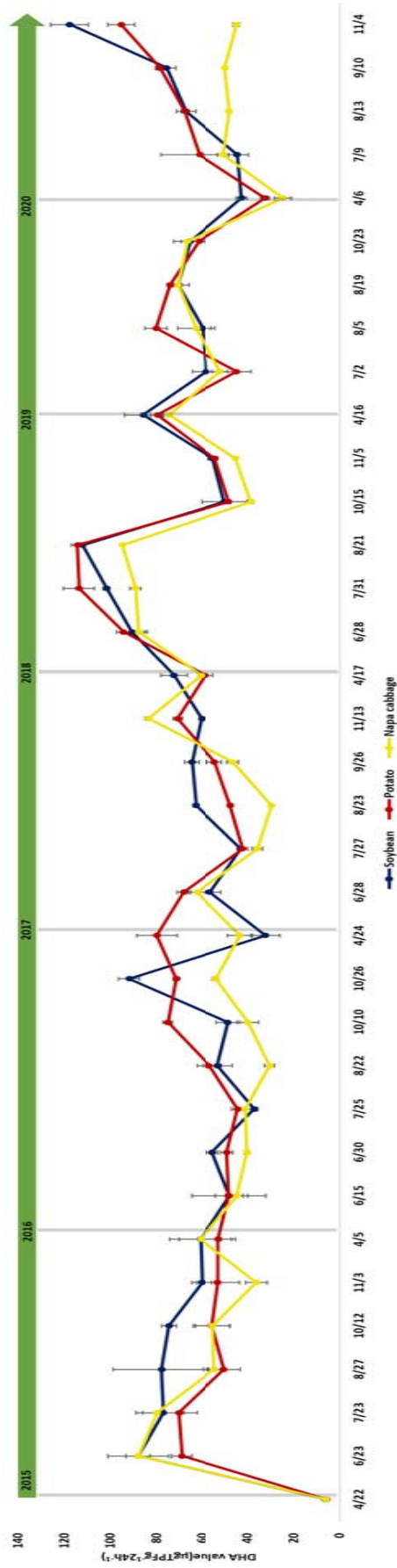


Fig. 1. Microorganism enzyme activity analysis of three different crops during six-years of cultivation period
 Mean±Standard deviation, three replication.

Table 3. Correlation coefficient table between DHA value and various factors

Factors	Soybean	Potato	Napa cabbage	
Soil chemical properties	pH	-0.41	0.12	-0.19
	Organic matter		-0.01	
			0.36	-0.04
	P ₂ O ₅		0.15	
			-0.35	0.34
	K ⁺		-0.11	
			0.23	-0.05
Ca ²⁺		0.11		
		-0.40	-0.16	-0.35
Mg ²⁺		-0.11		
		0.24	0.10	0.65
			0.33	
Climate condition	Average temperature(°C)		0.07	
	Rainfall(mm)		0.23	
	Annual average temperature(°C)		-0.25	
	Annual rainfall(mm)		0.64	
Soil biological diversity (Shannon index)	Fungi		-0.90	
	Bacteria		0.80	

Table 4. Analysis of variance (ANOVA) test for the relation between the DHA value and crop and season factors

Factor	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)	Sig
Crop	3	35129	11710	29.67	2.00E-16	***
Developmental stage	5	11438	2287.7	4.828	0.000289	***
Cultivation	1	6163	6163	12.72	0.000419	***
Season	2	9645	4823	10.15	5.35E-05	***

ANOVA, *** 0.001 > Pr

Pr 값이 모두 0.05 이상으로 토양 미생물 효소 활성 수치에 영향을 미치지 못했으나 각 주 요인들은 모두 고도의 유의성($Pr < 0.001$)을 보이며 DHA값에 영향을 주는 것을 알 수 있었다(Table 4).

ANOVA 분석 결과는 DHA값이 재배 작물, 작물의 생육기, 재배 유무, 계절에 따라 다르게 나타날 수 있음을 시사하였다. 재배 작물, 단일작물의 이어짓기, 작물의 생육기가 토양 미생물 효소 활성 및 미생물 군집에 영향을 준다는 보고가 이어지고 있어(Lee et al., 2015; Pfeiffer et al., 2016; Bak et al., 2019) 재배 작물의 종류와 생육기가 DHA값에 영향을 줄 수 있다고 판단된다.

