Differences in Soil Chemistry and Microbial Community between the Upland Converted from Paddy and the Existing Soybean Upland

Hyen Chung Chun¹, Sanghun Lee¹, Dong Hyeok Gong¹, Ki Youl Jung¹, Hyoen Ji Choe², Young-Nam Kim^{3*}, and Yong Bok Lee^{4*}

¹Researcher, Department of Southern Area Crop Science, NICS, RDA, Milyang 50424, Korea

²Student, Division of Applied Life Science (BK21 Four), Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

³Research Professor, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

⁴Professor, Institute of Agriculture and Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Korea

*Corresponding author: Yong Bok Lee, yblee@gnu.ac.kr

*Co-corresponding author: Young-Nam Kim, youngnam.a.kim@gmail.com

ABSTRACT

Received: October 19, 2021

Revised: November 10, 2021

Accepted: November 15, 2021

ORCID

Young-Nam Kim

<https://orcid.org/0000-0002-9745-6551>

Yong Bok Lee

<https://orcid.org/0000-0002-7651-4556>

Change in land use can alter soil chemical properties and microbial community composition that are greatly associated with the soil quality and health. In South Korea, large numbers of paddy areas have recently converted to upland fields, and various types of land management are conducting to improve the soil fertility and productivity. However, lack of studies have been reported to seek out proper soil management in uplands converted from paddies so far, and also there are few studies about soil microbial community and its relationship with soil properties in the agricultural lands. This study aimed to investigate differences in soil chemistry and microbial community structure between upland converted from paddy and existing soybean upland and to evaluate their changes according to the cultivation periods following the land use conversion. As a result, the soil chemistry and microbial community composition varied significantly with various fertilizer treatments including non-fertilizer (NF), inorganic fertilizer (NPK), and a mixture of NPK and compost (NPKC). Additionally, variations in the chemical and biological parameters were influenced by the period of farming practices following the land use conversion. Overall, the major soil factors related to the change in soil chemistry by different fertilizer treatments; in particular, organic matter (OM), available phosphate (Av. P₂O₅), and exchangeable K (Ex. K). It is likely that such differences in the chemical parameters were closely linked to the change in soil redox condition after the conversion to uplands. This may affect the formation of soil microbial community structure, directly or indirectly, throughout the whole treatments of this study. The indices of abundance/richness including abundance-based coverage estimator (ACE) and Chao and alpha diversity including Shannon and non-parametric Shannon (Np-Shannon) were in the order NPKC > NPK > NF, consistently. Also, the microbial community structure at phylum level was observed in the order of *Proteobacteria* > *Acidobacteria* > *Actinobacteria* > *Chloroflexi* > *Verrucomicrobia* > *Planctomycetes* > *Firmicutes* in the soils of this study. Among the bacterial phyla, *Acidobacteria* and *Bacteroidetes* that are aerobic and play a key role in nutrient cycling were found to increase their population as the cultivation period increased after the conversion of land use. However, despite the increase in such beneficial bacteria abundance related to nutrient cycling through the soil management for 3 years, it seems that the low availability of P in soils of all treatments and severe climatic conditions adversely affected the soybean yield. Therefore, in order to maximize the soil fertility and productivity after conversion from paddies to uplands, it is important to find out proper soil management approaches for each cropland. Also, such land management should be continuously implemented by identifying environmental factors and microbial community structures that are largely related to soil quality and health improvement.

Keywords: Crop productivity, Land use conversion, Soil bacterial community, Soil fertility, Soil management

RDA of bacterial community and chemical properties of soils with different fertilizer treatments for 3 years after conversion from paddy to upland.

Introduction

토양 생태계에서 미생물은 토양 형성, 유기물 무기화, 양분 순환, 작물 생산 등 토양 기능성이 결정됨에 있어서 아주 중요한 역할을 한다 (Yan et al., 2019). 특히, 농경지의 토양 미생물상은 작물 종, 비료 시비, 경운, 관개 등에 따라 풍부함과 다양성이 달라질 수 있으며, 이에 따른 변화가 작물 성장, 비옥도 그리고 토양 생산성에 직·간접적으로 영향을 미친다 (Li et al., 2021). 또한 토양 미생물 군집 형성에 있어서 토양 pH와 토성 등의 이화학적 특성 뿐만 아니라 토지 용도, 관리방법도 아주 중요한 요인으로 작용한다 (Jangid et al., 2008; Lauber et al., 2008). 그리고 토양환경의 다양한 내·외적 요인들로 인한 토양 미생물 군집의 변화는 전반적인 토양의 생태적 기능을 변화시킨다 (Riah-Anglet et al., 2015). 따라서 농업지의 환경적 변화에 의한 토양 미생물 군집의 반응과 그 유동성에 대한 이해도 향상은 토양 비옥도, 작물 생산성 뿐만 아니라 전반적인 농업생태계의 효율적 관리를 위해 필요하다.

일반적으로 토양 미생물 군집의 다양성 및 구조를 평가하기 위해 phospholipid fatty acids (PLFAs), denaturing gradient gelelectrophoresis (DGGE), temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) 등 다양한 분석방법이 활용되어 왔다 (Nkongolo and Narendrula-Kotha, 2020). 하지만 위의 방법들은 낮은 처리량과 경제성, 그리고 현장 모니터링 연구에 대해 제한적이므로, 이러한 단점을 보완하기 위해 최근 차세대 시퀀싱 (next generation sequencing, NGS) 기술이 개발되어 다양한 연구분야에 널리 보급·이용되고 있다 (Hou et al., 2018). 특히 국내의 농업토양 분야에서도 NGS 기술을 이용한 미생물 군집 분석을 통해, 토양의 질 및 건강성 연구가 활발히 수행되고 있다 (e.g. Kim et al., 2018a, 2020; Kang et al., 2019; Yan et al., 2019; Zhao et al., 2019; Li et al., 2021; Wang et al., 2021).

