

## 토양세균군집과 산양삼 생육특성 간의 상관관계 연구

김기윤, 엄유리, 정대희, 김현준, 김만조, 전권석\*

국립산림과학원 산림약용자원연구소

### Study on the correlation between the soil bacterial community and growth characteristics of wild-simulated ginseng (*Panax ginseng* C.A. Meyer)

Kiyoon Kim, Yurry Um, Dae Hui Jeong, Hyun-Jun Kim, Mahn Jo Kim and Kwon Seok Jeon\*

Forest Medicinal Resources Research Center, National Institute of Forest Science, Yeongju 36040, Republic of Korea

**\*Corresponding author**

Kwon Seok Jeon  
Tel. 054-630-5641  
E-mail. jks2029@korea.kr

**Received:** 22 August 2019

**Revised:** 16 September 2019

**Revision accepted:** 17 September 2019

**Abstract:** The studies regarding soil bacterial community and correlation analysis of wild-simulated ginseng cultivation area are insufficient. The purpose of this study was to investigate the correlation between soil bacterial community and growth characteristics of wild-simulated ginseng for selection of suitable cultivation area. The bacterial community was investigated by high throughput sequencing technique (Illumina platform). The correlation coefficient between soil bacterial community and growth characteristics were analyzed using Spearman's rank correlation. The soil bacterial community from soil samples of 8 different wild-simulated ginseng cultivated area exhibited two distinct clusters, cluster 1 and cluster 2. The relative abundance of *Proteobacteria* (35.4%) and *Alphaproteobacteria* (24.4%) was observed to be highest in all soil samples. The lower soil pH and higher abundance of *Acidobacteria* resulted in increased growth of wild-simulated ginseng. Additionally, abundance of *Acidobacteriia* (class) and *Koribacteraceae* (family) demonstrated significant positive correlation with fresh weight of wild-simulated ginseng. The results of this study clearly state the correlation between growth characteristic and soil bacterial community of wild-simulated ginseng cultivation area, thereby offering effective insight into selection of suitable cultivation area of wild-simulated ginseng.

**Keywords:** *Panax ginseng* C.A. Meyer, correlation analysis, pyrosequencing analysis, soil bacterial community, wild-simulated ginseng

## 서 론

산양삼이란 산림청에서 2012년부터 ‘임간에서 인위적으로 종자나 묘삼을 파종하고 이식하여 재배한 인삼’으로 정의하고 부르도록 규정하였고(Lee 2011), [산양삼에 관

한 품질관리 요령]에서는 [산지관리법] 제2조 제1호의 산지에서 차광막 등 인공시설을 설치하지 아니하고 생산되는 삼을 산양삼으로 정의하고 있다. 미국 West Virginia 입법부에서 인가한 제정법에서는 ‘준비된 두둑 없이, 그리고 제조제 혹은 병해나 해충방제 약품 없이 의도적으로 숲에

심은 인삼'으로 정의하고 있다. 영문명은 Wild-simulated ginseng이고, 학명은 *Panax ginseng* C.A. Meyer로 표기한다.

식물은 성장하는 과정에서 가뭄(Lipied *et al.* 2013), 온도(Hatfield and Prueger 2015), 염분(Selvakumar *et al.* 2014), 중금속(Tekaya *et al.* 2014), 병원균(Denancé *et al.* 2013) 등과 같은 생물학적(Biotic) 및 비생물학적(Abiotic) 스트레스에 노출되고, 이는 식물의 성장과 생산량에 심각한 영향을 주게 된다(Ramegowda and Senthil-kumar 2015; Pandey *et al.* 2017). 토양미생물(Soil bacteria)은 식물의 근권(Rhizosphere)에서 공생하면서 유기물 분해, 양분순환, 오염물질 제거, 식물에게 양분을 공급하는 등 식물이 성장하는 데 도움을 주고, 나아가 토양의 질과 생산성을 결정하는 중요한 역할을 한다(Prasad *et al.* 2015).

이러한 토양미생물의 군집을 분석하는 방법으로 기존에는 배양적방법(Culture-dependent methods)을 이용하였으나, 분자적 기법(Molecular techniques)을 이용한 비배양적방법(Culture-independent methods)이 발전하면서 미생물의 다양성 및 기능 분석에 대한 연구가 증가하였으며(Busby *et al.* 2017), 이 중에서 차세대 염기서열분석(Next generation sequencing; NGS)은 유전자 분석을 통해 미생물의 군집 구성을 분석하는 방법이다. 대표적인 차세대 염기서열분석 중 하나인 Pyrosequencing 분석은 다양한 서식지의 미생물군집을 보다 명확하게 구명하는 데 주로 사용된다(Sogin *et al.* 2006). 토양 특성과 같은 환경요인(Environmental factor)은 서식하는 식물뿐만 아니라 토양미생물의 성장 및 다양성에도 영향을 주게 된다(Song *et al.* 2018; Wu *et al.* 2018). 이러한 환경요인의 변화는 결과적으로 스트레스로 작용하여 토양미생물의 군집에 영향을 주기 때문에 토양미생물군집을 연구하는 데 있어 토양 특성과 같은 환경요인과의 상관관계 분석은 매우 중요하다고 할 수 있다(Petterson 2004).