Quilchano and Maranon(2002)의 연구에서도 DHA값이 계절과 장소에 영향을 받는다고 보고되어 본 연구와도 일치하는 경향을 보였다. 즉, DHA값은 재배기간 중 누적 강수량, 세균 및 곰팡이의 다양성, 재배 작물, 생육기, 재배 유무, 계절의 영향 등의 영향을 종합적으로 받는 것으로 판단된다.

3.4. 재배 작물에 따른 토양 세균 및 곰팡이의 군집 구성

토양 미생물 군집의 다양성을 나타내는 Shannon index는 세균 군집의 경우 콩, 감자, 배추의 순이었고, 곰팡이 군집의 경우 그 반대인 배추, 감자, 콩의 순서로

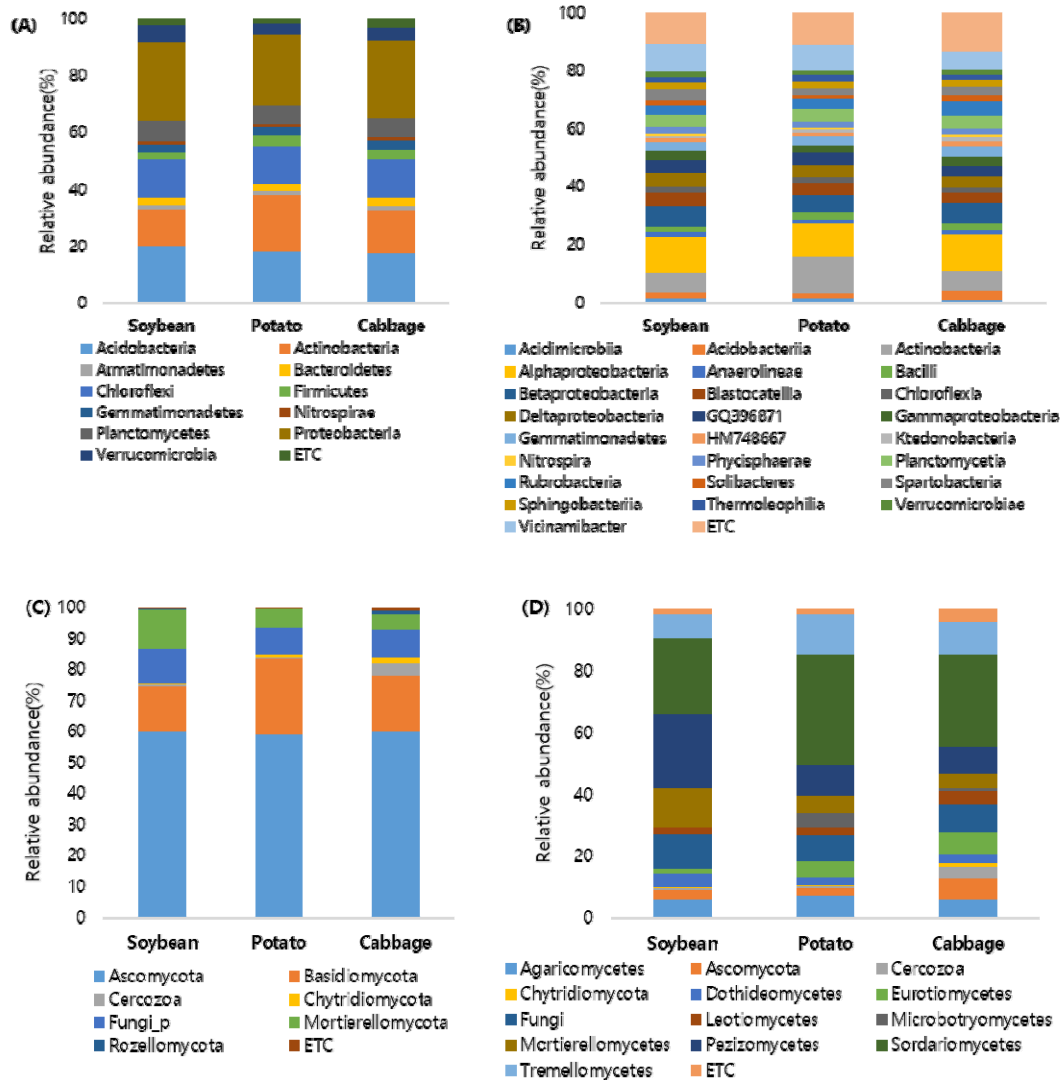


Fig. 2. Relative abundance (%) of microorganism communities among three different crops. (A) Phylum level in bacteria, (B) Class level in bacteria, (C) Phylum level in fungi, (D) Class level in fungi