지난 수십 년간 우리나라의 음식소비 경향이 변화하면서, 쌀 소비량은 감소하는 반면 밭 작물 소비량은 급격히 증가하고 있다. 이러한 음식소비 경향의 변화에 따라, 국내의 수많은 논 농경지 면적이 쌀 공급 과잉 해소와 밭 작물 자급률의 향상을 위해 밭으로 용도 전환되고 있다. 통계청 자료에 따르면 (Statistics Korea, 2017, 2018, 2020), 전국적으로 논밭 전환으로 증가되는 밭 면적은 2016년 22.8천ha, 2017년 33.3천ha, 그리고 2019년 19천ha로 집계되었다. 하지만

논밭 전환 후 초기 밭 작물을 생산하기에 토양 조건이 매우 불량함으로 (Yoon et al., 2009), 농경지의 비옥도와 생산성을 극대화하기 위해 유·무기질 비료 시비 등 다양한 토양관리가 요구되고 있다. 논밭 전환에 의한 농경지 용도 변경과 이후 토양관리는 기존의 토양 이화학적 뿐만 아니라 미생물 군집 구조 및 다양성에 직·간접적으로 상당히 크게 영향을 미칠 것으로 사료되지만, 아직까지 국내에서는 이와 관련된 연구가 매우 부족하다. 특히, 토양 미생물 다양성과 활성이 농업토양의 질, 건강성 및 작물의 생산성을 결정하는 주요 요인임을 고려해 볼 때, 논밭 전환 농경지에서 형성되는 토양 미생물 군집 구조와 사후 토양관리에 따른 이들의 변화에 대한 연구가 시급히 필요하다고 판단된다.

본 연구는 논밭 전환지와 기존 콩 연작지간 토양 화학성 및 미생물 군집 구조의 특성 차이를 구명하고자 수행하였다. 또한, 비료처리 방법에 따른 논밭 전환지 토양의 화학적 특성 및 미생물 군집 구조 차이를 알아보고, 그 경작기간이 증가함에 따른 차이를 평가하였다.

Materials and Methods

시험포장지 설계 및 작물품종 선정 본 연구의 포장시험을 수행하기 위해, 국립식량과학원 남부작물부(밀양)의 포장시험지 중 논밭 전환지 561 m²를 선정하였다. 논밭 전환되기 이전 논 토양은 장기간 표준 시비량에 따른 무기질 비료(N-P₂O₅-K₂O = 9-4.5-5.7 kg 10a⁻¹)가 처리되어 왔다. 밭으로 전환 후 비료 무처리구(NF), 무기질 비료 3요소 처리구(NPK) 그리고 무기질 비료 및 퇴비 혼합처리구(NPKC)로 구획을 나누어 3년간 콩(품종: 대원)을 재배하였다. 각 처리구의 무기질 비료 시비는 콩 표준 시비량에 따라 3-3-3.4 (N-P₂O₅-K₂O) kg 10a⁻¹, 퇴비 시비량은 1,200 kg 10a⁻¹으로 적용하여 처리하였다. 본 연구의 시험구 배치는 분할구배치법으로 각 처리구당 3반복 시료채취를 하였다. 또한, 논밭 전환지와 토양 특성을 비교분석하기 위해 5년 이상 콩 작황이 수행된 기존의 연작지를 본 연구의 비교대상구(comparison site, CS)로 추가적으로 선정하였다. 기존의 콩 연작지 밭의 경우, 장기간 표준 시비량에 준하여 무기질 비료시비를 통해 토양관리가 이루어져 왔다. 논밭 전환지 및 기존 연작지 밭 모두 연중 단작으로 콩이 재배되었다. 파종 전 로타리 경운 및 비닐 멀칭을 하였고, 파종은 매년 6월 초·중순에 실시하였다. 재식거리는 70 × 20 cm으로

Fig. 1. Changes in rainfall and temperature during field experiments (2018 - 2020).

점파 ($5 \text{ kg } 10\text{a}^{-1}$) 하였다. 콩 수확은 개화 후 50 - 55일차에 수행하였다. 포장시험 기간 중 강수량 및 평균 기온에 대한 기후 데이터는 Fig. 1과 같다.

토양 및 식물 채취 토양시료는 콩 수확기 이후 시험포장지의 표토 (0 - 15 cm)를 채취하였으며, 논밭 전환 후 1년차와 3년차 때 수행되었다. 기존 콩 연작지 CS 토양은 논밭 전환지 토양과 비교하기 위해 전체 시험기간 중 1회 채취하였다. 채취된 토양으로부터 뿌리 등 잔유물을 제거하고 체거름 (<2 mm)한 후 생토 중 일부는 미생물 군집분석을 위해 -80°C 냉동실에 보관하였고, 나머지 토양은 화학성 분석을 위해 풍건한 뒤 플라스틱 용기에 보관하였다. 그리고 콩 수확량 평가는 수확 후 건조 탈곡을 하여 10a 당 총 수량 ($\text{kg } 10\text{a}^{-1}$)을 산출하여 수행하였다.

토양 화학성 분석 농업과학기술원 토양화학분석법 (NIAST, 2000)에 따라 토양시료의 화학적 특성을 분석하였다. 토양 pH와 전기전도도 (electrical conductivity, EC) 측정을 위해 토양과 증류수를 1:5 비율로 진탕한 후 각각 pH meter (Orion Star 2-Star, Thermo Scientific, USA)와 EC meter (Orion 3-Star, Thermo Scientific, USA)로 측정하였다. 토양 중 유기물 함량은 Tyurin법, 전질소 함량 (T-N)은 Kjeldahl법, 그리고 유효인산 (Av. P_2O_5)은 Lancaster법으로 정량하였다. 교환성 양이온 (Ex. K, Ca, Mg)은 토양시료를 1N NH_4OAc (pH 7.0)으로 추출하여 ICP-OES (OPTIMA 5300DV, PerkinElmer, USA)으로 분석하였다.

