

무 유기재배와 관행재배 토양의 화학성과 미생물 군집 비교*

강호준** · 양성년** · 송관철** · 조영운** · 김유경***

Soil Chemical Property and Microbial Community under Organic and Conventional Radish Farming Systems

Kang, Ho-Jun · Yang, Sung-Nyun · Song, Kwan-Cheol ·
Cho, Young-Yuen · Kim, Yu-Kyoung

This study was conducted to investigate the responses of soil properties and microbial communities to different agricultural management and soil types, including organic management in Andisols (Org-A), organic management in Non-andisols (Org-NA), conventional management in Andisols (Con-A) and conventional management in Non-andisols (Con-NA) by using a pyrosequencing approach of 16S rRNA gene amplicon in Radish farms of volcanic ash soil in Jeju island. The results showed that agricultural management systems had a little influence on the soil chemical properties but had significant influence on microbial communities. In addition, soil types had significant influences on both the soil chemical properties and microbial communities. Organic farming increased the microbial density of bacteria and biomass C compared to conventional farming, regardless of soil types. Additionally, Org-NA had the highest dehydrogenase activity among treatments, whereas no difference was found between Org-A, Con-A and Con-NA and had the highest species richness (Chao 1) and diversity (Phylogenetic diversity). Particularly, Chao 1 and Phylogenetic diversity were increased in organic plots by 12% and 20%, compared with conventional plots, respectively. Also, regardless of agricultural management and soil types, Proteobacteria was the most abundant bacterial phylum, accounting for 21.9-25.9% of the bacterial 16S rRNAs. The relative abundance of putative copiotroph such as Firmicutes was highest in Org-NA plot by 21.0%, as follows Con-NA (13.1%), Con-A (6.7%) and Org-A (5.1%), respectively and those of putative oligotrophs such as Acidobacteria and Planctomycetes were higher in Con-A than those in the other plots. Furthermore, LEfSe indicated that organic

* 본 연구는 농촌진흥청 농업과학기술 연구개발사업(과제번호 : PJ01253010)의 지원에 의해 이루어진 것임.

** 제주특별자치도농업기술원 친환경연구과

*** Corresponding author, 제주특별자치도농업기술원 친환경연구과(kyk555@korea.kr)

system enhanced the abundance of Fumicutes, while conventional system increased the abundance of Acidobacteria, especially in Non-andisols. Correlation analysis showed that total organic carbon (TOC) and nutrient levels (e.g. available P and exchangeable K) were significantly correlated to the structure of the microbial community and microbial activity. Overall, our results showed that the continuous organic farming systems without chemical materials, as well as the soil types made by long-term environmental factors might influence on soil properties and increase microbial abundances and diversity.

Key words : *andisols, conventional farming, non-andisols, organic farming, soil microbiota*

I. 서 론

화학비료와 합성농약 사용으로 대표되는 현대농업의 발전은 작물의 생산량을 극대화하였다. 그러나 이러한 화학적 수단에 의존하는 농업방식은 토양의 질 악화, 수질 오염, 화학연료 사용 증가, 그리고 농약에 대한 저항성을 가진 생물종의 증가 등으로 농업 환경에 부정적인 영향을 미치고 있다(Sugiyama and Vivango, 2010). 토양의 질은 물리성, 화학성 그리고 생물성 등 다차원적으로 평가되고 있는데, 이 가운데 토양 미생물은 토양 용적의 1% 보다 적게 점유하고 있음에도 불구하고 토양 특성을 좌우하고 자연생태계의 물질순환을 원활하게 하여 토양 건전성을 유지하면서 작물 생산성을 높여주는 중요한 기능을 가지고 있다(Tilman et al., 2002; Hartmann et al., 2015). 그리고 토양 내 유익한 미생물의 증가는 작물의 생육 촉진, 병 발생 감소 그리고 양분의 이용 증가 등으로 나타나며 토양의 질과 밀접한 관계가 있다(Wang et al., 2016).

유기농업은 화학물질 등 외부 투입재에 의존하는 관행농업의 부작용을 줄일 수 있는 대안으로 제시되었는데(Gomiero et al., 2011), 이와 관련하여 유기농업은 관행농업과 비교했을 때 토양 생태계의 생물다양성을 증가시키는 것으로 밝혀지고 있으며(Beilen, 2016), 여러 연구에서 관행 대비 유기재배 토양에서 미생물의 종 풍부도와 다양성이 증가하는 것으로 보고되고 있다(Wang et al., 2012; Xiong et al., 2015; Li et al., 2017; Lori et al., 2017). 그리고 이러한 현상은 윤작, 녹비작물 재배 그리고 유기물 투입으로 인한 heterotrophic microbiota의 에너지 공급원인 토양 유기탄소 증가와 관련이 있으며(Liao et al., 2018), 화학물질 투입 감소와 생물학적인 병방제 등 관리방법도 연관성이 있다고 보고되었다(Chaudhry et al., 2012). 또한 최근에는 차세대염기서열(pyrosequencing)과 LEfSe (linear discriminant analysis (LDA) effect size) 분석을 통하여 유기재배 등 재배 방식과 연관된 바이오마커도 밝혀지고 있다(Segata et al., 2011).

그러나 여전히 유기농업 등 재배 방법이 토양 미생물 생태계에 미치는 영향에 대한 명확

한 결론을 도출하기는 어려운 실정이다(Mader et al., 2002; Hartmann et al., 2015). 특히, 국내에서는 주로 유기농경지에서 유기자원의 효율적인 활용을 주제로 작물의 생산성을 높이는 연구에 초점이 맞추어져 왔으며, 유기자재 투입에 따른 비점오염원 연구나 토양의 미생물 다양성 증가와 같은 질적 개선 등 환경적 측면에 대한 연구는 많지 않다. 또한 제주도는 육지부와 달리 현무암을 모암으로 화산분출물에 의해 형성된 Andisols과 Non-andisols 토양이 분포하고 있으며, 각각 화산회토와 비화산회토로 명명되고 있다. 일반적으로 화산회토는 용적밀도가 0.9 이하로 낮고 인산보유능이 85% 이상, 유기물함량이 평균 110~150 mg kg⁻¹으로 매우 높으며 광물 조성이 비화산회토와 아주 다른 특성을 가지고 있다(Ugolini and Dahlgren, 2002). Adams (2011)는 제주도 토양 미생물의 군집패턴 분석결과 모암의 차이로 인한 토양의 물리·화학적 성질의 차이가 박테리아 군집 구성에 영향을 주며, 식생의 유형도 박테리아 군집 구조와 다양성에 영향을 준다고 하였다.

따라서 본 연구는 제주지역 무 주산지에서 재배 방법(유기 vs. 관행)과 토양 종류(화산회토 vs. 비화산회토)에 따른 토양의 화학적 특성, 미생물 활성, 그리고 미생물 군집 구성을 분석하고 요인 간 연관성을 구명하기 위하여 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 조사지점

본 연구는 제주지역 무 주산지에서 재배 방법과 토양 종류 등 4가지 유형으로 구분하여 시험을 수행하였다: (1) 관행재배-화산회토(Control-Andisols), (2) 관행재배-비화산회토(Control-Nonandisols), (3) 유기재배-화산회토(Organic-Andisols), (4) 유기재배-비화산회토(Organic-Nonandisols). 유기재배 시험포장은 10년 이상 유기농업으로 관리되고 있는 지점을 선정하였으며 관행재배 포장은 인근의 토양통이 같거나 유사한 지점으로 각각 7개소씩 선정하였다. 시험 토양의 분류는 Song 등(2014)의 방법에 따라 실시하였고 유기재배 토양을 조사한 결과 표선통 2, 위미통 1개소 등 화산회토(Andisols) 3개소와 동홍통 2, 하원통 1 그리고 월령통 1개소 등 비화산회토(Non-andisols) 4개소로 분류되었다. 관행재배 포장은 위미통 인근의 행원통 1개소를 제외하고 유기재배 토양과 같은 토양통으로 조사되었다(Table 1).