세균과 곰팡이 군집의 다양성이 음의 상관관계를 보였다. 토양 내 곰팡이와 세균 군집의 다양성이 음의 상관관계를 보이고(Yang et al., 2019), 콩 재배 시 세균 군집의 다양성이 증가한다는 보고가 있어 본 연구의 결과와 일치하는 경향을 보였다(Bak et al., 2019). 농경지에서 토양미생물 군집에 대한 연구는 DNA 기반의 sequencing 기술이 발달하면서 활발하게 수행되고 있으며, 여러 연

구에서 재배 작물의 종류가 토양 미생물 군집의 구성 및 다양성에 영향을 주며, 작물과 연관된 미생물군집을 조절함으로써 작물의 생육이나 병 저항성에 영향을 줄 수 있다는 보고가 있었다(Berg and Smalla, 2009; Ma del Carmen et al., 2018; Sasse et al., 2018).

콩, 감자, 배추의 세 작물의 재배에 따른 토양 세균 및 곰팡이 군집의 구성은 Fig. 2에 나타내었다. 세균

군집의 경우 Phylum 수준에서 *Verrucomicrobia*, *Planctomycetes*, *Acidobacteria*의 상대풍부도는 콩에서 가장 높았고, *Actinobacteria*는 감자에서 가장 높았으나 콩에서는 가장 낮았고, *Armatimonadetes*는 배추에서 가장 높았다. Class 수준에서는 *Spartobacteria*, *Phycisphaerae*, *Deltaproteobacteria*, *Anaerolineae* 등은 콩에서 가장 높았으며, *Acidobacteriia*와 *Rubrobacteria*는 배추에서 가장 높았으며, *Bacilli*는 콩에서 *Betaproteobacteria*는 감자에서 *Vicinamibacter*와 *Chloroflexia*는 배추에서 가장 낮은 abundance를 보였다(Fig. 2A, 2B). 곰팡이 군집의 경우 Phylum 수준에서 *Mortierellomycota*는 콩에서 가장 높은 abundance를 보였고, 배추에서 가장 낮았으며, *Basidiomycota*는 감자에서 가장 높았고, 콩에서 가장 낮았다. *Rozellomycota*, *Chytridiomycota*, *Cercozoa*는 배추 재배 토양에서 가장 높은 abundance를 보였다. Class 수준에서는 *Pezizomycetes*, *Mortierellomycetes*, *Dothideomycetes*가 콩에서 가장 높은 abundance를, *Tremellomycetes*, *Sordariomycetes*, *Microbotryomycetes*, *Agricomycetes*는 감자에서, *Leotiomycetes*, *Eurotiomycetes*는 배추 재배 토양에서 가장 높은 abundance를 보였다(Fig. 2C, 2D). 농경지에서 작물의 DHA값이 세균의 다양성과 양의 상관관계를 보여 각 재배 작물 토양에서 높은 abundance를 보인 세균 군집은 DHA값과 관련이 있을 것으로 추측된다. 곰팡이 군집의 다양성은 DHA값과 강한 음의 상관관계를 보이며, 재배 작물에 따라 다른 구성을 보이고 있으므로 이와 관련해서는 추가적인 연구가 필요하다.