토양 미생물 군집 분석 토양시료의 Genomic DNA는 FastDNA SPIN kit (MP Biomedicals, South Korea)를 이용하여 추출하였다. 추출된 DNA는 Nanodrop ND-1000 분광광도계 (Thermo Scientific, USA)를 이용하여 정량하였다. Bacterial 16S rRNA genes은 V1-9F (5'-X-AC-GAGTTTGATCMTGGCTCAG-3')과 V3-541R (5'-X-AC-WTTACCGCGGCTGCTT-3') primers를 이용하여 증폭하였으며, 여기서 X는 7 - 11개의 nucleotide를 나타낸다 (Chun et al., 2010). PCR mixture (50 μL)는 1x PCR buffer, 0.2 mM dNTPs, 400 μM primer, 1 mg mL^{-1} bovine serum albumin (Sigma-Aldrich, USA), 1.25U *taq* polymerase (Roche, Germany) 그리고 10배 희석된 DNA template 1 μL 를 혼합하여 제조하였다. PCR 반응은 다음과 같은 조건하에서 진행되었다: 초기변성 (initial denaturation) 94°C 5분; 94°C 30초, 60°C 45초, 72°C 90초 10 cycles (annealing 온도는 cycle당 0.5°C 씩 감소); 94°C 30초, 55°C 45초, 72°C 90초 20 cycles. PCR products는 QIAquick Gel Extraction kit (QIAGEN, Germany)로 정제하였다.

Pyrosequencing은 (주)천랩 (Seoul, South Korea)에서 454 GS FLX Titanium 시퀀싱 시스템 (Roche, Branford, USA)을 이용하여 수행하였다. 계통분류 및 통계분석을 위해, 먼저 전체 Pyrosequencing read sequence 중 낮은 quality를 가지는 서열들을 제거하였다. 이후 Hidden Markov Model (HMMER 3.0 platform)을 이용하여 non-targeting 16S rRNA sequence와 chimeric sequence를 분석하여 제거한 후 taxonomic assignment를 수행하였다. 토양 미생물 (세균) 군집 분석은 CLcommunity (Chunlab, Inc., South Korea) 프로그램을 이용하여 수행하였다. Operational taxonomic units (OUTs)는 97% 서열 유사성을 기준으로 하여 CD-HIT 프로그램을 활용하여 분석하였다. 미생물 종 풍부도 및 종 다양성 분석을 위해 MOTHUR platform을 이용하였다.

통계 분석 본 연구의 분석자료는 R 프로그램 (version 3.3.3)을 이용하여 통계 분석하였다. 비료처리구 및 경작기간 사이 토양 화학성, 미생물 종 풍부도 및 다양성 그리고 콩 수확량의 통계적 차이 유의성을 평가하기 위해 일원분산

분석 (One-way ANOVA) 및 사후분석 (Fisher's LSD)을 실시하였다. 또한, 비료처리구, 경작기간 및 이들의 상호작용 효과에 따른 토양인자 변화의 차이를 알아보기 위해 이원분산분석 (Two-way ANOVA)를 실시하였다. 토양 화학성 인자와 콩 수확량간 상관관계를 평가하기 위해 Pearson correlation test를 수행하였다. 미생물 종 풍부도 (species richness/abundance)는 abundance-based coverage estimator (ACE)와 Chao, 미생물 종 다양성 (alpha diversity)은 Shannon과 non-parametric Shannon (Np-Shannon) 지표를 이용하여 평가하였다. 토양 미생물 군집 구조와 토양 화학성 인자간 연관성을 평가하기 위해 다변수 통계방법인 Redundancy analysis (RDA)를 이용하였다. 도표에서 비료 처리구는 점 (point)으로, 토양 미생물 문 (phylum)과 토양 환경인자는 각각 점선과 실선 화살표로 표시되며, 각 미생물 문의 증감과 환경변수간 선행적 비례정도를 나타낸다. RDA 분석은 R 프로그램의 Vegan 패키지를 이용하였다.

Results and Discussion

비료 종류 및 경작기간에 따른 토양 화학성 차이 논밭 전환 후 1년차 경작토양의 화학성은 비료 처리구에 따라 차이를 보였다 (Table 1). 토양 pH는 NPK보다 NF와 NPKC 처리구에서 상대적으로 높았지만, 모든 처리구의 pH 값 (6.08 - 6.45)은 콩 작황지 CS 처리구 (pH 7.11)보다 상당히 낮았다 ($p < 0.05$). 토양 전기전도도의 경우, 비료 처리구간 차이는 없었지만 CS 토양의 EC 값보다 모든 논밭 전환지에서 더 높았다. 특히, NPKC 처리구에서 가장 높은 EC 값이 측정되었으며, 이는 시비된 무기질 비료영양 뿐만 아니라 퇴비의 무기화 과정에서 나온 염이온에 의한 것으로 사료된다 (Kim et al., 2018b).

논밭 전환지 토양 중 유기물 함량은 NPKC (24.7 g kg^{-1}) > NPK (23.9 g kg^{-1}) > NF (22.0 g kg^{-1}) 처리구 순으로 많았으며, 모든 처리구의 값은 CS 토양 (20.3 g kg^{-1})보다는 상당히 많았다 ($p < 0.05$). 전질소 함량 또한 비료 처리구간

Table 1. Chemical properties of soils converted from paddies to soybean-growing uplands with different fertilizer treatments such as non-fertilizer (NF), inorganic fertilizer (NPK), and NPK + compost (NPKC). Each treatments had different periods of farming practice since land use conversion (1 and 3 years) and comparing site (CS) with history of land use as a soybean-growing upland for more than 5 years included. Data indicate mean of each treatment ($n = 3$) and same letters in each column represent no significant difference among the treatments (LSD, $p < 0.05$).

Treatment	Period (year)	pH _{1:5w}	EC (dS m ⁻¹)	OM (g kg ⁻¹)	T-N (%)	Av. P ₂ O ₅ (mg kg ⁻¹)	Exchangeable (cmol _c kg ⁻¹)			C/N
							K	Ca	Mg	
CS	>5	7.11 a	0.23 d	20.3 c	0.10 c	255.67 a	0.45 b	6.71 a	1.18 e	14.5 a
NF	1	6.34 bc	0.31 bc	22.0 b	0.14 c	57.77 cd	0.21 c	5.89 cd	1.50 c	11.7 b
	3	6.23 c	0.26 cd	17.0 d	0.18 a	39.57 e	0.18 c	6.59 ab	1.67 b	6.4 d
NPK	1	6.25 c	0.30 bc	23.9 a	0.19 a	59.47 c	0.22 c	5.70 d	1.40 d	8.5 c
	3	6.08 d	0.28 bcd	17.5 d	0.17 a	48.77 de	0.22 c	6.31 abc	1.71 b	6.9 cd
NPKC	1	6.45 b	0.34 b	24.7 a	0.20 a	84.07 b	0.53 b	6.11 bcd	1.54 c	8.3 cd
	3	6.25 c	0.44 a	19.2 c	0.20 a	82.40 b	0.64 a	6.40 ab	1.91 a	6.6 cd
Recommendation by RDA		6.5 - 7.0	-	20 - 30	-	150 - 250	0.45 - 0.55	6.0 - 7.0	2.0 - 2.5	-
Two-way ANOVA										
Treatment		**	ns	***	ns	**	ns	**	***	***
Period		***	***	***	*	***	***	ns	***	ns
Interaction		ns	**	ns	ns	ns	ns	ns	*	ns