최근 국민소득 향상 및 청정임산물에 대한 관심이 높아지면서 뿌리작물인 약용작물의 품질 및 생산성을 개선시키는 지속가능한 유기농업에도 토양미생물에 대한 관심이 높아지고 있다(Prasad *et al.* 2013). 대표적인 뿌리작물인 인삼의 경우, pyrosequencing 분석을 이용하여 최근까지도 국내외 인삼 재배지의 토양미생물군집에 대한 연구를 활발히 수행되고 있다(Nguyen *et al.* 2016; Dong *et al.* 2018). 최근에는 국내외 산림과학 분야에서도 NGS system을 이용하여 산림환경 변화에 따른 토양미생물군집 변화에 대한 연구를 수행하고 있지만(Hartmann *et al.* 2014; Li *et al.* 2014;

Lee and Eo 2017), 약용자원 재배지의 토양미생물군집 분석 및 환경요인과의 상관관계에 대한 연구는 매우 미흡한 실정이다. 특히 대표적인 약용자원인 산양삼은 임장에서 무농약, 무비료를 원칙으로 7년 이상 장기적으로 재배 및 생산하기 때문에 노지에서 재배하는 인삼보다 재배적지에 대한 기준설정을 명확히 해야 한다. 이를 위해서는 산양삼을 재배하기 전에 예상재배지의 토양 특성 및 토양미생물군집과 같은 입지환경을 사전에 정밀하게 분석하여 산양삼 재배에 적합한지에 대한 조사가 반드시 필요하다. 따라서 본 연구는 전국 임의의 산양삼 재배지를 선정하여 재배지 내의 토양 특성 및 토양세균군집을 분석하고, 토양이화학적 특성, 토양세균군집 및 산양삼 생육특성 간의 상관관계를 구명하여 산양삼의 재배적지를 선정하는 데 기여하기 위하여 수행되었다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료 채취 및 토양이화학적 조사

본 연구의 공시작물인 산양삼 시료는 강원, 충북, 전북, 경남 등 전국에서 임의로 8개 지역의 산양삼 재배지를 선정하여 위부터 알파벳순으로(A~H) 명명하였으며, 시료

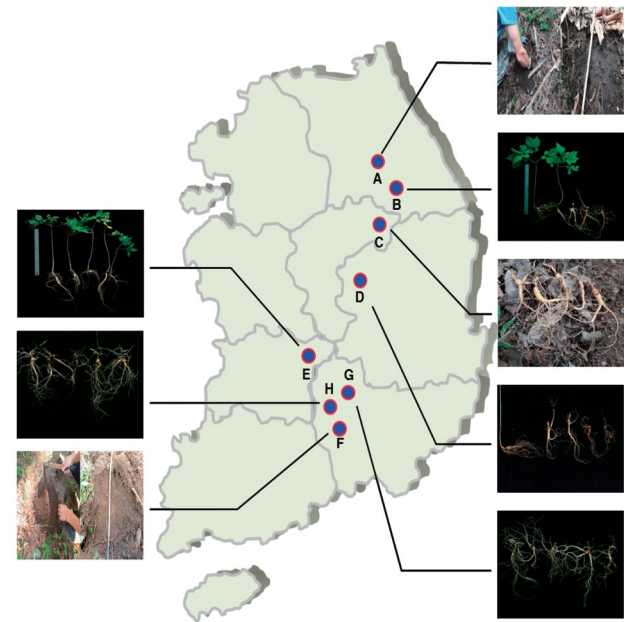


Fig. 1. Cultivation area and collection of wild-simulated ginseng samples.

는 산양삼 중에서도 고년근인 13년생 산양삼 시료를 각 5본씩 채취하였다(Fig. 1). 토양 시료는 각 재배지에서 표토를 제거하고 토심 10~30 cm에서 근권 토양 100 g을 채취하였다. 채취한 산양삼 시료는 [산양삼 표준재배지침]의 수확 후 관리방법에 따라 수태(Sphagnum moss)를 위아래로 덮은 후 4°C의 저온장소에 보관하였다(Jeon *et al.* 2018). 토양 시료는 사용목적에 따라 구분해서 보관하였는데 미생물 균집분석에 이용할 토양은 -20°C의 냉동고에 보관하였고, 이화학성 분석에 사용할 토양은 서늘하고 건조한 곳에서 풍건한 다음 2 mm sieve를 이용하여 거른 후 실온에서 보관하였다. 토양이화학성 특성은 농촌진흥청 [종합검정실 분석 매뉴얼]을 참고하여 분석하였다(RDA 2013).

## 2. 산양삼 재배지의 토양세균군집 분석

지역별 채취한 토양 시료의 total DNA의 추출은 Power-soil™ DNA isolation kit (MO BIO Laboratories, Carlsbad, CA, USA)를 사용하여 추출하였다. 16S rRNA Polymerase chain reaction (PCR) 증폭 및 염기서열 분석은 천랩(Chunlab, Seoul, Korea)의 Illumina Miseq sequencing system에 따라 수행하였다. Primer는 341F (5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGACAGCCTACGGGNGGCWGCAG-3')와 805R (5'-GTCTCGTGGGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACHVGGGTATCTAATCC-3')을 사용하여 V3-V4 region을 타겟으로 PCR 증폭을 진행하였다. PCR 조건은 다음과 같다. 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. Raw sequence 분석은 Mothur pipeline (ver. 1.40)을 이용하여 분석하였고(Schloss *et al.* 2009), 데이터베이스는 'Greengene' reference database를 이용하여 염기서열을 분석하였다(Schloss 2009). 이후 염기서열은 Distance based greedy clustering (DGC) 분석을 이용하여 97% 유사수준의 Operational taxonomic units (OTUs)로 군집화하여 토양세균군집의 군집화(Clustering) 및 상대적 빈도수(Relative abundance)를 분석하였다(Kim *et al.* 2019).

## 3. 산양삼 생육특성 조사

채취한 13년생 산양삼 샘플의 생육특성을 조사하기 위해, 국립종자원의 『인삼』 작물별 특성조사요령을 준수하여 뇌두길이, 주근직경, 주근길이, 지하부 생중량을 측정하였

다(KSVS 2014). 이후 산양삼 지하부 표면을 증류수로 세척하고 EPSON scanner (Expression 12000XL)를 이용하여 스캔하였다. 스캔한 파일은 WinRHIZO™ Pro software (ver. 2017, Regent Instruments, Canada)를 이용하여 산양삼 지하부를 픽셀(Pixel) 단위로 측정 후, 넓이 단위로 전환하여 단면적(Cross-section area), 표면적(Surface area), 부피(Volume)를 측정하였다(Wisam *et al.* 2018).