4. 결론

농경지에서 토양 건전성을 나타내는 지표 중 하나로 활용되고 있는 토양 미생물 효소 활성은 토양 화학성, 재배 작물, 기후 등의 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 본 연구에서는 토양 미생물 효소 활성과 생물적·비생물적 환경 요인들의 상관관계를 분석하여 농경지에서 토양 미생물 효소 활성에 영향을 주는 요인들을 종합적으로 평가하여 분석하고자 하였다. 결과적으로 연 강수량, 토양 Mg^{2+} , 세균 및 곰팡이 군집의 다양성, 재배 작물의 종류, 작물의 생육기, 계절, 작물 재배의 유무 등이 토양 미생물

효소 활성에 유의한 영향을 주는 것으로 판단할 수 있었다. 또한 서로 다른 세 작물의 재배는 토양 세균 및 곰팡이 군집 구성에 영향을 주었는데, 세균 군집에서는 콩 재배 토양에서 *Verrucomicrobia*, *Planctomycetes*, *Acidobacteria*의 비율이 높았으며, *Actinobacteria*와 *Firmicutes*는 낮았다. 감자 재배 토양에서는 *Actinobacteria*의 비율이 높았으며, *Proteobacteria*가 낮았고, 배추 재배 토양에서는 *Armatimonadetes*가 높은 abundance를 나타내었다. 곰팡이 군집에서는 *Mortierellomycota*가 콩 재배 시 높은 abundance를 나타내었고, 배추 재배 시 낮았으며, *Rozellomycota*, *Chytridiomycota*, *Cercozoa*는 배추 재배 토양에서, *Basidiomycota*는 감자 재배 토양에서 높은 abundance를 보였다.

감사의 글

이 논문은 농촌진흥청 연구사업 “고령지 콩 도입 작부 체계 개발 및 토양환경 개선효과 구명” 과제(과제번호: PJ01125903) 및 “고령지 농경지 이용형태 변화에 따른 토양환경 변동특성 평가” 과제(과제번호: PJ01346004)의 연구비에 의하여 지원되었음.

REFERENCES

- Adak, T., Singha, A., Kumar, K., Shukla, S. K., Singh, A., Singh, V. K., 2014, Soil organic carbon, dehydrogenase activity, nutrient availability and leaf nutrient content as affected by organic and inorganic source of nutrient in mango orchard soil, *J. Soil Sci. Plant Nutr.*, 14, 394-406.
- Bak, G. R., Lee, G. J., Kim, T. Y., 2019, The effects of soybean cultivation on soil microorganism activity, *Korean. J. Environ. Agric.*, 38, 76-82.
- Berg, G., Smalla, K., 2009, Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere, *FEMS. Microbiol. Ecol.*, 68, 1-13.
- Brzezińska, M., Stepniowska, Z., Stepniowski, W., 1998, Soil oxygen status and dehydrogenase activity, *Soil. Biol. Biochem.*, 30, 1783-1790.
- Casida, L. E., 1977, Microbial metabolic activity in soil as measured by dehydrogenase determination, *Appl. Environ. Microb.*, 34, 630-636.