차이가 OM과 유사한 경향을 보였다. 유효인산의 경우, CS 토양 (256 mg kg^{-1})에 비해 모든 비료처리구 토양에서 Av. P_2O_5 값이 0.23 - 0.33배 더 낮았으며, 그 중 NPKC 처리구 (84 mg kg^{-1})가 가장 높은 값이 나타났다. 교환성 칼륨농도는 NF와 NPK 토양보다 NPKC에서 두 배 이상 높았으며, 이는 본 연구결과 중에 퇴비시비에 의한 가장 뚜렷한 변화로 보였다. 이와 유사한 결과가 교환성 칼슘과 마그네슘 농도에서도 확인되었으며, 이 모든 교환성 양이온 농도 값은 NPKC 처리구에서만 콩 재배 적정수준 범위 내 또는 가장 근접함을 보였다. C/N의 경우, CS (14.5) > NF (11.7) > NPK (8.5) > NPKC (8.3) 순으로 나타났다.

그리고 논밭 전환 후 콩 경작기간 증가에 따른 토양 화학성 변화가 관찰되었다 (Table 1). 모든 처리구의 토양 pH는 밭 전환 1년차보다 3년차에서 더 낮았으며, 그 감소폭은 통계적으로 유의하였다 ($p < 0.05$). 토양 유기물함량 또한 밭 전환 후 경작연수가 증가할수록 감소하는 경향을 보였고, 감소한 유기물 함량의 범위는 $5.0 - 6.4 \text{ g kg}^{-1}$ 로 모든 처리구에서 유사하게 나타났다. 전질소의 경우, NPK 및 NPKC 처리구가 질소질 비료가 첨가되지 않은 NF 처리구보다 상당히 더 높은 T-N 값을 보였다 ($p < 0.05$). 그리고 NF 처리구에서 밭 경작기간 증가에 따른 T-N 값의 유의한 증가 ($0.14 \rightarrow 0.18\%$)를 확인할 수 있었다. 이는 장기간 콩 경작에 의한 콩 뿌리-뿌리혹 박테리아의 질소고정 효과 (Rodríguez-Navarro et al., 2011)의 증가 영향으로 사료된다. 반면, NPK 및 NPKC 처리구의 경우, 요소와 퇴비 투입으로 인한 인위적인 질소 공급이 뿌리혹 박테리아와의 공생 질소고정 효과를 감소시키는 것으로 사료되며 (Dogra and Dudeja, 1993; Reinprecht et al., 2020), 이로 인해 NF 처리구와는 달리 경작기간의 증가에 따라 T-N 값이 감소 또는 그수준을 유지한 것으로 보인다. 또한 밭 전환 후 경작기간 증가에 따른 유기물 및 전질소 함량의 이러한 변화는 모든 처리구의 C/N 감소에 영향을 미친 것으로 보인다.

전반적으로 유효인산은 밭 전환 3년차 토양에서 더 낮은 값이 관찰되었고, 그 감소폭은 NF > NPK > NPKC 순으로 나타났다. NPKC 처리구에서의 연차별 토양 유효인산 농도 차이에는 통계적으로 유의성이 없었으며 ($p > 0.05$), 이는 시비된 퇴비에 포함된 인의 공급에 의한 영향으로 사료된다. 반면 NPK 처리구의 경우, 무기질 인산비료가 지속적으로 처리되었음에도 불구하고 토양 중 Av. P_2O_5 값에서 통계적으로 유의한 감소가 관찰되었는데, 이는 표준 시비량

Fig. 2. Yield of soybean in soils with different fertilizer treatments including non-fertilization (NF), inorganic fertilization (NPK), and inorganic and organic fertilization (NPKC) during three years. Comparing sites (CS) with history of land use as a soybean-growing upland for more than 5 years included. Data indicate mean of each treatment and standard deviation ($n = 3$). Same letters represent no significant difference among the treatments (LSD, $p < 0.05$).

보다는 시비처방에 따른 인산비료 공급이 필요한 것을 보여준다. 또한 유효인산 감소의 또 다른 이유로는 밭 전환 이전의 기존 농토양에 함유되어 있던 유효태 인의 공급원이 논밭 전환 후 호기조건 상태에 지속적으로 노출되면서 그 유효도가 점차 감소되어 비롯된 것으로 보인다 (Zhou et al., 2014). 이와 같이 포장시험 기간 동안 논밭 전환지 토양의 낮은 유효인산 농도는 콩 수확량에도 영향을 미친 것으로 사료되며, 실제로 모든 처리구 (NF, NPK, NPKC)의 3년차 토양 중 유효인산 농도가 1년차에 비해 각각 18, 37, 19%로 감소하였다 (Fig. 2). 하지만 재배시험 3년간 지속적으로 비료가 시비되었음을 감안할 때, 유효인산의 부족 뿐만 아니라 다른 환경요인에 영향을 받은 것으로 보였다. 이에 기상자료를 살펴본 결과, 포장시험 3년차 기간 중 7월의 강수량이 다른 년도에 비해 2배 이상 많은 것으로 나타났으며, 평균기온 또한 2 - 4°C 정도 낮았다 (Fig. 1). 따라서 이러한 기상요인의 악조건이 3년차의 모든 처리구 콩 생산량에 악 영향을 미친 것으로 판단된다. 전반적으로 콩 수확량은 토양 pH ($r = 0.77, p < 0.001$), 유기물 ($r = 0.61, p < 0.01$) 그리고 유효인산 ($r = 0.70, p < 0.01$)과 양의 상관관계를 보였다 (Table 2).