## 4. 통계 및 상관관계 분석

분석된 데이터는 평균±표준오차(means±standard error; S.E.) 값으로 나타냈고, 실험 데이터의 통계처리 및 유의성 검정은 Statistical analysis system (SAS, ver. 9.4) software를 이용하여 토양세균군집 cluster 간의 상대적빈도수와 산양삼 생육특성에 대한 통계분석은 T-검정을 통해 유의성을 검정하고 최소유의차(Least significant difference; LSD)는  $p < 0.05$  수준에서 통계처리 하였다. 산양삼의 생육특성과 토양세균군집 간의 상관관계 분석(Correlation analysis)는 STATISTICA software (ver. 7. 1)를 사용하여 Spearman's rank correlation 상관계수( $r$ )와 유의성( $p < 0.05$ )을 확인하였다.

## 결과 및 고찰

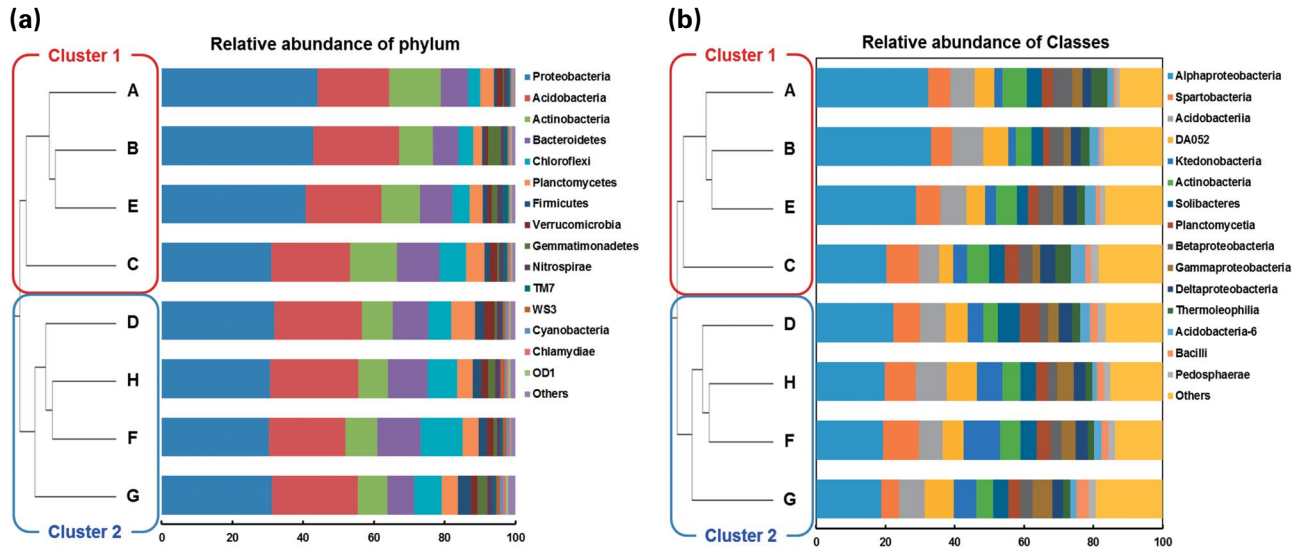
### 1. 산양삼 재배지의 토양이화학성

산양삼 재배지 8지역의 토양 이화학성을 조사한 결과, 모든 재배지의 토성은 양질사토이고, 토양산도(pH)는 3.84~5.20으로 산성 또는 약산성토양으로 나타났다(Table 1). 유기물 함량(Organic matter)은 4.2~21.4%이었고, 유효인산(Available phosphate)은 41.9~292.1 mg kg<sup>-1</sup>, 전질소(Total nitrogen)는 0.12~0.69%, potassium (K)은 0.06~0.54 cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>, calcium (Ca)은 0.9~12.0 cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>, magnesium (Mg)은 0.17~5.57 cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>, sodium (Na)은 0.04~0.08 cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>, 양이온 치환용량(Cation exchange capacity)은 14.4~35.9 cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>으로 나타났다. 2013년 임업진흥원에서 조사한 우리나라 전국 산양삼 재배지의 토양 특성은 pH 4.0~6.0, 전질소 0.15~0.8%, 유기물 2.0~7.0%, K 0.3~0.7 cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>, Ca 1.2~4.1 cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>, Mg 1.0~1.5 cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup>으로 본 연구에서 선정하여 조사한 산양삼 재배지 8지역의 토양 특성과 비교한 결과, 토양 pH와 전질소 함량은 유사

**Table 1.** Soil chemical properties of wild-simulated ginseng cultivation area

Cultivation area	Soil type	pH	EC <sup>1)</sup> dS m <sup>-1</sup>	OM <sup>2)</sup> %	Avai. P <sup>3)</sup> mg kg <sup>-1</sup>	TN <sup>4)</sup> %	Exchangeable cations				CEC <sup>5)</sup>
							K	Ca	Mg	Na	
							cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>				
A	Loamy sand	4.59	0.09	21.4	233.2	0.69	0.34	12.0	1.18	0.06	31.4
B	Loamy sand	5.02	0.11	6.1	57.4	0.20	0.19	3.4	5.57	0.05	16.6
C	Loamy sand	5.20	0.26	7.9	41.9	0.28	0.54	11.5	1.79	0.04	17.3
D	Loamy sand	4.39	0.17	11.4	219.4	0.41	0.15	3.4	0.34	0.05	23.6
E	Loamy sand	4.61	0.08	8.7	169.7	0.30	0.20	3.6	0.54	0.05	19.8
F	Loamy sand	4.31	0.15	5.9	158.4	0.18	0.14	0.9	0.40	0.08	15.6
G	Loamy sand	4.54	0.07	4.2	150.1	0.12	0.06	1.0	0.17	0.07	14.4
H	Loamy sand	3.84	0.28	13.7	292.1	0.63	0.18	2.6	0.47	0.04	35.9

<sup>1)</sup>EC: Electric conductivity, <sup>2)</sup>OM: Organic matter, <sup>3)</sup>Avai, P: Available phosphate, <sup>4)</sup>TN: Total nitrogen, <sup>5)</sup>CEC: Cation exchange capacity



**Fig. 2.** Clustering and relative abundance of the bacterial community in 8 different wild-simulated ginseng cultivation area. (a) Phylum, (b) Classes.