2. 토양 화학성 분석

토양 시료는 무 파종 후 10월 중순경 조사구별로 15지점에서 표토(15 cm)를 채취하였으며 잘 혼합한 후 2 mm 체를 통과시켜 조제하였다. 토양의 화학적 특성을 분석하기 위한 시

Table 1. Site descriptions of the seven organic and conventional Radish farms in Jeju island

No.	Farm code ²⁾	Management	Location	Soil series	Soil classification
1	Con-A- I	Conventional	Shinsan	Pyoseon	Andisols (Pachic Melanudands)
2	Con-A- II	Conventional	Sehwa	Pyoseon	Andisols (Pachic Melanudands)
3	Con-A- III	Conventional	Pyungdae	Haengwon	Andisols (Pachic Melanudands)
4	Con-NA- I	Conventional	Shinchon	Donghong	Non-andisols (Mollic Paleudalfs)
5	Con-NA- II	Conventional	Shinchon	Donghong	Non-andisols (Mollic Paleudalfs)
6	Con-NA- III	Conventional	Shindo	Hawon	Non-andisols (Humic Hapludults)
7	Con-NA- IV	Conventional	Shindo	Wolryeong	Non-andisols (Typic Hapludands)
8	Org-A- I	Organic	Shinsan	Pyoseon	Andisols (Pachic Melanudands)
9	Org-A- II	Organic	Sehwa	Pyoseon	Andisols (Pachic Melanudands)
10	Org-A- III	Organic	Handong	Wimi	Andisols (Acruoxic Melanudands)
11	Org-NA- I	Organic	Shinchon	Donghong	Non-andisols (Mollic Paleudalfs)
12	Org-NA- II	Organic	Shinchon	Donghong	Non-andisols (Mollic Paleudalfs)
13	Org-NA- III	Organic	Shindo	Hawon	Non-andisols (Humic Hapludults)
14	Org-NA- IV	Organic	Shindo	Wolryeong	Non-andisols (Typic Hapludands)

²⁾ Con, Conventional management; Org, Organic management; A, Andisols; NA, Non-andisols.

료는 풍건하여 사용하였으며 미생물 분석용 시료는 습토 상태로 멸균 샘플백에 담고 바로 4℃ 냉장 보관하면서 분석에 이용하였다. 토양의 화학성 분석은 농촌진흥청 농업과학기술 연구조사 분석기준(RDA, 2012)에 준하여 분석하였는데, 토양의 pH와 전기전도도(EC)는 토양과 증류수의 비율을 1:5로 추출하여 각각 pH와 전기전도도 측정기(Orion 3 Star)로 측정하였고, 총유기탄소 함량은 Tyurin법으로, 유효인산은 Lancaster법 그리고 치환성양이온 함량은 1N ammonium acetate로 침출한 후 ICP (OPTIMA 7300, PerkinElmer)를 이용하여 분석하였다.

3. 토양 미생물체량 및 효소 활성 분석

토양의 미생물학적 특성은 세균 등 미생물 밀도, 미생물체량(Biomass C), 그리고 탈수소 효소(dehydrogenase) 활성 등을 분석하였다. 토양의 미생물 밀도는 농촌진흥청 농업과학기술 연구조사 분석기준(RDA, 2012)에 준하여 선택배지를 이용한 희석평판법으로 조사하였다. 세균 및 방선균은 Egg-albumin 배지, 사상균은 Rose-Bengal agar 배지를 이용하여 28℃에서 배양하였으며 각각 5일과 3일 배양 후 콜로니를 계수하였다. 미생물체량(Biomass C)은 Vance 등(1987)의 방법에 따라 클로로포름 혼중 추출법을 이용하여 정량하였다. 토양 혼중처리 10 g의 습토가 담긴 패트리디쉬와 클로로포름 그리고 비등석이 담긴 비이커를 진

공데시게이터에 넣고 밀폐한 후 감압하였다. 클로로포름이 격렬히 끓기 시작하고 약 2분 경과 후 코크를 잠그고 상온에서 24 hr 동안 정치 배양하였다. 혼중 후 토양은 0.5 M K₂SO₄ 용액으로 추출하였으며 40 mM ferrous ammonium sulfate 용액으로 적정하여 Biomass C 함량을 계산하였다. 대조구는 비혼중 토양시료를 같은 방법으로 침출 여과하여 적정하였다. 탈수소효소 활성은 Casida 등(1964)의 방법에 따라 풍건토 6 g에 CaCO₃ 0.05 g과 1 mL의 3% triphenyl tetrazolium chloride (TTC) 용액을 가하여 잘 혼합한 후 37°C 항온조건에서 24 hr 배양하였다. 배양 후 생성된 2,3,5-Triphenyl formazan (TPF)을 methanol로 추출하여 여과 후 485 nm에서 UV-Vis spectrophotometer (Cary 500, Varian)로 흡광도를 측정하였다.

4. 토양 미생물 군집 분석

토양 미생물의 DNA 추출은 MPbio 사의 FastDNA SPIN Kit를 사용하였으며 키트의 protocol에 따라 분석을 진행하였다. PCR 증폭은 16S rRNA gene의 V3에서 V4 영역을 증폭하기 위하여 forward primer는 341F (5'-TCGTCGGCAGCGTC-AGATGTGTATAAGAGACAG-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') 그리고 reverse primer는 805R (5'-GTCTCGTGGGCTCGG-AGATGTGTATAAGAGACAG-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')을 사용하였다. PCR 반응조건은 첫 번째 반응은 95°C에서 3분, 다음 각 단계에서는 95°C (30초), 55°C (30초), 그리고 72°C에서 30초 반응을 25회 반복하여 증폭하고 마지막으로 72°C에서 5분 동안 반응하였다. 그리고 Illumina Nextera barcode를 부착시키기 위한 2차 반응 primer는 i5 forward primer (5'-AATGATACGCGACACCGAGATCTACAC-XXXXXXXXX-TCGTCGGCAGCGTC-3'; X는 barcode region) 그리고 i7 reverse primer (5'-CAAGCAGAAGACGGCATAACGAGAT-XXXXXXXXX-GTCTCGTGGGCTCGG-3')를 사용하였다. 2차 PCR 반응조건은 증폭 횟수가 8회인 것을 제외하면 1차 반응조건과 같았다(Chao and Shen, 2003; Bolger et al., 2014). PCR 증폭 산물의 pyrosequencing 분석은 Illumina MiSeq Sequencing system (Illumina, USA)을 사용하고 있는 Chunlab, Inc. (Seoul, Korea)에서 수행하였다. 분석 결과로 얻어진 Taxonomic composition 및 통계 분석 등의 다양한 결과물들은 친랩(<http://www.chunlab.com>)에서 제시한 EzBioCloud 16S rRNA database와 MTP Pipeline으로 분석을 진행하였다. 세균의 종 풍부도는 Ace, Chao 1 지수, 종 다양성은 Shannon과 Phylogenetic diversity 지수를 이용하였다. 또한 처리 간 미생물 군집 구성의 차이를 계통도로 비교하기 위하여 distance matrix로 Jensen-Shannon 방법(Lamberti et al., 2008)을 이용하였다.

5. 통계분석

시험분석은 SAS 프로그램(SAS version 8/2, NC, USA)을 이용하였으며, 평균간 유의차 검

정은 Duncan's multiple range test 및 t-test로 95% 수준에서 분석하였다. 그리고 재배 방법 및 토양 종류별 바이오마커를 구명하기 위하여 LEfSe 분석을 실시하였다(Segata et al., 2011; Sivan et al., 2015).

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 무 유기재배와 관행재배 토양의 화학성 비교

무 토양의 재배 방법(유기 vs. 관행)과 토양 종류(화산회토 vs. 비화산회토)에 따른 화학성을 분석한 결과는 Fig. 1과 같다. 총유기탄소(TOC) 함량은 유기-화산회토(Org-A)와 관행-화산회토(Con-A) 토양에서 각각 9.1과 8.1%, 유기-비화산회토(Org-NA)와 관행-비화산회토(Con-NA) 토양에서 각각 1.7%와 1.3%로 유의적인 차이는 없으나 대체로 유기재배 토양에서 높은 경향이었다. 반면에 화산회토의 TOC 함량은 비화산회토 보다 6배 정도 높고 현저한 차이를 보였다(Fig. 1A). 유효인산 함량은 Org-A와 Con-A 토양에서 각각 52와 61 mg kg⁻¹, Org-NA와 Con-NA 토양도 각각 421와 339 mg kg⁻¹로 재배 방법별 유의적인 차이는 없었으며, TOC 함량과는 반대로 비화산회토에서 6.7배 높고 현저한 차이를 보였다(Fig. 1B). 토양 pH는 Org-A와 Con-A 토양에서 각각 5.6 및 6.2, Org-NA와 Con-NA 토양에서 각각 6.0 및 5.1로 유의적인 차이를 나타냈다(Fig. 1C). 전기전도도(EC)는 Con-A 토양에서 1.0 dS m⁻¹으로 가장 높고 Con-NA > Org-A > Org-NA 순으로 감소하였으며 대체로 유기재배 토양이 관행 대비 낮았다(Fig. 1D). 치환성양이온 함량은 비화산회토의 경우 유기재배 토양에서 다소 높은 경향이나 유의적인 차이는 없었다. 반면에 화산회토에서는 칼슘 및 마그네슘 함량이 Con-A 토양에서 높았는데 이는 행원통 포장(Con-A-III)의 폐화석 객토로 인해 전체 평균이 높아진 것으로 사료된다(Fig. 1E, F, G).