Table 2. Correlation coefficient (r) of soybean yield and soil properties.

Parameter	r	P value
pH	0.770	<0.001
T-N	-0.393	0.078
EC	-0.324	0.152
OM	0.609	0.003
Av. P ₂ O ₅	0.698	<0.001
Ex. K	0.226	0.325
Ex. Ca	-0.078	0.738
Ex. Mg	-0.813	<0.001

비료 종류 및 경작기간에 따른 토양 미생물 풍부도와 다양성 지수 차이 논밭 전환 1년차 모든 처리구의 밭 토양에서 관찰된 총 유효 sequences 수는 81,660, 조작분류단위인 OTUs (operational taxonomic units) 수는 9,375 이었다. 또한 공통적으로 두 수치는 NPKC > NPK > NF 처리구 순으로 높았다 (Table 3). 총 풍부도 (diversity richness)를 나타내는 지수인 ACE와 Chao는 NPKC > NPK > NF 순으로, 알파 다양성 (alpha diversity) 지수인 Shannon과 Np-Shannon 값은 NPKC = NPK > NF 순으로 높았다. Phylogenetic diversity는 NPKC > NPK > NF 순으로 높았다. 위 결과를 종합해보면, 토양 중 미생물 중 풍부도와 다양성은 무기질 비료 (NPK)와 퇴비 (compost) 시비에 의해 확연히 영향을 받는 것으로 사료되며, 이와 유사한 연구결과가 Hartmann et al. (2015)과 Li et al. (2021)에 의해 보고된 바 있다.

토양 화학성과 같이, 논밭 전환 후 콩 경작기간에 따른 토양 미생물의 풍부도와 다양성 변화가 확인되었다 (Table 3). 논밭 전환 후 1, 3년차 토양의 모든 미생물 군집 관련 지수 (OTUs, ACE, Chao, Shannon, Np-Shannon, phylogenetic diversity)를 비교해 본 결과, 모든 지수가 공통적으로 1년차에서보다 3년차 토양에서 통계적으로 유의하게 높았다 ($p < 0.05$). 이는 장기간 양분 및 유기물의 투입으로 인한 영향 뿐만 아니라 논밭 전환지 토양 중 호기성 미생물인 *Acidobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* 등의 밀도 (population) 및 활성 증가에 따른 변화가 그 원인으로 보인다 (Yan et al., 2019).

Table 3. Abundance and diversity of bacteria in soils converted from paddies to soybean-growing uplands with different fertilization treatments such as non-fertilizer (NF), inorganic fertilizer (NPK), and NPK + compost (NPKC). Each treatments had different periods of farming practice since land use conversion (1 and 3 years) and comparing site (CS) with history of land use as a soybean-growing upland for more than 5 years included. Data indicate mean of each treatment (n = 3), and same letters in each column represent no significant difference among the treatments (LSD, $p < 0.05$).

Treatment	Period (year)	Target reads	OTUs	ACE [†]	Chao [†]	Shannon [‡]	Np-Shannon [‡]	Phylogenetic diversity
CS	>5	46,072 ab	5,141 a	5,418 a	5,300 a	7.42 a	7.50 a	5,753 a
NF	1	22,718 d	2,851 e	3,443 e	3,246 e	6.89 e	7.01 e	3,887 e
	3	50,084 a	4,299 b	4,891 b	4,662 b	7.13 b	7.22 b	5,218 b
NPK	1	28,559 c	3,232 d	3,811 de	3,618 d	7.00 d	7.11 cd	4,246 d
	3	44,068 b	3,824 c	4,344 c	4,125 c	7.01 cd	7.10 cde	4,707 c
NPKC	1	30,383 c	3,292 d	3,846 d	3,650 d	6.96 de	7.07 de	4,322 d
	3	46,535 ab	4,115 bc	4,679 bc	4,455 bc	7.10 bc	7.19 bc	4,994 bc

[†] Richness/abundance indices.

[‡] Alpha diversity indices.

비료 종류 및 경작기간에 따른 토양 미생물 군집구조 차이 Fig. 3은 문(phylum) 수준에서 다른 비료 처리 및 경작기간에 따른 미생물 군집 구조의 상대적 풍부도 차이를 보여준다. 본 연구 시험포장지 토양에서는 전반적으로 *Proteobacteria* > *Acidobacteria* > *Actinobacteria* > *Chloroflexi* > *Verrucomicrobia* > *Planctomycetes* > *Firmicutes* 등의 순으로 미생물 군집 구조가 관찰되었다 (Table 4). *Proteobacteria*는 Gram-negative 세균으로 농업 토양생태계에서 가장 우점적 미생물 그룹으로 알려져 있으며, 탄소, 질소, 황 순환과 같은 토양 기능에 기여도가 높다 (Mhete et al., 2020). 또한 *Actinobacteria* 문도 대부분 Gram-negative 세균으로 구성되어 있으며, cellulose, chitin 및 humus 등 다양한 형태의 토양 유기물 분해와 탄소 순환에 중요한 역할을 한다 (Shivlata and Satyanarayana, 2015; Anandan et al., 2016). 반면 *Firmicutes* 문은 대부분 인간의 병원균과 관련이 높은 미생물이 포함되는 것으로 알려져 있다 (Mhete et al., 2020).

농경지 토양에서의 무기질 비료 및 유기물 사용은 토양 미생물 군집의 풍부도와 다양성에 직접적으로 영향을 미칠 뿐만 아니라 이러한 토양 관리의 기간이 길어질수록 토양 미생물, 특히 세균 군집 구조 변화를 더 큰 영향을 준다 (Hartmann et al., 2015). 본 연구에서는 논밭 전환 1년차때, 비료 처리구간 토양 미생물 군집 풍부도의 상대적 차이가 없었지만, 콩 작황지인 CS와는 확연한 차이를 보였다 (Fig. 3). 특히, 논밭 전환지의 모든 처리구 토양에서 호기성 미생물인 *Acidobacteria*, *Bacteroidetes* 및 *Proteobacteria* 문의 풍부도가 CS 처리구보다 상대적으로 더 낮았는데, 이는 논밭 전환지와 기존 콩 작황지 토양간 산화/환원 조건 차이에서 기인된 것으로 사료된다.