하게 나타났으나, 유기물을 비롯한 K, Ca, Mg의 함량은 차이를 보이는 것으로 확인되었다(KOPPI 2013). 이와 같은 결과는 조사된 산양삼 재배지의 차이로 인한 것으로 생각되며, 임업진흥원에서는 토양 pH 6.5 이상, 유효인산 300 mg kg<sup>-1</sup>, 칼륨 0.8 cmol<sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> 이상에서 산양삼이 생리적으로 제한을 받는다고 발표한 연구결과를 통해 본 연구에서 선정된 8개의 산양삼 재배지는 산양삼의 재배에 적합하다고 판단된다.

## 2. 토양미생물군집 및 상대적 빈도수

산양삼 재배지 토양세균군집의 계통학적 군집화를 phy-

logenetic tree를 이용하여 확인한 결과, 8지역의 토양세균군집이 2개의 cluster (Cluster 1: A, B, C, E 재배지의 토양세균군집, Cluster 2: D, F, G, H 재배지의 토양세균군집)로 뚜렷하게 군집화를 이루는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2). Phylum 수준의 상대적 빈도수를 확인한 결과, 8지역의 재배지 모두 *Proteobacteria*의 상대적 빈도수가 전체 평균의 35.4%로 우점인 것으로 확인되었으며, *Acidobacteria* (22.9%), *Actinobacteria* (10.3%), *Bacteroidetes* (9.7%), *Chloroflexi* (6.9%), *Planctomycetes* (4.4%) 순으로 나타났다(Fig. 2a). Classes 수준에서는 *Alphaproteobacteria*가 24.4%로 우점이었고, *Spartobacteria* (7.6%), *Acidobacteria* (7.5%), *Ktedonobacteria* (5.5%), *Actinobacteria* (5.1%) 순으로 높은 상대적 빈도수를 확인하



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

Bacterial communities	Phylum						
	<i>Proteobacteria</i>	<i>Acidobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Chloroflexi</i>	<i>Firmicutes</i>	<i>Cyanobacteria</i>
Cluster 1	31.0±0.31b	22.0±0.89a	12.1±1.16a	9.0±1.12a	5.1±0.86b	1.1±0.18b	0.3±0.04b
Cluster 2	39.7±2.96a	23.8±0.76a	8.6±0.12a	10.3±1.02a	8.7±1.15a	2.8±0.33a	0.7±0.07a
<i>p</i> value	0.028*	0.168	0.246	0.433	0.045*	0.005**	0.004**
LSD	7.2723	2.8587	2.8564	3.7027	3.5155	0.9164	0.2213
Bacterial communities	Classes						
	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Acidobacteriia</i>	<i>Ktedonobactetria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Bacilli</i>	
Cluster 1	28.7±2.92a	6.81±0.34b	3.01±0.39b	4.38±0.38a	2.62±0.22b	0.99±0.17b	
Cluster 2	20.1±0.78b	7.68±0.43a	7.26±1.27a	2.96±0.25b	4.31±0.57a	2.45±0.34a	
<i>p</i> value	0.029*	0.042*	0.019*	0.021*	0.034*	0.009**	
LSD	7.4061	1.3039	3.2649	1.1118	1.5074	0.9333	

\*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  $p \leq 0.001$  (\*\*\*)

**Table 3.** Growth characteristics of wild-simulated ginseng between the two bacterial communities

Bacterial communities	Growth characteristics						
	Fresh weight	Root length	Root diameter	Rhizome length	Cross-section area	Surface area	Volume
	(g)	(cm)	(mm)	(mm)	(cm <sup>2</sup> )	(cm <sup>2</sup> )	(cm <sup>3</sup> )
Cluster 1	4.46±0.78b	25.4±1.14a	11.3±0.98a	28.2±1.65a	252.6±42.2a	1158.9±251.4a	64.2±11.5a
Cluster 2	8.09±1.25a	27.4±3.14a	13.2±1.11a	27.5±2.09a	368.9±80.0a	793.6±132.6a	96.1±14.9a
<i>p</i> value	0.049*	0.571	0.258	0.748	0.246	0.246	0.141
LSD	3.602	8.168	3.629	6.524	221.4	695.5	46.25

\*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  $p \leq 0.001$  (\*\*\*)

였다 (Fig. 2b). Nguyen *et al.* (2016)의 연구에서도 pyrosequencing 분석을 이용하여 우리나라 인삼 재배지로부터 채취한 30개의 토양 시료에서 미생물군집을 분석한 결과, 본 연구의 결과와 유사하게 *Proteobacteria*가 전체의 30.16%로 우점으로 나타났고, *Acidobacteria* (29.16%), *Chloroflexi* (18.15%) 순으로 나타났다. Sun *et al.* (2017)의 연구에서는 인삼 (*Panax ginseng*) 재배지의 토양미생물군집을 조사한 결과, *Proteobacteria*가 40.88%로 우점이었고, *Acidobacteria* (15.59%), *Actinobacteria* (11.55%), *Gemmatimonadetes* (7.36%), *Chloroflexi* (4.17%) 순으로 상대적 빈도수가 높게 나타났으며, classes 수준에서도 *Alphaproteobacteria*가 우점으로 본 연구의 결과와 매우 유사하게 나타났다. 두 개의 cluster 간 토양세균군집의 상대적 빈도수를 비교 분석한 결과, 먼저 phylum 수준에서는 *Proteobacteria* ( $p=0.03$ )와 *Actinobacteria* ( $p=0.02$ )는 cluster 1에서 cluster 2에 비해 상대적 빈도수가 유의적으로 높았다 (Table 2). 반면 *Chloroflexi* ( $p=0.04$ ), *Firmicutes* ( $p=0.004$ ), *Cyanobacteria* ( $p=0.004$ )는