이상의 결과를 보면 토양 화학성은 재배 방법별 큰 차이를 보이지 않았으나 비화산회토의 경우 pH, 유효인산, 치환성양이온 함량은 유기재배 토양이 관행 대비 대체로 높은 경향이었다. 반면에 토양 종류별로는 TOC, 유효인산 그리고 치환성칼륨 함량에서 뚜렷한 차이를 보였다. 이전의 연구에서 Whalen 등(2000)은 화학비료의 지속적인 사용은 acidification과 nitrification 작용으로 토양 산도를 감소시키는 반면에 유기농업 시스템에서는 퇴비 등에서 유리되는 bicarbonate 및 organic acids의 완충작용으로 토양 pH가 증가한다고 하였다. 그리고 Liao 등(2018)은 유기-시설토양에서 가용성 질소와 인 함량이 관행 대비 137% 및 711% 증가하였으나 노지재배의 경우 유기와 관행 토양 간 차이는 없었다고 하였다. 또한 Wang 등(2012)은 유기와 관행재배 토양의 화학성을 비교한 연구들을 고찰한 결과 대부분 유기재배 토양은 총탄소와 유기탄소 함량이 증가하는 경향이었으나 다른 화학성들은 일정한 경

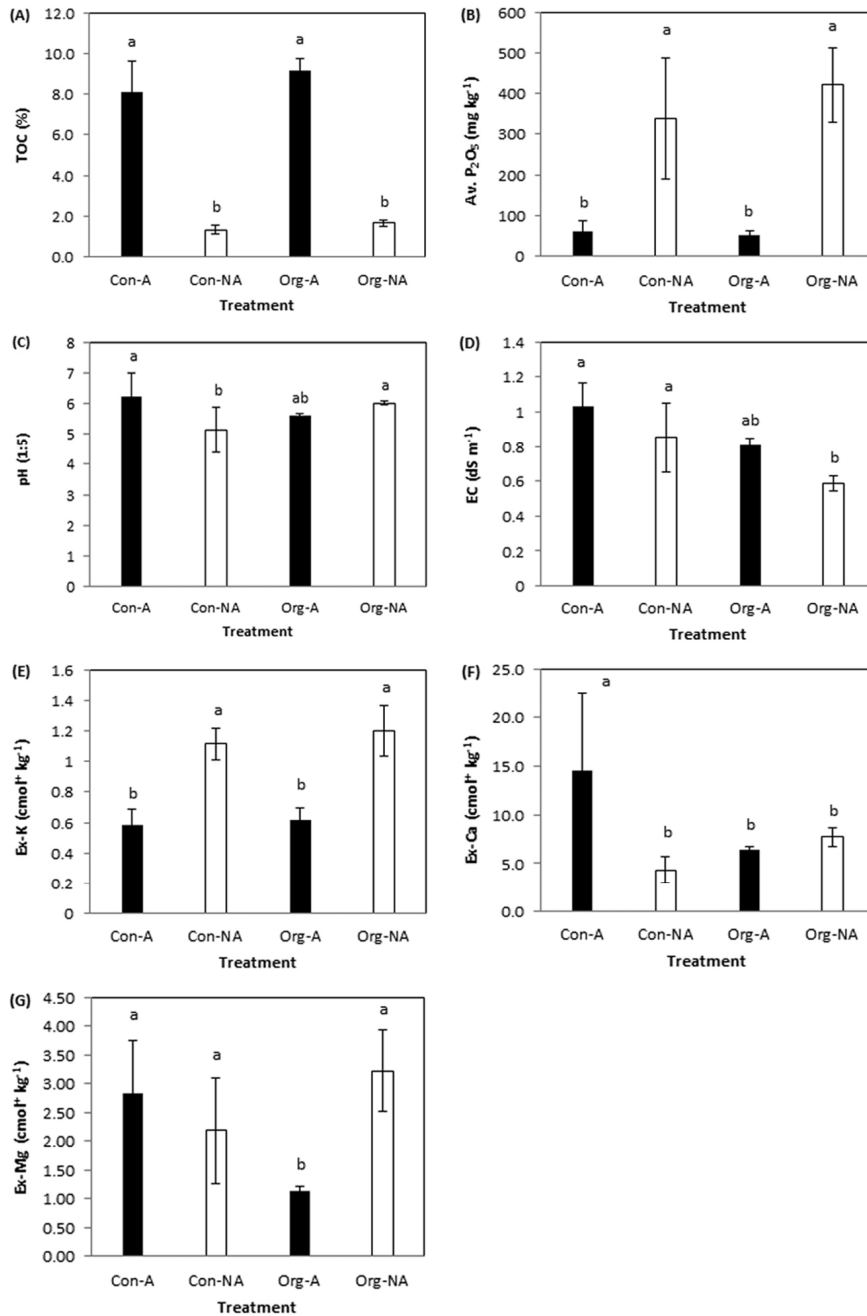


Fig. 1. The soil chemical properties under different cultivation systems and soils of Radish.

Con, Conventional management; Org, Organic management; A, Andisols; NA, Non-andisols. (A), TOC (Total Organic Carbon); (B), Available phosphate; (C), pH; (D), EC (Electrical conductivity); (E), Ex-K (Exchangeable Potassium); (F), Ex-Ca (Exchangeable Calcium); (G), Ex-Mg (Exchangeable Magnesium).
^{a,b} Different letters indicate statistically significant differences by Duncan's test at $p < 0.05$. The error bars indicate standard deviation.

향을 보이지 않았다고 하였다. 따라서 토양 화학성에 대한 단기적인 재배 시스템의 영향은 크지 않으나 인위적인 객토나 지속적인 재배 시스템은 화학성에 영향은 주며, 무엇보다 기상 여건, 모암 특성, 그리고 식생 등의 영향으로 오랜 기간에 걸쳐 형성된 토양 종류에 따라 화학성이 크게 차이를 보이는 것으로 판단된다.

2. 무 유기재배와 관행재배 토양의 미생물체량과 효소 활성

재배 방법 및 토양 종류별 미생물 밀도 및 미생물체량을 조사한 결과는 Fig. 2와 같다. 토양의 세균 밀도는 Org-A와 Con-A 토양에서 각각 732와 470 ($\times 10^5$ cfu g^{-1} , dw), Org-NA와

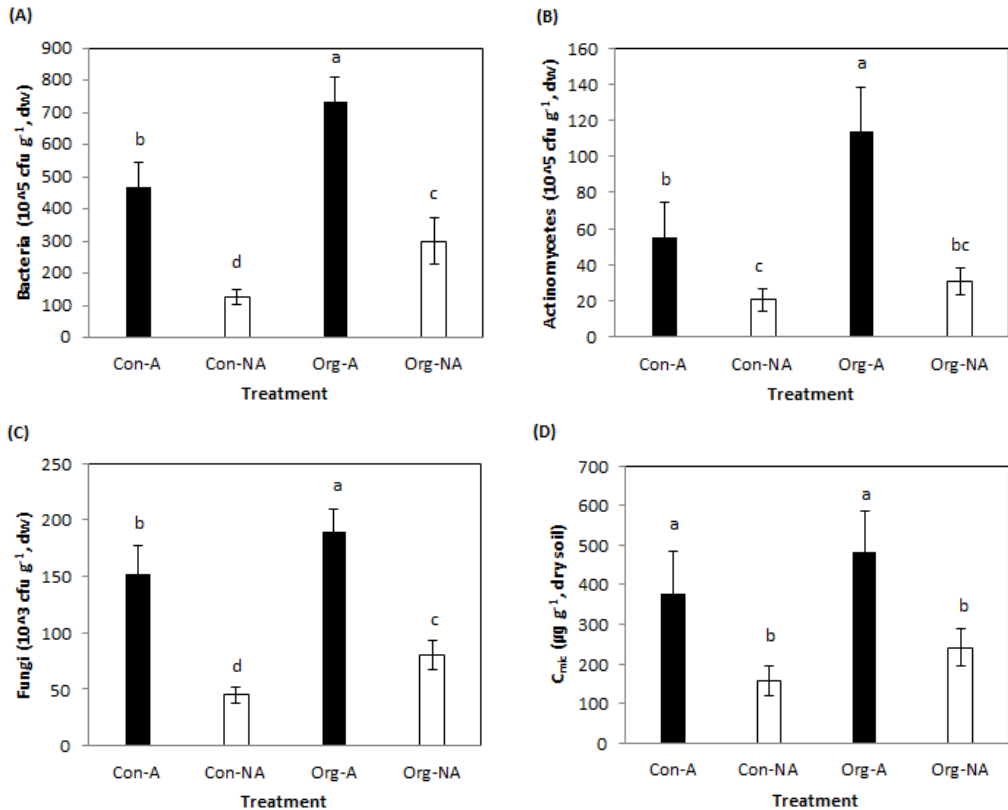


Fig. 2. The soil microbial density and microbial biomass C under different cultivation systems and soils of Radish. Con, Conventional management; Org, Organic management; A, Andisols; NA, Non-andisols. (A), Bacteria; (B), Actinomycetes; (C), Fungi; (D), C_{mic} (microbial biomass C).