- Chu, H., Lin, X., Fujii, T., Morimoto, S., Yagi, K., Hu, J., Zhang, J., 2007, Soil microbial biomass, dehydrogenase activity, bacterial community structure in response to long-term fertilizer management, *Soil. Biol. Biochem.*, 39, 2971-2976.
- Dick, R. P., 1994, Soil enzyme activities as indicators of soil quality, *Defining soil quality for a sustainable environment*, 35, 107-124.
- Dinesh, R., Dubey, R. P., Prasad, G. S., 1998, Soil microbial biomass and enzyme activities as influenced by organic manure incorporation into soils of a rice-rice system, *J. Agro. Crop Sci.*, 181, 173-178.
- Garcia, C., Hernandez, T., Costa, F., 1997, Potential use of dehydrogenase activity as an index of microbial activity in degraded soils, *Commun. Soil. Sci. Plant. Anal.*, 28, 123-134.
- Grządziel, J., Gałazka, A., 2018, Microplot long-term experiment reveals strong soil type influence on bacteria composition and its functional diversity, *Appl. Soil. Ecol.*, 117-123.
- Joa, J. H., Moon, D. G., Chun, S. J., Kim, C. H., Choi, K. S., Hyun, H. N., Kang, U. G., 2009, Effect of temperature on soil microbial biomass, enzyme activities, and PLFA content during incubation period of soil treated with organic materials, *Korean. J. Soil. Sci. Fert.*, 42, 500-512.
- Kim, Y. H., Lim, J. H., An, C. H., Jung, B. K., Kim, S. D., 2012, Soil microbial community analysis using soil enzyme activities in red pepper field treated microbial agents, *J. Appl. Biol. Chem.*, 55, 47-53.
- Langer, U., Günther, T. H., 2001, Effects of alkaline dust deposits from phosphate fertilizer production on microbial biomass and enzyme activities in grassland soils, *Env. Pollut.*, 112, 321-327.
- Lee, Y. M., Ahn, J. H., Choi, Y. M., Weon, H. Y., Yoon, J. H., Song, J. K., 2015, Bacterial core community in soybean rhizosphere, *Korean. J. Microbiol.*, 51, 347-354.
- Luo, P., Han, X., Wang, Y., Han, M., Shi, H., Liu, N., Bai, H., 2015, Influence of long-term fertilization on soil microbial biomass, dehydrogenase activity, and bacterial and fungal community structure in a brown soil of northeast China, *Ann. Microbiol.*, 65, 533-542.
- Ma del Carmen, O. M., Ma del Carmen, R. G., Bernard, R. G., Gustavo, S., 2018, Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms, *Microbiol. Res.*, 208, 25-31.
- Park, J. M., Lee, I. B., Kang, Y. I., Hwang, K. S., 2009, Effects of mineral and organic fertilizations on yield of hot pepper and changes in chemical properties of upland soil, *Korean J. Hortic. Sci. Technol.*, 27, 24-29.
- Park, K. H., Yun, H. J., Yul, K. Y., Yun, J. C., Lee, J. J., Hwang, H. A., Kim, K. D., Jin, Y. I., 2011, The monitoring of agricultural environment in Daegwallyeong area, *Korean. J. Soil Sci. Fert.*, 44, 1027-1034.
- Park, K. L., Yuko, S. G., Hong, S. G., Lee, C. R., Ahn, M. S., Kim, S. C., Hashimoto, T., 2016, Study on characteristics of chemical properties and microbial flora of organic farming soil in Korea, *J. Korea. Org. Res. Recy. Ass.*, 24, 77-83.
- Paul, E. A., Clark, F. E., 1989, *Soil microbiology and biochemistry*, Academic press, San Diego, CA, USA, 1-10.
- Pfeiffer, S., Mitter, B., Oswald, A., Schloter, H. B., Schloter, M., Declerck, S., Sessitsch, A., 2016, Rhizosphere microbiomes of potato cultivated in the High Andes show stable and dynamic core microbiomes with different responses to plant development, *FEMS. Microbiol. Ecol.*, 93, 1-12.
- Quilchano, C., Maranon, T., 2002, Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils, *Biol. Fert. Soil.*, 35, 102-107.
- Rogers, J. E., Li, S. W., 1985, Effect of metals and other inorganic ions on soil microbial activity: soil dehydrogenase assay as a simple toxicity test, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 34, 858-865.
- Ross, D. J., Roberts, H. S., 1970, Enzyme activities and oxygen uptakes of soil under pasture in temperature and rainfall sequences, *Eur. J. Soil Sci.*, 21, 368-381.
- Sasse, J., Martinoia, E., Northen, T., Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome?, *Trends. Plant. Sci.*, 23, 25-41.
- Sebiomo, A., Ogundero, V. W., Bankole, S. A., 2011, Effect of four herbicides on microbial population, soil organic matter and dehydrogenase activity, *African. J. Biotech.*, 10, 770-778.
- Soil information system in Korea, 2015-2020, Rural development administration, <http://soil.rda.go.kr>.
- Weather information data, 2015-2020, Korea meteorological administration, <https://data.kma.go.kr>.
- Yang, C., Liu, N., Zhang, Y., 2019, Soil aggregates regulate

the impact of soil bacterial and fungal communities on soil respiration, *Geoderma*, 337, 444-452.

-
- Researcher. Gye-Ryeong Bak
Highland Agriculture Research Institute, National Institute of Crop Science
bgl1228@korea.kr

-
- Researcher. Jeong-Tae Lee
Highland Agriculture Research Institute, National Institute of Crop Science
leejt@korea.kr
 - Researcher. Sam-Nyu Jee
Highland Agriculture Research Institute, National Institute of Crop Science
jsnimp@korea.kr