cluster 2에서 cluster 1에 비해 유의적으로 상대적 빈도수가 높은 것으로 나타났다. Classes 수준에서 cluster 간의 상대적 빈도수를 확인한 결과, *Ahlpaproteobacteria* ( $p=0.029$ )와 *Betaproteobacteria* ( $p=0.021$ )는 상대적 빈도수가 cluster 1에서 cluster 2에 비해 상대적 빈도수가 유의적으로 높았고, *Acidobacteriia* ( $p=0.041$ ), *Ktedonobacteria* ( $p=0.019$ ), *Gammaproteobacteria* ( $p=0.034$ ), *Bacilli* ( $p=0.009$ )은 cluster 2에서 유의적으로 상대적 빈도수가 높은 것으로 나타났다.

### 3. Cluster 간의 산양삼 생육특성 및 토양 이화학성 비교

토양세균군집 cluster 간 산양삼의 생육특성을 비교 분석한 결과, cluster 2 재배지에서 수집한 산양삼 시료의 지하부 생중량은 cluster 1 재배지에서 수집한 산양삼 시료에 비해 cluster 2에서 유의적 ( $p=0.04$ )으로 높았다 (Table 3). 두 cluster 재배지 간의 토양 이화학성을 비교한 결과, cluster 2

재배지의 토양 pH가 cluster 1 재배지에 비해 유의적 ( $p = 0.03$ )으로 낮게 나타났다 (Table 4). 다른 토양 이화학성은 cluster 재배지 간의 유의적인 차이를 확인할 수 없었다. 이와 같은 결과는 산양삼 재배지의 토양 pH가 cluster 1 재배지의 평균인 pH 4.86 이하에서 지하부의 생중량이 증가한다는 것을 의미한다. 실제로 8지역의 산양삼 재배지 중에서 pH 4.86 이하의 재배지의 산양삼 생중량이 pH 4.86 이상의 재배지에 비해 높은 것으로 나타났다 (Data not shown). Lee (2010)의 연구에서 산양삼 재배지의 토양특성을 분석한 결과, 평균 토양 pH가 4.85인 약산성 토양으로 나타났고, Kwon *et al.* (2011)의 연구에서도 전국 9개도 18지역 산양삼 재배지의 평균 토양 pH가 4.72로 우리나라 산림 토양의 평균 pH 5.48 (Joeng *et al.* 2002)보다는 대체로 낮게 조사되어 본 연구의 결과를 통해 보다 낮은 pH의 토양에

서도 산양삼의 재배가 가능한 것으로 판단된다. 또한 토양 pH는 토양미생물의 군집에 영향을 주는 대표적인 환경요인 중 하나로, 토양미생물군집을 결정하는 중요한 역할을 하며 (Wu *et al.* 2017), pH가 토양미생물군집에 미치는 영향과 이의 상관관계에 대한 연구는 최근까지도 다양한 환경의 토양에서 활발히 진행되고 있다 (Bartram *et al.* 2014; Cao *et al.* 2016; Xue *et al.* 2017; Ren *et al.* 2018).

#### 4. 산양삼의 생육특성과 토양세균군집 간의 상관관계

산양삼 생육특성과 토양세균군집 간의 상관관계를 분석한 결과, *Acidobacteria*에 속하는 *Acidobacteriia*가 주근직경 ( $r = 0.857, p = 0.007$ ), 단면적 및 표면적 ( $r = 0.738, p = 0.037$ )과 유의적인 정의 상관관계를 보였으며, *Koribacteraceae*는

**Table 4.** Comparison of soil chemical properties between the two bacterial communities

Bacterial communities	Soil chemical properties									
	pH	EC <sup>1)</sup>	OM <sup>2)</sup>	Avai. P <sup>3)</sup>	TN <sup>4)</sup>	Exchangeable cations				CEC <sup>5)</sup>
						K	Ca	Mg	Na	
1:5	dS m <sup>-1</sup>	%	mg kg <sup>-1</sup>	%	cmol <sup>+</sup> kg <sup>-1</sup>					
Cluster 1	4.86±0.15a	0.14±0.04a	11.0±3.5a	125.6±45.8a	0.37±0.11a	0.32±0.08a	7.62±2.39a	2.27±1.13a	0.05±0.00a	21.3±3.45a
Cluster 2	4.27±0.15b	0.17±0.04a	8.8±2.2a	205.0±32.9a	0.34±0.12a	0.13±0.03a	2.00±0.60a	0.35±0.06a	0.06±0.01a	22.4±4.97a
<i>p</i> value	0.034*	0.610	0.616	0.209	0.845	0.074	0.062	0.139	0.356	0.860
LSD	0.524	0.148	10.16	137.9	0.391	0.209	6.027	2.767	0.024	14.80

\*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  $p \leq 0.001$  (\*\*\*). <sup>1)</sup>EC: Electric conductivity, <sup>2)</sup>OM: Organic matter, <sup>3)</sup>Avai. P: Available phosphate, <sup>4)</sup>TN: Total nitrogen, <sup>5)</sup>CEC: Cation exchange capacity

**Table 5.** Relationship between the relative abundance of the bacterial communities and growth characteristics of wild-simulated ginseng using Spearman rank correlation analysis