^{a-c} Different letters indicate statistically significant differences by Duncan's test at $p < 0.05$. The error bars indicate standard deviation.

Con-NA 토양에서도 각각 300과 125 ($\times 10^5$ cfu g^{-1} , dw)로 유기재배 시 화산회토와 비화산회토에서 각각 1.6배, 2.4배 증가하였으며 유의적인 차이를 보였다. 방선균 밀도는 유기재배 시 화산회토와 비화산회토에서 관행 대비 각각 2배, 1.5배, 사상균 밀도 또한 각각 1.2배, 1.8배 증가하며 유의적인 차이를 보였다. 미생물체량(Biomass C)은 Org-A와 Con-A 토양에서 각각 483과 375 (μg g^{-1} , dw), Org-NA와 Con-NA 토양에서도 각각 241과 158 (μg g^{-1} , dw)로 유기재배 시 화산회토와 비화산회토에서 각각 29%, 53% 증가하였으나 유의적인 차이는 없었다. 반면에 토양 종류별로 보면 화산회토에서 높고 유의적인 차이를 보였다. 그리고 유기물 분해에 관여하는 탈수소효소 활성은 Org-NA 토양에서 122.9 (μg g^{-1} , dw)로 가장 높았으며 Con-NA 대비 3배 증가하였다(Fig. 3). 이상의 결과에서 세균 등의 미생물 밀도 및 미생물체량은 토양 종류에 관계없이 유기재배 토양에서 관행 대비 증가하였으며, 탈수소효소 활성은 비화산회토의 경우 유기재배 토양에서 현저히 증가하였다.

이와 유사하게 Wang 등(2012)이 유기와 관행재배 토양을 비교한 연구들을 고찰한 결과 Biomass C 등 미생물체량과 미생물 풍부도 및 다양성이 유기재배 토양에서 증가하였다고 하였으며, Lori 등(2017)도 여러 연구들을 분석한 보고서에서 유기재배 토양이 관행 대비 미생물체량(Biomass C와 N)과 탈수소효소 활성 등이 32~84% 증가하였다고 하였다. 또한 Deenik (2006)는 화산회토양은 알루미늄 독성과 인산이 부족하기 때문에 미생물 활성이 낮다고 하였으며, Joa 등(2013)도 제주지역 토양의 탈수소효소 활성은 농경지 이용 유형에 상관없이 비화산회토가 화산회토 보다 높다고 보고하였다.

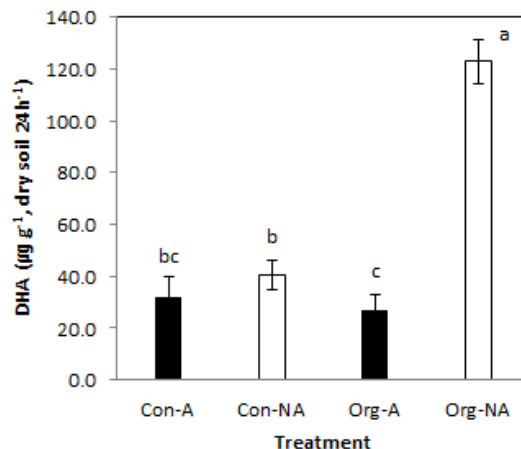


Fig. 3. Dehydrogenase activity under different cultivation systems and soils of Radish. Con, Conventional management; Org, Organic management; A, Andisols; NA, Non-andisols; DHA, dehydrogenase activity.

^{a-c} Different letters indicate statistically significant differences by Duncan's test at $p < 0.05$. The error bars indicate standard deviation.

3. 무 유기재배와 관행재배 토양의 미생물 다양성 지수

재배 방법 및 토양 종류별 세균 군집구조를 비교해 보기 위해 UPGMA (unweighted pair group method with arithmetic mean) dendrogram 분석을 실시한 결과, 크게 군집구조의 유사성이 있는 화산회토와 비화산회토 2개의 그룹으로 구분되었다(Fig. 4). 그리고 그룹 내에서는 대체적으로 토양통별 유사한 군집구조를 보였으며 비화산회토 그룹 내에서는 재배 방법별 비슷한 군집구조를 보였다. 이상의 결과에서 세균 군집구조는 토양 종류별 차이가 크며 이는 오랫동안 형성된 토양의 물리·화학적 특성과 더불어 생물학적 특성이 미생물 군집 분포에 영향을 주는 것으로 판단된다.

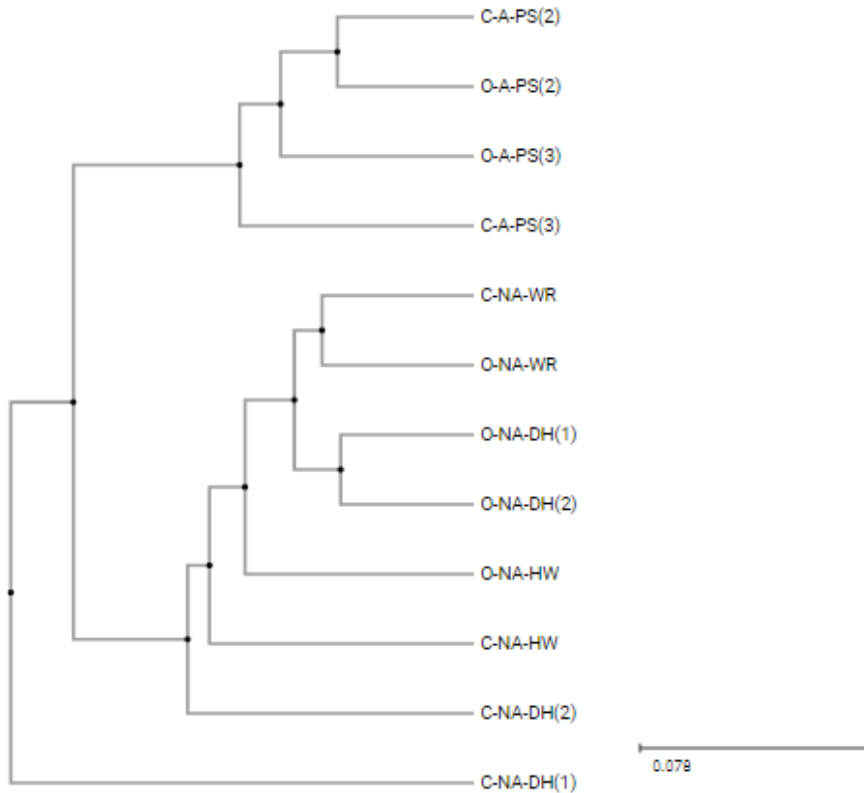


Fig. 4. UPGMA dendrogram under different cultivation systems and soils of Radish using Jensen-Shannon method. UPGMA, unweighted pair group method with arithmetic mean; C, Conventional management; O, Organic management; A, Andisols; NA, Non-andisols.

Table 2. Comparison of bacterial diversity indices derived from 16S rRNA genes under different cultivation systems and soils of radish

Richness and Diversity index ^{y)}		Treatment ^{z)}				Average				P value ^{x)}	
		Con-A	Con-NA	Org-A	Org-NA	Con	Org	A	NA	Con/Org	A/NA
Richness index	OTUs	4374	3796	4442	4497	3988	4479	4408	4146	0.223	0.352
	Ace	4703	4059	4767	4825	4274	4806	4735	4442	0.194	0.329
	Chao 1	4526	3898	4565	4622	4107	4603	4545	4260	0.211	0.333
Diversity index	Shannon	7.2	6.7	7.4	6.8	6.9	7.0	7.3	6.8	0.364	0.002
	Phylogenetic diversity	4178	3364	4266	4452	3635	4390	4222	3908	0.067	0.288
Good's Lib. Coverage		98.2	98.1	98.1	98.2	98.1	98.1	98.1	98.1	0.490	0.487

^{z)} Con, Conventional management; Org, Organic management; A, Andisols; NA, Non-Andisols.

^{y)} OTUs, operational taxonomic units; Ace and Chao1, nonparametric species richness estimators; Shannon and Phylogenetic diversity, the diversity indices; Coverage, Good's nonparametric coverage estimator.

^{x)} p-value determined using a one-tailed t test ($p < 0.05$). Bold numerals show significance at $p = 0.05$.