토양 물리성, 양분 순환 등 토양 이화학적 특성은 토양 중 수분함량에 따른 산화/환원 조건에 따라 달라지며, 이에 의한 토양 기능의 변화가 토양 미생물 군집 구조 형성 및 활성에 영향을 미친다 (Hou et al., 2018). 본 연구에서는 논밭 전환에 따라 농경지 토양이 혐기성에서 호기성으로 변화되었으며, 밭 경작기간이 증가하면서 토양 산소포화도가 더 향상되어, 이로 인해 호기성 미생물인 *Acidobacteria*, *Bacteroidetes* 및 *Proteobacteria* 등의 밀도가 증가한 것으로 사료된다. 이 세균들은 토양 탄소 무기화 및 순환에 중요한 역할을 하는 것으로 잘 알려져 있다 (Kalam et al., 2020; Wang et al., 2021). Keiluweit et al. (2017)의 보고에 따르면, 혐기에서 호기로 토양 조건이 변화되면 토양 중 탄소 무기화율은 10배 증가된다. 따라서 이러한 점을 고려해 볼 때, 본 연구에서 논밭 전환 후 장기간의 밭 경작활동이 토양의

산소포화도를 향상시키고, 이로 인해 증가된 유익한 토양 호기성 미생물군이 토양 중 유기물 무기화를 촉진 그리고 양분 유효도를 증가시키는 것으로 판단된다. 이를 뒷받침하는 결과로 본 연구에서는 모든 처리구에서 경작기간 증가에 따라 유기물 함량은 감소한 반면 양분 유효도는 증가되었다 (Table 1).

반면 본 연구에서는 증가된 토양 호기성에 따른 감소된 미생물군이 관찰되었다. 세균 문 중 혐기성 미생물인 *Firmicutes* (Malele et al., 2018)은 모든 처리구에서 논밭 전환 후 경작기간이 증가함에 따라 확연히 감소하였다 (Table 3). 특히, *Firmicutes* 문 중 *Clostridium* 속의 미생물 종은 인간과 동물의 몇 가지 심각한 질병을 일으키는 병원균 (e.g. 보툴리누스 중독, 파상풍, 흑색병, 식중독)으로 알려져 있으며 (Gibbs, 2009), 본 연구에서는 논밭 전환 및 장기간 밭 경작수행에 의해 *Clostridium* 속 분포가 감소하는 것을 확인할 수 있었다. 또한 대부분 호기성 미생물로 알려진 *Actinobacteria* (Anandan et al., 2016)은 *Firmicutes*와 같이 밭 경작기간에 따라 감소하였는데, 이 세균 문의 *Actinomyces*와 같은 일부 혐기성 미생물 속 (genus)의 감소로 인한 영향인 것으로 사료된다 (Bowden, 1996).

*Chloroflexi*와 *Planctomycetes* 문의 세균은 논밭 전환 후 경작기간이 증가함에 따라 NPK, NPKC보다 NF 처리구 토양에서 이들의 증가율이 훨씬 높은 것으로 관찰되었다 (Table 4): NF (2.5배), NPK (<1.9배), NPKC (<1.9배). 그 원인으로 *Chloroflexi*와 *Planctomycetes*는 빈영양미생물 (oligotrophic microorganism)로 저농도 영양조건에서 증식이 활발해지는 특성을 지니고 있기 때문에 (Zhao et al., 2019), 무기질 비료와 퇴비가 처리된 토양 (NPK, NPKC)에 비해 무처리구 토양 (NF)에서 상대적으로 더 많은 population이 형성된 것으로 사료되며, 심지어 이들 세균의 모든 population은 콩 작황지 토양 (CS)보다 더 높았다.

Fig. 3. Relative read abundance of different microbial community structure at the phylum level in soils with different fertilizer treatments including non-fertilization (NF), inorganic fertilization (NPK), and inorganic and organic fertilization (NPKC) during three years. Comparing sites (CS) with history of land use as a soybean-growing upland for more than 5 years included.

Table 4. Total sequence number of bacteria at the phylum level in soils with different fertilizer treatments including non-fertilization (NF), inorganic fertilization (NPK), and inorganic and organic fertilization (NPKC) during three years. Comparing sites (CS) with history of land use as a soybean-growing upland for more than 5 years included.

Phylum	NF		NPK		NPKC		CS
	1YR	3YR	1YR	3YR	1YR	3YR	>5YR
<i>Acidobacteria</i>	3,739	9,366	5,097	8,746	4,832	8,786	11,862
<i>Actinobacteria</i>	3,529	4,452	3,887	2,957	5,049	4,470	8,062
<i>Aminicenantes_OP8</i>	14	19	22	15	22	15	-
<i>Armatimonadetes</i>	221	546	356	447	319	564	-
<i>Bacteroidetes</i>	465	1,424	560	1,200	537	1,303	3,733
<i>Chlorobi</i>	62	194	94	223	83	113	128
<i>Chloroflexi</i>	2,879	7,268	3,764	7,242	3,285	6,322	5,565
<i>Cyanobacteria</i>	35	61	43	46	34	47	204
<i>Elusimicrobia</i>	21	63	26	29	28	53	110
<i>Fibrobacteres</i>	3	3	4	3	12	7	43
<i>Firmicutes</i>	629	563	643	573	1,018	465	2,620
<i>Gemmatimonadetes</i>	738	1,951	1,090	1,752	1,038	2,298	3,597
<i>Latescibacteria_WS3</i>	151	706	187	806	165	484	608
<i>Nitrospirae</i>	278	1,397	387	1,281	308	938	986
<i>Omnitrophica_OP3</i>	1	7	3	3	3	2	5
<i>Planctomycetes</i>	686	1,689	863	1,443	1,087	1,673	1,395
<i>Proteobacteria</i>	5,974	13,209	7,386	10,900	8,082	12,073	19,667
<i>Spirochaetes</i>	3	30	10	28	6	19	-
<i>Tenericutes</i>	1	18	3	1	4	5	5
<i>Verrucomicrobia</i>	900	2,120	1,191	1,795	1,206	2,205	2,146