Bacterial communities	Growth characteristics						
	Fresh weight of root	Root length	Root diameter	Rhizome length	Cross-section area	Surface area	Volume
<i>Chloroflexi</i>	0.238 (0.570)	0.310 (0.456)	-0.048 (0.911)	0.095 (0.823)	0.071 (0.867)	0.071 (0.867)	0.357 (0.385)
<i>Firmicutes</i>	0.000 (1.000)	0.500 (0.207)	0.167 (0.693)	0.381 (0.352)	0.405 (0.320)	0.450 (0.320)	0.524 (0.183)
<i>Cyanobacteria</i>	-0.143 (0.736)	0.429 (0.289)	-0.024 (0.955)	0.071 (0.867)	0.190 (0.651)	0.190 (0.651)	0.405 (0.320)
<i>Ktedonobacteria</i>	0.119 (0.779)	0.333 (0.420)	-0.024 (0.955)	0.048 (0.911)	0.095 (0.823)	0.095 (0.823)	0.357 (0.385)
<i>Gammaproteobacteria</i>	0.500 (0.207)	0.476 (0.233)	0.214 (0.610)	0.429 (0.289)	0.429 (0.289)	0.429 (0.289)	0.500 (0.207)
<i>Bacilli</i>	-0.071 (0.867)	0.429 (0.289)	0.024 (0.955)	0.238 (0.570)	0.286 (0.493)	0.286 (0.493)	0.452 (0.260)
<i>Koribacteraceae</i>	0.405 (0.320)	<b>0.810 (0.015)*</b>	0.571 (0.139)	0.524 (0.183)	0.667 (0.071)	0.667 (0.071)	<b>0.857 (0.007)**</b>
<i>Thermogemmatissporaceae</i>	0.190 (0.651)	0.405 (0.320)	0.048 (0.911)	0.119 (0.779)	0.167 (0.693)	0.167 (0.693)	0.452 (0.260)
<i>Sinobacteraceae</i>	0.524 (0.183)	0.643 (0.086)	0.381 (0.352)	0.524 (0.183)	0.595 (0.120)	0.595 (0.120)	0.690 (0.058)
<i>Thermomonosporaceae</i>	-0.024 (0.955)	0.524 (0.183)	0.238 (0.570)	0.071 (0.867)	0.238 (0.570)	0.238 (0.570)	0.476 (0.233)
<i>Bacillaceae</i>	0.071 (0.867)	0.476 (0.233)	0.024 (0.955)	0.238 (0.570)	0.286 (0.493)	0.286 (0.493)	0.524 (0.183)
<i>Acidobacteriia</i>	0.333 (0.420)	0.595 (0.120)	<b>0.857 (0.007)**</b>	0.571 (0.139)	<b>0.738 (0.037)*</b>	<b>0.738 (0.037)*</b>	0.643 (0.086)

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 (\*\*\* $p \leq 0.001$ , \*\* $p \leq 0.01$ , \* $p \leq 0.05$ ).

**Table 6.** Relationship between the relative abundance of Acidobacteria and soil pH of wild-simulated ginseng using Spearman rank correlation analysis

Bacterial communities	Spearman's rho values ( <i>r</i> )	<i>p</i> value
<i>Acidobacteria</i> (Phylum)	-0.381	0.352
<i>Acidobacteriia</i> (Class)	-0.190	0.651
<i>Acidobacteriaceae</i> (Family)	-0.167	0.693
<i>Koribacteraceae</i> (Family)	-0.762	0.028*
<i>Solibacteriaceae</i> (Family)	-0.619	0.102

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 (\*\*\*) $p \leq 0.001$ , (\*\*) $p \leq 0.01$ , (\*) $p \leq 0.05$ .

주근길이 ( $r=0.810, p=0.015$ ), 부피 ( $r=0.857, p=0.007$ )와 유의적인 정의 상관관계를 보이는 것을 확인하였다 (Table 5). *Acidobacteria*는 본 연구의 8지역 산양삼 재배지에서 *Proteobacteria* 다음으로 상대적빈도수가 높은 것으로 나타났고, 산양삼의 생육이 좋았던 G 재배지와 H 재배지의 *Koribacteraceae*의 상대적빈도수가 다른 재배지의 상대적빈도수보다 유의적으로 높은 것을 확인하였다. Wang et al. (2019)의 연구에서도 인삼 재배지의 미생물군집을 분석한 결과, 토양 pH가 낮은 재배지에서 *Acidobacteria* 군집의 상대적 빈도수가 유의적으로 높은 것으로 보고되었다. 이와 같은 결과는 본 연구의 토양세균군집의 cluster에 따른 상대적 빈도수를 비교한 결과에서도 *Acidobacteriia*의 상대적 빈도수가 pH가 낮은 cluster 2 재배지에서 유의적으로 높은 것을 뒷받침하며, *Acidobacteria*에 속하는 미생물군집이 pH가 낮은 토양에서 높은 상대적빈도수를 가지고, 산양삼의 생육을 촉진시키는 역할을 하는 것으로 판단된다. 실제로 *Acidobacteria* 미생물군집과 토양 이화학성 간의 상관관계를 분석한 결과, *Acidobacteria* 속 미생물군집은 토양 pH와 부의 상관관계를 보였으며, 이 중에서 *Koribacteraceae*의 상대적 빈도수가 토양 pH와 유의적인 부의 상관관계 ( $r=-0.762, p=0.028$ )을 보이는 것으로 확인되었다 (Table 6). 이러한 결과로 미루어 보아 산양삼 재배지의 토양 pH와 토양 내 *Acidobacteria* 속 세균군집의 상대적 빈도수가 산양삼 생육과 매우 밀접한 관계가 있는 것으로 판단된다. 이후에는 산양삼을 재배하지 않은 토양의 이화학성 및 *Acidobacteria* 속 미생물군집의 상대적 빈도수를 비교·분석하는 연구를 추가로 수행한다면 산양삼 재배여부에 따른 토양 이화학성 및 토양세균군집 변화를 확인할 수 있을 것이다. 산양삼의 경우, 일반적인 임산물과 비교하여 장기적인 재