그리고 세균의 종 풍부도와 다양성 분석을 실시하였는데, 대부분의 시료에서 98% 이상의 Good's Lib. Coverage를 보여 전체 세균 군집을 파악하는데 충분한 read 수를 얻었다 (Table 2). 종 풍부도(Species richness)를 나타내는 OTUs, Ace 그리고 Chao 1 지수는 Org-NA 토양에서 각각 4,497, 4,825 및 4,622로 가장 높고 Org-A > Con-A > Con-NA 순으로 감소하는 경향을 보였으며, 특히 Chao 1 지수는 유기재배 토양에서 관행 대비 평균 12% 증가하였다. 종 다양성(Species diversity)을 나타내는 Shannon 지수는 화산회토 7.3 그리고 비화산회토 6.8로 유의적인 차이를 보였다. 또한 Phylogenetic diversity 지수는 Org-NA 토양에서 4,452로 가장 높고 Org-A > Con-A > Con-NA 순으로 감소하는 경향을 보였는데, 유기재배 토양에서 관행 대비 평균 20% 그리고 화산회토에서 비화산회토 대비 평균 12% 증가하였다.

이와 유사하게 Lupatini 등(2017)도 16S rRNA gene을 이용한 토양 미생물 군집분석에서 종의 풍부도, 다양성 및 이질성이 유기재배 토양에서 증가하였는데, 이는 퇴비 등 투입에 의한 유기물의 증가로 미생물 서식지가 제공되며 이로 인해 다양한 미생물 군집이 형성되면서 종 다양성이 증가하고 결국 지속적인 유기농업 시스템은 미생물 군집에 영향을 준다고 밝혔다.

4. 무 유기재배와 관행재배 토양의 미생물 군집 분포

재배 방법 및 토양 종류에 따른 미생물 군집 분포를 문(phylum) 수준에서 분석하였다

(Fig. 5, Table 3). 우점하고 있는 주요 세균 문은 Proteobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Firmicutes 그리고 Actinobacteria 등이었고, Proteobacteria 문이 화산회토 및 비화산회토에서 각각 25.9%, 21.9~24.9%로 가장 높은 분포를 보였으며 Cyanobacteria와 AD3는 화산회토에서만 발견되었다. 주요 세균 문의 분포는 Con-A 토양의 경우 Proteobacteria (25.9%) > Acidobacteria (21.6%) > Chloroflexi (14.1%) > Actinobacteria (11.8%) > Firmicutes (6.7%) 순이었고, Org-A 토양은 Proteobacteria (25.9%) > Acidobacteria (21.3%) > Chloroflexi (13.8%) > Actinobacteria (12.4%) > Firmicutes (5.1%) 순으로 유사한 분포를 보였다. 반면에 Con-NA 토양은 Proteobacteria (21.9%) > Chloroflexi (18.0%) > Actinobacteria (16.6%) > Acidobacteria (14.3%) > Firmicutes (13.1%) 순이었고, Org-NA 토양은 Proteobacteria (24.9%) > Firmicutes (21.0%) > Actinobacteria (16.2%) > Acidobacteria (12.9%) > Chloroflexi (7.9%)의 분포를 보였다. 특히, Firmicutes 문의 분포는 Org-NA 토양에서 21%로 가장 높고 Con-NA 13.1% > Con-A 6.7% > Org-A 5.1% 순으로 감소하였으며, Acidobacteria 문은 Con-A에서 21.6%로 가장 높고 Org-A 21.3% > Con-NA 14.3% > Org-NA 12.9% 순으로 감소하였는데 대체로 화산회토와 관행재배 토양에서 높은 경향이였다.

이전의 연구에서 Joa 등(2009)은 제주지역 화산회토 감귤원에서 미생물 군집분석 결과 Proteobacteria (37.7~45.4%), Acidobacteria (12.2~20.4%) 그리고 Actinobacteria (8.1~17.1%) 문

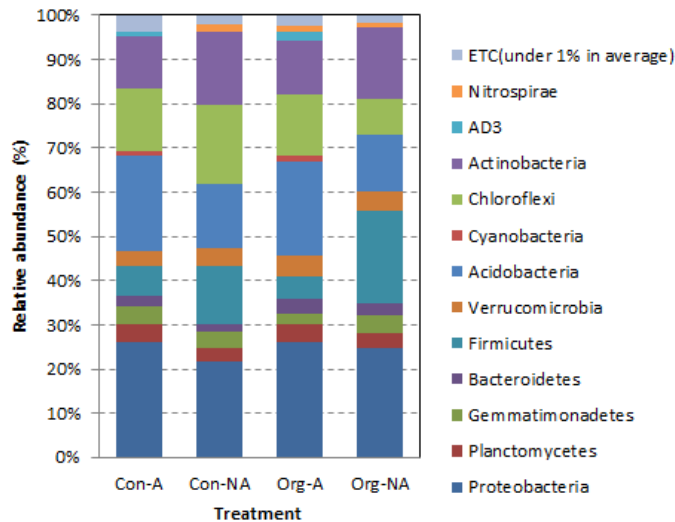


Fig. 5. Relative average abundances of soil bacterial *Phyla* under different cultivation systems and soils of Radish. Bacterial community composition determined using 16S rRNA sequencing-based analysis. Only the phyla that were present in relative abundance of > 1% total sequence tags. Con, Conventional management; Org, Organic management; A, Andisols; NA, Non-andisols.

이 전체의 약 58.0~82.9%로 우점하였고, 시비방법 등 환경적인 요인들은 세균의 생존과 군집 구조에 영향을 준다고 하였으며, Buckley와 Schmidt (2003)은 장기적인 토양관리 시스템은 토양 미생물 군집에 영향을 미칠 수 있으나 일시적인 토양관리가 미치는 영향은 미비하다고 하였다. 또한 Armalyte 등(2019)은 토양 미생물 군집은 안정한 상태로 유지되고 있어서 유사한 토양 구조와 pH를 갖는 토양에서는 유기와 관행 재배방식에 관계없이 비슷한 미생물 조성을 가지고 있다고 하였다. 본 연구에서는 화산회토의 경우 재배 방법에 관계없이 유사한 군집 분포를 보였으나 비화산회토에서는 차이를 보였는데, 이는 토양 종류에 따라 다소 차이는 있으나 지속적인 유기재배 시스템은 미생물 군집 분포에 영향을 미칠 수 있음을 보여준다.

Table 3. Bacterial *phyla* composition under different cultivation systems and soils of radish

Phylum	Treatment ²⁾			
	Con-A	Con-NA	Org-A	Org-NA
-----%				
Proteobacteria	25.9	21.9	25.9	24.9
Planctomycetes	4.4	2.9	4.0	3.3
Gemmatimonadetes	3.9	3.6	2.6	4.0
Bacteroidetes	2.4	1.8	3.2	2.6
Firmicutes	6.7	13.1	5.1	21.0
Verrucomicrobia	3.2	4.2	4.8	4.3
Acidobacteria	21.6	14.3	21.3	12.9
Cyanobacteria	1.1	-	1.2	-
Chloroflexi	14.1	18.0	13.8	7.9
Actinobacteria	11.8	16.6	12.4	16.2
AD3	1.2	-	2.0	-
Nitrospirae	-	1.4	1.4	1.2
ETC (under 1% in average)	3.7	2.2	2.3	1.6

²⁾ Con, Conventional management; Org, Organic management; A, Andisols; NA, Non-andisols.

5. 무 유기재배와 관행재배 토양의 LEfSe 분석

재배 방법 및 토양 종류별 미생물 군집을 대표하는 biomaker를 찾기 위하여 LEfSe 분석을 실시하였다(Table 4). LDA score 값이 2.5 이상인 17종의 OTUs를 얻었으며 문(phylum) 수준에서는 Firmicutes, Acidobacteria, Planctomycetes, 그리고 Proteobacteria 등 4종이 유의한

차이를 보였다. 특히 Firmicutes 문의 LDA score는 3.9 (p-value, 0.019)로 Org-NA 토양에서 가장 높았으며, 속(genus) 수준에서도 *Bacillus* (Firmicutes)가 Org-NA 토양에서 유의하게 증가되었다(p-value, 0.034). 따라서 이들 미생물이 Org-NA의 바이오피커로 추정되었으며, LEfSe 분석결과에서도 유기재배 그리고 비화산회토에서 높은 분포를 보였다(Fig. 6 & Fig. 7). *Bacillus* 속 균주는 대표적인 PGPB (Plant growth- promoting bacteria)로 호르몬(e.g., auxin), 항생물질(e.g., surfactin) 그리고 cellulase, phosphatase 등과 같은 유기물 분해 관련 효소를 생산하는 유용한 균주로 알려져 있으며 농업적으로 많이 활용되고 있다(Bacon et al., 2015). 특히 이전의 연구에서 Firmicutes 문의 풍부도는 퇴비 투입과 연관성이 높다고 하였으며 (Wepking et al., 2017), Liao 등(2018)도 LEfSe 분석을 통해서 시설 유기재배 토양에서 10