토양 미생물 군집구조와 토양 인자과의 연관관계 Fig. 4는 미생물 (세균) 군집 구조와 토양 화학성 인자간 연관성을 다변수 통계분석법인 RDA로 분석한 결과를 보여준다. 비료 처리구 3가지 (토양채취 시점 2가지 및 반복수 3개) 및 CS 토양 3개를 포함하여 총 21개의 토양시료를 대상으로 *Actinobacteria*를 포함한 20개 그룹으로 나누어 통계분석을 실시하였다. 토양 미생물 군집구조에 영향을 주는 매개변수로는 pH, T-N, EC, OM, Av. P₂O₅, Ex. Ca, Ex. Mg 및 C/N으로 총 8개 변수가 이용되었다. 이 중 통계적으로 유의한 변수 ($p < 0.05$)는 OM과 Ex. K을 제외한 6개의 토양 변수가 미생물 군집구조에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 특히, RDA1 축 (37% variance)을 따라 비료 처리 방법에 따른 차이로 그룹이 형성이 되었고, RDA2 축 (32% variance)을 따라서는 CS와 논밭 전환기간 특성 차이를 나타냈다. Table 4의 결과를 토대로 보았을 때, CS 토양특성은 *Bacteroidetes*, *Elusimicrobia*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, *Fibrobacteres*, *Cyanobacteria* 등 분포와 연관성이 높은 것을 알 수 있었다. 논밭 전환지의 경우, NF와 NPKC 토양특성은 *Planctomycetes*와 *Armatimonadetes*, NPK 토양특성은 *Chlorobi*의 분포와 관련이 있는 것을 확인할 수 있었으며, 이러한 경향은 3년차 토양시료에서 나타났다. 또한 이와 같은 각 처리구의 미생물 군집 구조 분포는 토양의 화학성 인자와 높은 연관성이 있음을 확인할 수 있었다 (Fig. 4). CS 토양의 경우, pH, 유효인산 및 C/N율이 미생물 군집 구조 형성에 주요 요인으로 나타났으며, 비료 처리구간 (NF, NPKC vs NPK) 토양 미생물 군집 구조 차이는

Mg, EC, Ca 및 K의 토양인자와의 상관관계 경향에 따라 구분되는 것으로 나타났다. 또한, 논밭 전환 후 경작기간 증가에 따른 미생물 군집 구조 변화는 RDA1 축에 따라 나타났는데, 이는 장기간 밭 경작수행에 따른 교환성 양이온 (Mg, Ca 및 K)의 변화가 미생물 군집 구조 형성에 밀접한 영향을 미친 것으로 판단된다.

Fig. 4. Result of redundancy analysis (RDA) illustrating the relationships between the dominant bacterial phyla (dashed line) and soil chemical properties (solid line) measured in the present study.

Conclusions

본 연구에서는 논밭 전환 후 다양한 비료처리를 통한 토양관리와 그 경작기간에 따라 토양 화학성 및 미생물 군집 구조 형성이 확연히 달라지는 것을 확인할 수 있었다. 다양한 비료 처리에 의한 처리구간 토양 pH, 유기물, 유효인산, 교환성 칼슘과 마그네슘 및 C/N율의 상당한 차이가 있었고, 이 중 pH, 유기물, 유효인산, 교환성 마그네슘은 경작기간에 따라 큰 변화를 보였다. 이러한 토양 화학성의 차이와 시간적 변화는 논밭 전환 후 토양 산화환원 조건 변화와 밀접한 연관이 있는 것으로 보이며, 이로 인해 토양 미생물 군집 구조 형성에도 직·간접적으로 영향을 미친 것으로 사료된다. 종 풍부도 및 다양성은 NPKC > NPK > NF 순이었고, 우점 세균 문은 *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Chloroflexi*이었다. 특히 논밭 전환 후 밭 경작기간의 증가에 따른 호기성 세균 *Acidobacteria* 및 *Bacteroidetes*의 분포도 증가는 토양 유기물 분해 촉진과 양분 유효도 증가에 영향을 준 것으로 판단된다. 하지만 본 연구에서는 3년 동안의 꾸준한 비료 사용에도 불구하고, NPK 및 NPKC 토양의 낮은 유효 인산 함량이 콩 수확량에 악영향을 미친 것으로 사료된다. 따라서, 논밭 전환 후 토양 비옥도 및 생산성을 극대화하기 위해서는 시비처방에 따른 적절한 비료시비를 통해 토양관리 방법이 적용될 필요가 있으며, 토양 질과 건강성 향상과 관련된 환경적 요인과 미생물 군집 구조를 밝혀내어 경작지 토양을 지속적으로 관리하는 것이 필요하다.

Acknowledgement

본 논문은 농촌진흥청 연구사업 (과제번호: PJ014871022021)의 지원에 의해 이루어진 것임.