배와 친환경적인 재배를 원칙으로 하는 [특별관리 임산물]로 지정하여 관리 및 감독하고 있는 만큼 본 연구결과가 향후 토양미생물군집과 산양삼 생육 간의 상관관계를 구명하는 중요한 자료가 될 것으로 생각되고, 나아가 산양삼 재배 이전에 산양삼의 생육에 유용한 토양세균군집을 확인할 수 있다면 산양삼 재배적지를 선정하는데 도움을 줄 수 있을 것이다. 또한, 토양이화학성과 더불어 임상 및 주변식생에 따른 토양세균군집과 산양삼 생육특성에 대한 상관관계 연구를 추가로 수행한다면 보다 명확한 정보를 대한 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

## 적 요

본 연구는 전국 임의의 산양삼 재배지를 선정하여 재배지 내의 토양 특성 및 토양세균군집을 분석하고, 토양 이화학적 특성, 토양세균군집 및 산양삼 생육특성 간의 상관관계를 구명하기 위하여 수행되었다. 토양세균군집 분석은 pyrosequencing analysis (Illumina platform)를 이용하였고, 토양세균군집과 생육특성 간의 상관관계는 Spearman's rank correlation을 이용하여 분석하였다. 8개 산양삼 재배지로부터 분리한 토양세균군집은 2개의 군집으로 군집화를 이루는 것을 확인하였다. 모든 토양샘플에서 *Proteobacteria*와 *Alphaproteobacteria*가 각각 35.4%, 24.4%로 가장 높은 상대적 빈도수를 보였다. 산양삼의 생육은 토양 pH가 낮고 *Acidobacteria*의 상대적 빈도수가 높은 토양에서 증가하였으며, *Acidobacteriia* (class)와 *Koribacteraceae* (family)의 상대적 빈도수는 산양삼의 생육과 유의적인 정의 상관관계를 보이는 것으로 나타났다. 본 연구 결과는 토양세균군집과 산양삼 생육 간의 상관관계를 구명하는 중요한 자료가 될 것으로 생각되고, 나아가 산양삼 재배 이전에 산양삼의 생육에 유용한 토양세균군집을 확인할 수 있다면 산양삼 재배적지를 선정하는데 도움을 줄 수 있을 것이다. 또한 토양이화학성과 더불어 임상 및 주변식생에 따른 토양세균군집과 산양삼 생육특성에 대한 상관관계 연구를 추가로 수행한다면 보다 명확한 정보를 대한 제공할 수 있을 것으로 사료된다.

## 사 사

본 연구는 국립산림과학원 일반연구사업 “고품질 산양

삼 생산을 위한 친환경 재배기술 개발”(Project No. FP0802-2017) 연구의 지원에 의해 수행된 결과로서 이에 감사드립니다.

## REFERENCES

- Bartram AK, X Jiang, MDJ Lynch, AP Masella, GW Nicol, J Dushoff and JD Neufeld. 2014. Exploring links between pH and bacterial community composition in soil from the Craibstone Experimental Farm. *FEMS Microbiol. Ecol.* 87:403–415.
- Busby PE, C Soman, MR Wagner, ML Friesen, J Kremer, A Bennett, M Morsy, JA Eisen, JE Leach and JL Dangi. 2017. Research priorities for harnessing plant microbiomes in sustainable agriculture. *PLOS Biol.* 15:1–14.
- Cao H, R Chen, L Wand, L Jiang, F Yang, S Zheng, G Wang and X Lin. 2016. Soil pH, total phosphorus, climate and distance are the major factors influencing microbial activity at a regional spatial scale. *Sci. Rep.* 6:25815.
- Denacé N, A Sánchez-Vallet, D Goffner and A Molina. 2013. Disease resistance or growth: the role of plant hormones in balancing immune responses and fitness costs. *Front. Plant Sci.* 4:155.
- Dong L, J Xu, Y Li, H Fang, W Niu, X Li, Y Zhang, W Ding and S Chen. 2018. Manipulation of microbial community in the rhizosphere alleviates the replanting issues in *Panax ginseng*. *Soil Biol. Biochem.* 125:64–74.
- Hartmann M, PA Nikalus, S Zimmermann, S Schmutz, J Kremer, K Abarenkov, P Lüscher, F Widmer and B Frey. 2014. Resistance and resilience of the forest soil microbiome to logging-associated compaction. *ISME J.* 8:226–244.
- Hatfield JL and JH Prueger. 2015. Temperature extremes: Effect on plant growth and development. *Weather Clim. Extrem.* 10:4–10.
- Jeon KS, YR Um, CR Jung, HW Park and MJ Kim. 2018. Standard Cultivation Manual of Wild-Simulated Ginseng. National Institute of Forest Science, Seoul, Korea.
- Jeong JH, KS Koo, CH Lee and CS Kim. 2002. Physico-chemical properties of Korean forest soils by regions. *J. Korean For. Soc.* 91:694–700.
- Kim KY, S Samaddar, P Chatterjee, R Krishnamorthy, SY Jeon and TM Sa. 2019. Structural and functional responses of microbial community with respect to salinity levels in a coastal reclamation land. *Appl. Soil Ecol.* 137:96–105.
- KOFPI. 2013. The cultivation of wild-simulated ginseng. pp. 14–34. In *Wild-Simulated Ginseng and Cultural Environments*. Korea Forestry Promotion Institute, Seoul, Korea.
- Kown SD, JH Kang, JH Yoon and HS Moon. 2011. An analysis on site, soil and cultivation characteristics of Korean mountain cultivated ginseng (*Panax ginseng*) filed. *J. Agric. Life Sci.* 45: 81–88.
- KSVS. 2014. Know-How of Characteristics Investigation of the Crops: Ginseng (*Panax ginseng* Meyer). Korea Seed and Variety Service, Gimcheon, Korea.
- Lee BJ and SH Eo. 2017. Soil bacterial community in red pine forest of Mt. Janggunbong, Bonghwa-gun, Gyeongbuk, Korea, using next generation sequencing. *J. Korean For. Soc.* 106: 121–129.
- Lee DS. 2010. Weather characteristic and growth of a forest ginseng cultivation site. *J. Korean For. Soc.* 99:863–870.
- Lee DS. 2011. Theory and Practice of Growing Forest Cultivated Ginseng. Nexus Publish, Paju, Korea.
- Li H, D Ye, X Wang, ML Settles, J Wang, Z Hao, L Zhou, P Dong, Y Jiang and ZS Ma. 2014. Soil bacterial communities of different natural forest types in Northeast China. *Plant Soil* 383: 203–216.
- Lipied J, C Doussan, A Nosalewicz and K Kondracka. 2013. Effect of drought and heat stresses on plant growth and yield: a review. *Int. Agrophys.* 27:463–477.
- Nguyen NL, YJ Kim, VA Hoang, S Subramaniyam, JP Kang, CH Kang and DC Yang. 2016. Bacterial diversity and community structure in Korean ginseng field soil are shifted by cultivation time. *PLOS ONE* 11:e0155055.
- Pandey P, V Irulappan, MV Bagacathiannan and M Senthil-Kumar. 2017. Impact of combined abiotic and biotic stresses on plant growth and avenues for crop improvement by exploiting physio-morphological traits. *Front. Plant Sci.* 8:537.
- Pettersson M. 2004. Factors Affecting the Rates of Change in Soil Bacterial Communities. Lund University, Sweden.
- Prasad R, S Kamal, PK Sharma, R Oelmueller and A Varma. 2013. Root endophyte *Piriformospora indica* DSM 11827 alters plants morphology, enhances biomass and antioxidant activity of medicinal plant *Bacopa monniera*. *J. Basic Microbiol.* 52: 1016–1024.
- Prasad R, M Kumar and A Varma. 2015. Role of PGPR in soil fertility and plant health. pp. 247–260. In *Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Medicinal Plant (Egamberdieva et al. eds.)*. Springer, Switzerland.
- Ramegowda V and M Senthil-Kumar. 2015. The interactive effect of simultaneous biotic and abiotic stresses on plant: mechanistic understanding from drought and pathogen combination. *J. Plant Physiol.* 176:47–54.
- RDA. 2013. Analysis Manual of Comprehensive Examination Laboratory (Soil, Plant, Water and Liquid manure). Rural Development Administration, Suwon, Korea. pp. 31–53.
- Ren B, Y Hu, B Chen, Y Zhang, L Thiele, R Shi, M Liu and R Bu. 2018. Soil pH and plant diversity shape soil bacterial commu-