Table 4. LEfSe analysis identified the most differentially abundant taxa under different cultivation systems and soils of radish

Taxon name	Taxon rank	Taxon phylum	LDA score ²⁾	P-value ³⁾	Treatment ^{x)}			
					C-A	C-NA	O-A	O-NA
<i>Bacillales</i>	Order	Firmicutes	4.0	0.019	6.04	12.30	3.95	19.67
<i>Bacilli</i>	Class	Firmicutes	4.0	0.019	6.06	12.31	3.99	19.69
<i>Bacillaceae</i>	Family	Firmicutes	3.9	0.024	4.26	10.51	2.61	17.48
<i>Firmicutes</i>	Phylum	Firmicutes	3.9	0.019	6.70	13.08	5.13	21.00
<i>Bacillus</i>	Genus	Firmicutes	3.9	0.024	4.07	10.07	2.51	16.79
<i>Bacillus megaterium group</i>	Species	Firmicutes	3.4	0.034	0.89	4.95	0.35	8.55
<i>PAC000121_o</i>	Order	Acidobacteria	3.3	0.046	2.93	0.53	2.46	0.09
<i>PAC000121_f</i>	Family	Acidobacteria	3.3	0.046	2.91	0.52	2.45	0.09
<i>Acidobacteria</i>	Phylum	Acidobacteria	3.2	0.039	21.60	14.30	21.30	12.90
<i>Planctomycetes</i>	Phylum	Planctomycetes	3.2	0.040	4.37	2.88	4.04	3.34
<i>Myxococcales</i>	Order	Proteobacteria	3.2	0.034	2.29	0.91	2.00	1.61
<i>Clostridium</i>	Genus	Firmicutes	2.7	0.039	0.21	0.45	0.35	0.84
<i>Clostridiaceae</i>	Family	Firmicutes	2.7	0.046	0.25	0.47	0.37	0.90
<i>HM748676_g</i>	Genus	Acidobacteria	2.7	0.045	0.86	0.28	0.96	0.10
<i>EF516743_s</i>	Species	Planctomycetes	2.7	0.044	0.64	0.10	0.42	0.01
<i>Rudaea</i>	Genus	Proteobacteria:	2.6	0.039	0.91	0.11	0.75	0.19
<i>Brucellaceae</i>	Family	Proteobacteria	2.6	0.043	0.22	0.03	0.43	0.14

²⁾ The threshold on the logarithmic LDA score for discriminative features was set to 2.5.

³⁾ DMRT (p<0.05)

^{x)} C, Conventional management; O, Organic management; A, Andisols; NA, Non-andisols.

개 속 미생물 분포가 관행 대비 유의하게 증가되었으며, 이들 미생물은 대부분 *Bacillus* (Firmicutes)와 같은 작물생장촉진과 유기물 가용화와 관련된 미생물이라고 하였다.

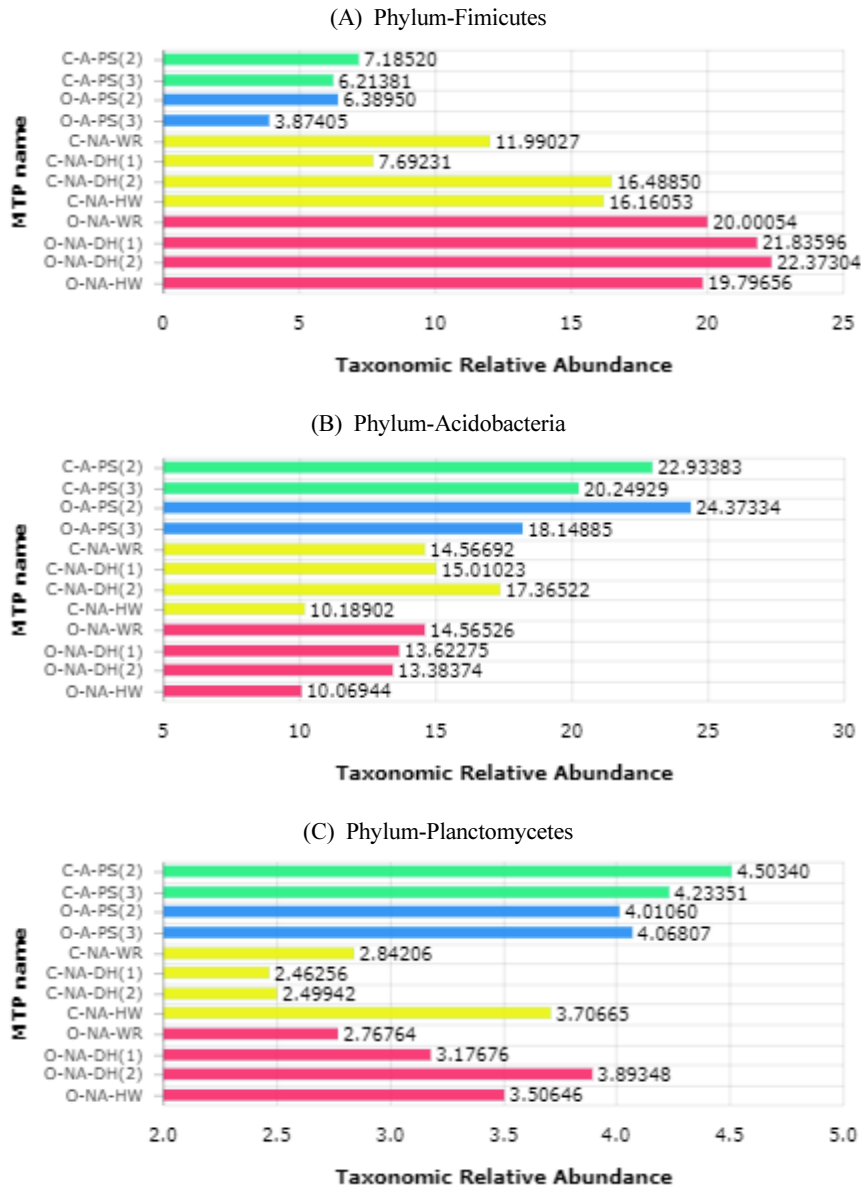


Fig. 6. Taxonomic relative abundance of the most differentially abundant Phyla under different cultivation systems and soils of Radish. C, Conventional management; O, Organic management; A, Andisols; NA, Non-andisols. (A), Firmicutes; (B), Acidobacteria; (C), Planctomycetes.

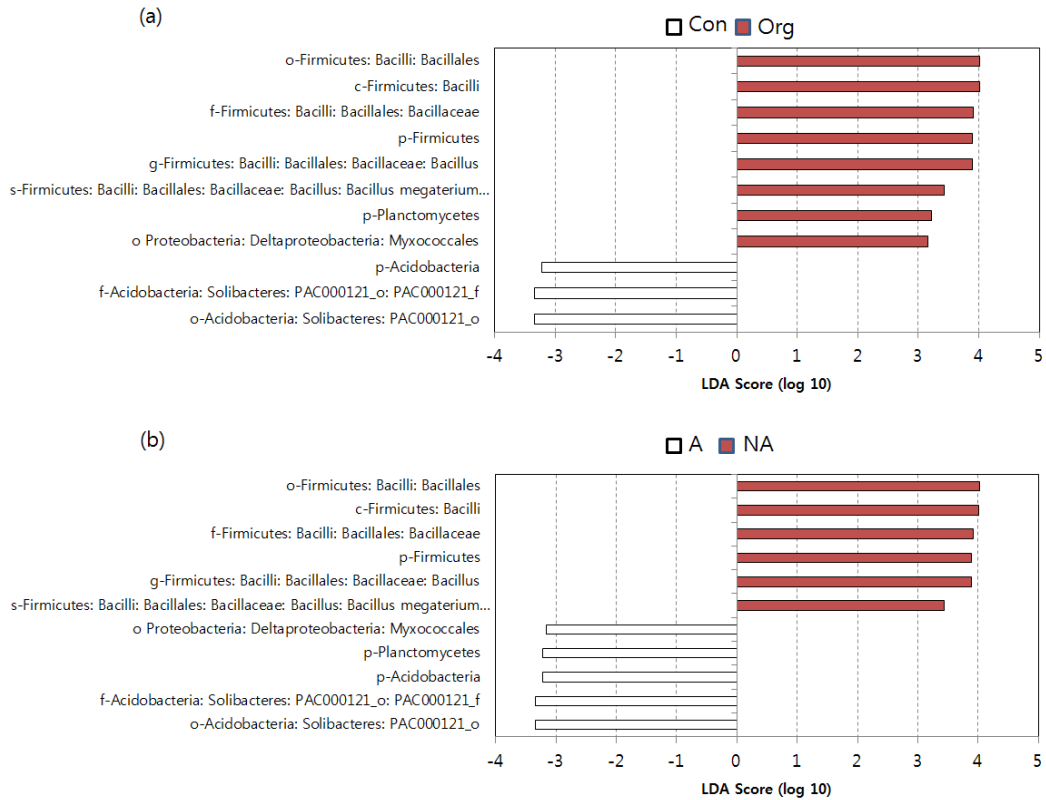


Fig. 7. LefSe identified the most differentially abundant taxa under different cultivation systems and soils of Radish. (a), The taxa whose abundance differed between conventional and organic cultivation systems; (b), The taxa whose abundance differed between andisols and non-andisols. The threshold on the logarithmic LDA score for discriminative features was set to 3.0. Con, Conventional management; Org, Organic management; A, Andisols; NA, Non-andisols.