References

- Anandan, R., D. Dharumadurai, and G.P. Manogaran. 2016. An introduction to actinobacteria. p. 3-37. In D. Dhana-sekaran et al. (ed.) *Actinobacteria - Basics and Biotechnological Applications*. IntechOpen, London, UK.
- Bowden, G.H.W. 1996. *Actinomyces*, *Propionibacterium propionicus*, and *Streptomyces*. p. 34. In S. Baron (ed.) *Medical Microbiology*, 4th ed. University of Texas Medical Branch, Galveston, USA.
- Chun, J., K. Kim, J.H. Lee, and Y. Choi. 2010. The analysis of oral microbial communities of wild-type and toll-like receptor 2-deficient mice using a 454 GS FLX titanium pyrosequencer. *BMC Microbiol.* 10:101.
- Dogra, R.C. and S.S. Dudeja. 1993. Fertilizer N and nitrogen fixation in legume-*Rhizobium* symbiosis. *Ann. Biol.* 9:149-164.
- Gibbs, P.A. 2009. Pathogenic *clostridium* species. p. 820-843. In C.deW. Blackburn et al. (ed.) *Foodborne Pathogens*. Woodhead Publishing, Cambridge, UK.
- Hartmann, M., B. Frey, J. Mayer, P. Mäder, and F. Widmer. 2015. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *ISME J.* 9(5):1177-1194.
- Hou, P.F., C.H. Chien, Y.F. Chiang-Hsieh, K.C. Tseng, C.N. Chow, H.J. Huang, and W.C. Chang. 2018. Paddy-upland rotation for sustainable agriculture with regards to diverse soil microbial community. *Sci. Rep.* 8:7966.
- Jangid, K., M.A. Williams, A.J. Franzluebbers, J.S. Sanderlin, J.H. Reeves, M.B. Jenkins, D.M. Endale, D.C. Coleman, and W.B. Whitman. 2008. Relative impacts of land-use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems. *Soil Biol. Biochem.* 40(11):2843-2853.
- Kalam, S., A. Basu, I. Ahmad, R.Z. Sayyed, H.A. El-Enshasy, D.J. Dailin, and N.L. Suriani. 2020. Recent understanding of soil Acidobacteria and their ecological significance: A critical review. *Front. Microbiol.* 11:580024.
- Kang, H.J., S.N. Yang, K.C. Song, Y.Y. Cho, and Y.K. Kim. 2019. Soil chemistry property and microbial community under organic and conventional radish farming systems. *Korean J. Org. Agric.* 27:479-499.
- Keiluweit, M., T. Wanzek, M. Kleber, P. Nico, and S. Fendorf. 2017. Anaerobic microsites have an unaccounted role in soil carbon stabilization. *Nat. Commun.* 8:1771.
- Kim, E.Y., Y.K. Hong, C.H. Lee, T.K. Oh, and S.C. Kim. 2018b. Effect of organic compost manufactured with vegetable waste on nutrient supply and phytotoxicity. *Appl. Biol. Chem.* 61(5):509-521.
- Kim, S.Y., J.H. An, K.H. Park, S.Y. Lee, H.Y. Weon, M.K. Sang, J.H. Lee, and J. Song. 2020. Effect of *Bacillus* CC112 inoculation on fungal pathogens and soil microbial community in a ginseng-cultivated soil. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 53:128-139.
- Kim, Y., S.Y. Kim, J.H. An, M.J. Sang, H.Y. Weon, and J. Song. 2018a. Changes in resident soil bacterial communities in response to inoculation of soil with beneficial *Bacillus* spp. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* 46:253-260.
- Lauber, C.L., M.S. Strickland, M.A. Bradford, and N. Fierer. 2008. The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types. *Soil Biol. Biochem.* 40(9):2407-2415.
- Li, C., L. Shi, H. Tang, K. Cheng, L. Wen, W. Li, X. Xiao, and K. Wang. 2021. Organic manure management increases soil microbial community structure and diversity in the double-cropping rice paddy field of Southern China. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 52(11):1224-1235.
- Malele, I., H. Nyngilili, E. Lyaruu, M. Tauzin, B.B. Ollivier, J.L. Cayol, M. Fardeau, and A. Geiger. 2018. Bacterial diversity obtained by culturable approaches in the gut of *Glossina pallidipes* population from a non sleeping

- sickness focus in Tanzania: Preliminary results. *BMC Microbiol.* 18(1):107-116.
- Mhete, M., P.N. Eze, T.O. Rahube, and F.O. Akinyemi. 2020. Soil properties influence bacterial abundance and diversity under different land-use regimes in semi-arid environments. *Sci. Afr.* 7:e00246.
- NIAST. 2000. Methods of analysis of soil and plant. RDA, Suwon, Korea.
- Nkongolo, K.K. and R. Narendrula-Kotha. 2020. Advances in monitoring soil microbial community dynamic and function. *J. Appl. Genet.* 61:249-263.
- Reinprecht, Y., L. Schram, F. Marsolais, T.H. Smith, B. Hill, and K.P. Pauls. 2020. Effects of nitrogen application on nitrogen fixation in common bean production. *Front. Plant Sci.* 11:1172.
- Riah-Anglet, W., I. Trinsoutrot-Gattin, F. Martin-Laurent, E. Laroche-Ajzenberg, M.P. Norini, X. Latour, and K. Laval. 2015. Soil microbial community structure and function relationships: A heat stress experiment. *Appl. Soil Ecol.* 86:121-130.
- Rodríguez-Navarro, D.N., I.M. Oliver, M.A. Contreras, and J.E. Ruiz-Sainz. 2011. Soybean interactions with soil microbes, agronomical and molecular aspects. *Agron. Sustain. Dev.* 31(1):173-190.
- Shivlata, L. and T. Satyanarayana. 2015. Thermophilic and alkaliphilic *Actinobacteria*: Biology and potential applications. *Front. Microbiol.* 6:1014.
- Statistics Korea. 2017. Agricultural area survey in 2016. Statistics Korea, Daejeon, Korea.
- Statistics Korea. 2018. Agricultural area survey in 2017. Statistics Korea, Daejeon, Korea.
- Statistics Korea. 2020. Agricultural area survey in 2019. Statistics Korea, Daejeon, Korea.
- Wang, E., X. Lin, L. Tian, X. Wang, L. Ji, F. Jin, and C. Tian. 2021. Effects of short-term rice straw return on the soil microbial community. *Agriculture* 11(6):561.
- Yan, H., F. Yang, J. Gao, Z. Peng, and W. Chen. 2019. Subsoil microbial community responses to air exposure and legume growth depend on soil properties across different depths. *Sci. Rep.* 9(1):18536.
- Yoon, E.S., K.Y. Jung, K.D. Park, J.Y. Ko, J.S. Lee, and S.T. Park. 2009. Changes in the soil physical properties of vineyard converted from paddy field. *Korean J. Soil Sci. Fert.* 42(3):145-151.
- Zhao, S., S. Qiu, X. Xu, I.A. Ciampitti, S. Zhang, and P. He. 2019. Change in straw decomposition rate and soil microbial community composition after straw addition in different long-term fertilization soils. *Appl. Soil Ecol.* 138:123-133.
- Zhou, W., T.F. Lv, Y. Chen, A.P. Westby, and W.J. Ren. 2014. Soil physicochemical and biological properties of paddy-upland rotation: A review. *Sci. World J.* 2014:856352.