- nity structure in the active layer across the latitudinal gradient in continuous permafrost region of Northeastern China. *Sci. Rep.* 8:5619.
- Schloss PD. 2009. A high-throughput DNA sequence aligner for microbial ecology studies. *PLOS ONE* 4:e8230.
- Schloss PD, SL Westcott, T Ryabin, JR Hall, M Hartmann, EB Hollister, RA Lesniewski, BB Oakley, DH Parks, CJ Robinson, JW Sahl, B Stres, GG Thallinger, DJ van Horn and CF Weber. 2009. Introducing mothur: open source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75:7537–7541.
- Selvakumar G, KY Kim, S Hu and TM Sa. 2014. Effect of salinity on plant and the role of arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth promoting rhizobacteria in alleviation of salt stress. pp. 115–137. In *Physiological Mechanism and Adaptation Strategies in Plant under Changing Environment* (Ahmad P and MR Wani eds.). Springer, New York, USA.
- Sogin ML, HG Morrison, JA Huber, DM Welch, SM Huse, PR Neal, JM Arrieta and GJ Herndl. 2006. Microbial diversity in the deep sea and the underexplored “rare biosphere.” *PNAS* 103:12115–12120.
- Song X, B Tao, J Guo, J Li and G Chen. 2018. Changes in the microbial community structure and soil chemical properties of vertisols under different cropping systems in Northern China. *Front. Environ. Sci.* 6:132.
- Sun H, Q Wang, N Liu, C Zhang, Z Liu and Y Zhang. 2017. Effects of different leaf litters on the physicochemical properties and bacterial communities in *Panax ginseng*-growing soil. *Appl. Soil Ecol.* 111:17–24.
- Takaya SB, S Tipayno, KY Kim, P Subramanian and TM Sa. 2014. Rhizobacteria: Restoration of heavy metal contaminated soil. pp. 297–323. In *Physiological Mechanism and Adaptation Strategies in Plant under Changing Environment* (Ahmad P and MR Wani eds.). Springer, New York, USA.
- Wang Q, H Sun, C Xu, L Ma, M Li, C Shao, Y Guan and N Liu. 2019. Analysis of rhizosphere bacterial and fungal communities associated with rusty root disease of *Panax ginseng*. *Appl. Soil Ecol.* 138:245–252.
- Wisam ARA, AA Fadhil, HK Jamal and HH Wurood. 2018. Study physiology of roots growth for soybean by WinRhizo pro software with Vam3 genes. pp. 1–22. In *Proceedings of the International Conference on Promotion of Scientific & Regional Cooperation on Food and Agricultural Sciences*. Mashhad, Iran.
- Wu Y, J Zeng, Q Zhu, Z Zhang and X Lin. 2017. pH is the primary determinant of the bacterial community structure in agricultural soils impacted by polycyclic aromatic hydrocarbon pollution. *Sci. Rep.* 7:40093.
- Wu Z, Q Liu, Z Li, W Cheng, J Sun, Z Guo, Y Li, J Zhou, D Meng, H Li, P Lei and H Yin. 2018. Environmental factors shaping the diversity of bacterial communities that promote rice production. *BMC Microbiol.* 18:51.
- Xue L, H Ren, S Li, X Leng and X Yao. 2017. Soil bacterial community structure and co-occurrence pattern during vegetation restoration in karst rocky desertification area. *Front. Microbiol.* 8:2377.