반면에 Acidobacteria 그리고 Planctomycetes 문은 화산회토에서 상대적인 풍부도가 높았으며, LefSe 분석 결과 Acidobacteria 문은 유기 대비 관행 토양에서 높은 분포를 보였다 (Fig. 6 & Fig. 7). Acidobacteria 문은 토양 유기탄소 순환과 양분 가용화에 관여하는 미생물이며 (Chaudhry et al., 2012), 비옥도가 낮은 토양의 지표미생물로 알려져 있다 (Schlesner, 1994). 또한 Planctomycetes 문도 heteropolysaccharide와 chitin을 분해하는 미생물로 탄소 순환에 관여하며 총유기탄소 함량과 관련이 있는 것으로 보고되었다 (Wieczorek et al., 2014; Wang et al., 2015). 본 연구에서도 이들 문은 TOC 함량은 높은 반면 유효인산 등 비옥도가 낮은 화산회토에서 상대적인 풍부도가 높게 나타나 이전의 연구 결과와 유사한 경향을 보였다.

6. 토양 미생물 군집과 화학성과의 상관관계

재배 방법 및 토양 종류별 유의하게 차이를 보이는 3종의 세균 문(phylum) 분포와 토양 화학성, 미생물체량 및 효소 활성과의 상관관계를 분석하였다(Table 5). 분석 결과 pH, EC, Ex-Ca 그리고 Ex-Mg 등의 화학성은 Firmicutes 등 3종의 세균 문과 유의한 상관관계를 보이지 않았다. 반면에 유효인산은 Firmicutes와 강한 양의 상관관계($r=0.65^*$)를 보였으며, Acidobacteria와 Planctomycetes와는 약한 음의 상관관계를 보였다. 치환성칼륨 함량은 Firmicutes와 보통의 양의 상관관계를 보였으나 유의성은 없었고 Acidobacteria와 Planctomycetes와는 강한 음의 상관관계($r=-0.60^*$ 및 $r=-0.82^{**}$)를 나타냈다. 그리고 탈수소효소 활성은 Firmicutes와 매우 강한 양의 상관관계($r=0.81^{**}$), Acidobacteria와는 강한 음의 상관관계($r=-0.59^*$)를 보였다. 그리고 총유기탄소 함량은 Firmicutes와 강한 음의 상관관계($r=-0.75^{**}$), Acidobacteria 및 Planctomycetes와는 강한 양의 상관관계($r=0.85^{**}$ 및 $r=0.7^*$)를 보였는데 미생물체량도 이와 비슷한 경향이였다.

Table 5. Correlation analysis between soil properties and differentially abundant *Phyla* of different cultivation systems and soils

Phylum	pH	EC ²⁾	Av.P ₂ O ₅	Ex-K	Ex-Ca	Ex-Mg	TOC	Cmic	DHA
Firmicutes	0.28	-0.20	0.65³⁾	0.53	0.21	0.39	-0.75 ^{**}	-0.45	0.81 ^{**}
Acidobacteria	-0.19	0.50	-0.42	-0.60 [*]	-0.09	-0.33	0.85 ^{**}	0.75 ^{**}	-0.59 [*]
Planctomycetes	0.10	0.07	-0.36	-0.82 ^{**}	-0.13	-0.48	0.70 [*]	0.62 [*]	-0.18

²⁾ EC, electrical conductivity; Av. P₂O₅, available phosphate; Ex-K, exchangeable K; Ex-Ca, exchangeable Ca; Ex-Mg, exchangeable Mg; TOC, total organic carbon; DHA, dehydrogenase; Cmic, microbial biomass C.

³⁾ Significant correlation was showed in bold. Significance levels: ** $p<0.01$, * $p<0.05$.

이상의 결과에서 Firmicutes 문은 유효인산과 탈수소효소 활성과 강한 양의 상관관계를 보였으며, 비화산회토 그리고 유기재배와 밀접한 관련이 있는 것으로 판단된다. 반면에 Acidobacteria 문은 특히 TOC 함량과 강한 양의 상관관계 보였으며 화산회토와 관련이 있는 것으로 보인다. 이전 연구에서 Joa 등(2013)도 화산회토 발토양에서 총유기탄소 함량과 탈수소효소 활성은 높은 음의 상관관계($R^2=0.57$)를 보인다고 하였으며, Liao 등(2018)은 토양 미생물 생태계는 토양 환경과 밀접한 관련이 있는데 변화된 환경 요인들은 토양 미생물 군집 구성에 다시 영향을 준다고 하였다. 특히 미생물 군집 구성은 토양 환경 즉, pH, EC, 그리고 유효인산, 총유기탄소 함량 등과 유의한 상관관계가 있으며, 유기재배 토양관리는 유기탄소와 양분함량, 미생물 중 풍부도와 다양성 그리고 유용한 미생물 군집분포를 증가시켰다고 보고하였다.

본 연구결과는 토양 환경 및 재배 방식이 미생물 군집에 미치는 영향과 서로의 연관성을 이해하는데 활용될 수 있을 것으로 판단된다. 그러나 본 시험은 일부의 유기와 관행재배 무 포장에서 일정한 시점에서 얻어진 결과이기 때문에 일반화되지 않을 수 있으며 토양 미생물 군집 구조와 유기재배 시스템과의 관계를 밝히고 이해하는 데는 한계가 있다. 따라서 좀 더 명확한 결론을 내리기 위해서는 장기적이고 넓은 범위에서의 연구를 통해서 밝혀질 필요가 있다.

IV. 적 요

본 연구는 제주지역 무 주산지에서 재배 방법(유기 vs. 관행)과 토양 종류(화산회토 vs. 비화산회토)에 따른 토양의 화학적 특성, 미생물 활성 그리고 미생물 군집 조성을 분석하고 요인간 연관성을 구명하기 위하여 수행하였다. 전반적으로 유기와 관행의 재배 방식에 따른 토양 화학성은 처리간 뚜렷한 경향을 보이지는 않았으나 토양 미생물체량, 효소 활성, 종 풍부도와 다양성 그리고 미생물 군집 분포 등은 유의한 차이를 보였다. 반면에 토양 종류에 따른 화학성과 미생물 군집 분포 등 미생물학적 특성은 뚜렷한 차이를 보였다. 특히 유기재배 토양에서 관행 대비 토양의 세균, 방선균 및 사상균 그리고 미생물체량이 증가하였으며, Org-NA 토양에서 탈수소효소 활성, 종 풍부도(Chao 1) 그리고 종 다양성(Phylogenetic diversity) 지수가 가장 높았다. 무 재배 토양에 분포하고 있는 주요 세균 문은 Proteobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Firmicutes 그리고 Actinobacteria 등 5종이었으며 재배 방법 및 토양 종류에 관계없이 Proteobacteria 문이 화산회토에서 25.9%, 비화산회토에서 21.9~24.9%로 가장 높은 분포를 보였다. 그리고 대체로 화산회토와 비화산회토 토양 종류별로 유사한 군집 조성을 보였으며, 화산회토에서는 재배 방법별 주요 문의 군집 조성은 큰 차이가 없었으나 비화산회토에서는 차이를 보였다. 특히, Firmicutes는 Org-NA 토양에서 21.0%, Acidobacteria는 Con-A에서 21.6%로 가장 높은 분포를 보였는데 대체로 화산회토와 관행재배 토양에서 높은 경향을 보였다. 또한 재배 방법 및 토양 종류별 미생물 군집을 대표하는 바이오마커를 찾기 위하여 LEfSe 분석을 실시한 결과, Firmicutes 문의 분포가 비화산회토와 유기재배 토양에서 유의하게 증가하였다. 그리고 토양 화학성 중에서 총유기탄소 함량, 유효인산 그리고 치환성칼륨 함량은 Firmicutes 등 주요 세균 문과 유의한 상관관계를 보였다.

[Submitted, September. 2, 2019 ; Revised, November. 21, 2019 ; Accepted, November. 25, 2019]

References

1. Adams, J. 2011. Altitudinal, land use and substrate variation in determining soil prokaryotic community on Jeju Island, Korea. Research report of Seoul National University.
<http://www.ndsl.kr/ndsl/search/detail/report/>
2. Armalyte, J., J. Skerniskyte, E. Bakiene, R. Krasauskas, R. Siugzdinient, V. Kareiviene, S. Kerziene, I. Klimiene, and E. Suziedeliene. 2019. Microbial diversity and antimicrobial resistance profile in microbiota from soils of conventional and organic farming systems. *Frontiers in Microbiol.* 10(892).
3. Bacon, C. W., E. R. Palencia, and D. M. Hinton. 2015. Abiotic and biotic plant stress tolerant and beneficial secondary metabolites produced by endophytic *Bacillus* species. *Plant Micro. Sym.*: 163-177.
4. Beilen, N. V. 2016. Effects of conventional and organic agricultural techniques on soil ecology. *The center for development and strategy.* 2016(1).
5. Bolger, A. M., M. Lohse, and B. Usadel. 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30: 2114-2120.
6. Buckley, D. H., and T. M. Schmidt. 2003. Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. *Environ. Microbiol.* 5: 441-452. doi: 10.1046/j.1462-2920.2003.00404.x.
7. Casida, L. E., D. A. Klein, and T. Santoro. 1964. Soil dehydrogenase activity. *Soil Sci.* 98: 371-376.
8. Chao, A. and T. J. Shen. 2003. Nonparametric estimation of Shannon's index of diversity when there are unseen species in sample. *Environmental and ecological statistics*, 10(4): 429-443. doi: 10.1126/science.aac4255. Epub 2015 Nov 5.
9. Chaudhry, V., A. Rehman, A. Mishra, P. S. Chauhan, and C. S. Nautiyal. 2012. Change in bacterial community structure of agricultural land due to long-term organic and chemical amendments. *Microb. Ecol.* 64: 450-460. doi: 10.1007/s00248-012-0025-y.
10. Deenik, J. 2006. Nitrogen mineralization potential in important agricultural soils of Hawaii. *Soil Crop Manage.* 15: 1-5.
11. Gomiero, T., D. Pimentel, and M. G. Paoletti. 2011. Environmental impact of different agricultural management practices: Conventional vs. Organic agriculture. *Crit. Rev. Plant. Sci.* 30: 95-124.
12. Joa, J. H., S. G. Han, H. Y. Won, H. C. Lim, H. N. Hyun, and J. S. Suh. 2009. Effect of different fertilization management practices on soil microbial activities and community

- structure in volcanic ash citrus orchard soil. *Kor. J. of Soil Sci. Fer.* 42(3): 222-229.
13. Joa, J. H., K. H. Moon, K. S. Choi, S. C. Kim, and S. W. Koh. 2013. Soil dehydrogenase activity and microbial biomass C in croplands of Jeju Province. *Kor. J. of Soil Sci. Fer.* 46(2): 122-128.
 14. Hartmann, M., B. Frey, J. Mayer, P. Mader, and F. Widmer. 2015. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *ISME J.* 9: 1177-1194. doi: 10.1038/ismej.2014.210.
 15. Li, P., L. Chen, J. Zhang, J. Yin, and S. Huang. 2017. Bacterial community structure after long-term organic and inorganic fertilization reveals important associations between soil nutrients and specific Taxa involved in nutrient transformations. *Front Microbiol.* 8: 187. doi: 10.3389/fmicb.2017.00187.
 16. Liao, J. L., Y. Liang, and D. Huang. 2018. Organic farming improves soil microbial abundance and diversity under greenhouse condition: A case study in Shanghai (Eastern China). *Sustainability* 10: 3825. doi: 10.3390/su10103825.
 17. Lori, M., S. Symnaczik, P. Mader, G. D. Deyn, and A. Gattinger. 2017. Organic farming enhances soil microbial abundance and activity-A meta-analysis and meta-regression. *PLoS ONE* 12(7): e0180442.
 18. Lupatini, M., G. W. Korthals, M. de Hollander, T. K. S. Janssens, and E. Kuramae. 2017. Soil Microbiome is more heterogeneous in organic than in conventional farming system. *Front. Microbiol.* 7: 2064. doi: 10.3389/fmicb.2016.02064.
 19. Mader, P. A. Fliessbach, D. Dubois, L. Gunst, P. Fried, and U. Niggli. 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science.* 296: 1694-1697. doi: 10.1126/science.1071148.
 20. Lamberti, P. W., A. P. Mahtey, A. Borrás, M. Casas, and A. Plastino. 2008. On the metric character of the quantum Jensen-Shannon divergence. *Phys. Res. A,* 77(5): 052311.
 21. RDA. 2012. Standard analysis method of agricultural scientific technique (5th edition). Suwon-si, Korea.
 22. Schlesner, H. 1994. The development of media suitable for the microorganisms morphologically resembling *Planctomyces* spp., *Pirellula* spp., and other *planctomycetales* from various aquatic habitats using dilute media. *Syst. Appl. Microbiol.* 17: 135-145.
 23. Segata, N., J. Izard, L. Waldron, D. Gevers, L. Miropolsky, W. S. Garrett, and C. Huttenhower. 2011. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology* 12:R60. <http://genomebiology.com/2011/11/6/R60>.
 24. Sivan, A., L. Corrales, N. Hubert, J. B. Williams, K. Aquino-Michaels, Z. M. Earley, F. W. Benyamin, Y. M. lei, B. Jabri, M. L. Alegre, E. B. Chang, and T. F. Gajewski. 2015.

- Commensal Bifidobacterium promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. *Science*. Nov. 27; 350(6264): 1084-9.
25. Song, K. C., S. B. Lee, D. B. Lee, B. K. Huyn, and Y. K. Sonn. 2014. Taxonomical classification of Korean soils. National Academy of Agricultural Science. Suwon-si, Korea.
 26. Sugiyama, A. and J. M. Vivanco. 2010. Pyrosequencing Assessment of soil microbial communities in organic and conventional potato farms. *Plant Dis.* 94: 1329-1335.
 27. Tilman, D., K. G. Cassman, P. A. Matson, R. Naylor, and S. Polasky. 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature*. 418: 671-677.
 28. Ugolini, F. C. and R. A. Dahlgren. 2002. Soil development in volcanic ash. *Glob. Environ. Res.* 6(2): 69-81.
 29. Vance, E. D., P. C. Brookes, and D. S. Jenkinson. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.* 19: 703-707.
 30. Wang, S. Z. Li, and G. Fan. 2012. Soil quality and microbes in organic and conventional farming systems. *African J. of Micro. Research.* 6(24): 5077-5085.
 31. Wang, W., H. Wang, Y. Feng, L. Wang, X. Xiao, Y. Xi, X. Luo, R. Sun, X. Ye, Y. Huang, Z. Zhang, and Z. Cui. 2016. Consistent responses of the microbial community structure to organic farming along the middle and lower reaches of the Yangtze River. *Sci. Rep.* 6: 35046.
 32. Wang, X., C. E. Sharp, G. M. Jones, S. E. Grasby, A. L. Brady, and P. F. Dunfield. 2015. Stable-Isotope probing identifies uncultured planctomycetes as primary degraders of a complex heteropolysaccharide in soil. *Appl. Environ. Microb.* 81: 4607-4615.
 33. Wepking, C., B. Avera, B. Badgley, J. E. Barrett, J. Franklin, K. F. Knowlton, P. P. Ray, C. Smitherman, and M. S. Strickland. 2017. Exposure to dairy manure leads to greater antibiotic resistance and increased mass-respiration in soil microbial communities. *Proc. Biol. Sci.* 284, 20162233. doi: 10.1098/rspb.2016.2233.
 34. Whalen, J. K., C. Chang, G. W. Clayton, and P. Carefoot. 2000. Cattle manure amendments can increase the pH of acid soils. *Soil Sci. Am. J.* 64: 962-966.
 35. Wiczorek, A., S. Hetz, and S. Kolb. 2014. Microbial responses to chitin and chitosan in oxic and anoxic agricultural soil slurries. *Biogeosciences.* 11: 3339-3352.
 36. Xiong, W., Z. Li, H. Liu, C. Xue, R. Zhang, H. Wu, R. Li, and Q. Shen. 2015. The effect of long-term continuous cropping of Black Pepper on soil bacterial communities as determined by 454 pyrosequencing. *PLoS ONE.* 10. e0136946.