

loides 생육 토양의 전체 미생물량에는 뚜렷한 변화는 없지만, 미생물 군집에는 변화가 있었으며 곰팡이량이 증가한다는 연구가 보고되었다(Lori et al. 2005).

이산화탄소 농도 증가와 더불어 중금속 오염은 매년 증가하고 있으며, 이러한 중금속의 독성은 자연 생태계와 환경에 있어 심각한 영향을 미치고 있다(Knight et al. 1997). 특히, 토양은 대기권, 수권, 생물권에서 중금속을 공급하는 첫 번째 공급자로서 중금속 순환에 근원이 되고 있다(Muhammad et al. 2005). 토양의 중금속 오염은 광산, 주유소, 제련소와 같은 인간의 주 에너지원으로 사용되어지는 곳에서 주로 일어나고 있다. 중금속은 미생물 다양성을 감소시키고(Knight et al. 1997), 미생물의 생리적 활동에도 영향을 미치고 있다(Muhammad et al. 2005). 이러한 중금속 오염에 의한 토양 미생물 구조 변화와 개체군의 감소는 자연이 스스로 오염 물질을 정화할 수 있는 자정 능력을 감소시킨다.

토양의 미생물 수, 효소 활성 및 군집 구조의 변화는 중금속과 같은 토양 오염물에 의한 영향을 평가하기 위한 생물 지표(biological indicator)로 활용될 수 있다(Yao et al. 2000, Muhammad et al. 2005). 납, 아연, 카드뮴 등과 같은 중금속으로 오염된 토양에서 미생물의 효소 활성이 감소된다고 보고 되었다(Nicola et al. 2006). 그 중에서도 납은 일반적으로 토양에서 10 ~ 100 mg/kg의 농도로 검출되는데, 광산, 제련소 부근 등의 토양에서는 100 ~ 1,000 mg/kg의 납이 존재하며(Muhammad et al. 2005), 다른 중금속에 비해 토양의 미생물량에 큰 영향을 미친다고 보고되었다(Yang et al. 2005).

본 연구에서는 우리나라의 산림의 대표적인 침엽수인 소나무(*Pinus densiflora*) 생육 토양의 미생물 군집에 미치는 CO₂와 납의 영향을 파악하기 위해, 탄소원 이용도를 이용한 community-level physiological profiling (CLPP)와 16S rRNA-PCR 유전자 분석인 denaturing and gradient gel electrophoresis (DGGE) 방법을 이용하여 토양 미생물 군집 특성을 조사하였다.

재료 및 방법

실험 재료 및 조건

토양은 E대 약초원에서 소나무가 식재된 자연 토양을 채취한 후 2 mm 체로 쳐 마사와 1 : 1 (w/w) 비율로 섞어 사용하였고, 납(PbNO₃)을 증류수에 녹여 500 mg/kg으로 인위 오염시켜 항온항습 배양실에서 일주일간 보관하였다. 이렇게 납으로 오염시킨 토양과 비오염 토양을 각각 1 kg씩 pot에 넣었다. 이때 사용한 pot의 크기는 높이 15 cm, 지름 13.5 cm인 원형 pot를 사용하였고, 각각의 pot에 산림청에서 분양 받은 2년생 소나무(*Pinus densiflora*)를 길이는 18.4 cm ~ 19.7 cm로 비슷한 소나무를 골라 사용하였다. 또한, 사용한 토양의 물리·화학적 특성을 Table 1에 나타내었다. 실내 온도 25℃ 습도 60%가 유지되고, CO₂의 농도를 380 ppmv와 760 ppmv의 두 조건으로 설정되어 있는 growth chamber (Dasol Scientific Co. Korea)에서 3개월간 배양하였다. Growth chamber는 명과 암 조건을 각각 16시간과 8시간으

Table 1. Physico-chemical characteristics of soil used in this study

Facter	Soil
pH (1:5)	4.2 ± 0.2
Moisture content (%)	7.2 ± 0.2
Organic matter (%)	2.8 ± 1.0
Cation exchange capacity (meq/100g)	2.0 ± 0.7

로 하였다. 각 시료는 3반복으로 하였고, 배양 기간 동안에 각각의 pot에는 일주일에 한번씩 약 30 mL의 수분을 공급하여 주었다. 또한 식물에 영양을 공급하기 위하여 수분을 공급할 때마다 1/2로 Hoagland #1 (Hershey, 1994)용액을 20 mL (KNO₃ 606.66 mg/L, Ca(NO₃)₂·4H₂O 944.60 mg/L, NH₄H₂PO₄ 115.02 mg/L, Mg-SO₄ 492.94 mg/L, FeCl₂·7H₂O 492.94 mg/L, MnCl₂·4H₂O 1.78 mg/L, H₃BO₃ 2.84 mg/L, ZnSO₄·7H₂O 0.23 mg/L, CuSO₄·5H₂O 0.075 mg/L, H₂MoO₄ 0.016 mg/L)을 공급하였다.

CLPP 분석

각각의 시료는 납을 첨가하지 않고 CO₂의 농도가 380 ppmv 인 초기와 3개월 후에 채취한 시료(CA-0M, CA-3M)와 CO₂ 농도는 380 ppmv 납만 500 mg/kg-soil 첨가한 초기와 3개월 후에 채취한 시료(CB-0M, CB-3M)와 CO₂의 농도를 760 ppmv로 처리 3개월 후 채취한 시료(EA-3M), CO₂의 농도를 760 ppmv와 납 처리 3개월 후 채취한 시료(EB-3M)로 총 6개의 시료를 가지고 실험을 수행하였다. 토양 시료와 멸균수를 1 : 10 (w/w) 비율로 희석한 후 200 rpm으로 10분간 교반한 후 정제시켜 상등액만 Eco plate(Biolog, USA)의 각각의 well에 150 μL씩 접종한 후, 20℃에서 배양하면서, 24시간 간격으로 각 well의 색 변화를 595 nm 파장에서 측정하여 분석하였다. 흡광도는 Multiskan Ascent (Thermo Labsystems, Finland)을 이용하여 측정한 후, average well color development (AWCD)를 다음의 식으로 계산하였다 (Garland and Aaron 1991).

$$AWCD = \sum(C-R)/n \text{ ----- (1)}$$

- C: 각 well의 OD_{595nm} 값
- R: Control well의 OD_{595nm} 값
- n: 기질의 수 (31)

생태학에서 종 다양성을 나타내는 지수인 Shannon index 값은 다음과 같은 식으로 계산하였다(Ian and Peter 2003).

$$H = - \sum P_i \ln P_i \text{ ----- (1)}$$

- H : Shannon Index
- P_i : 전체 OD_{595nm} 값에 대한 각각의 기질 OD_{595nm} 값

또한, 배양 3일, 5일 및 14일의 각 well의 OD값은 아래의 식

을 이용하여 계산한 후, SPSS 12.0k(SPSS Inc. Korea)을 이용하여 principal components analysis (PCA)를 수행하였다.

$$(C_{id}-R_{id})/AWCD_{id} \text{ ----- (1)}$$

C_{id} : 배양 i일째의 각 well의 OD_{595nm} 값

R_{id} : 배양 i일째의 control well의 OD_{595nm} 값

AWCD_{id} : 배양 i일째 AWCD 값

DGGE 분석

각 pot.으로부터 채취한 토양 시료 1 g을 BIO101 kit(FastDNA-N-SPIN Kit for Soil, Q-BIOgene, USA)를 사용하여 genomic DNA를 추출한 후, 이 genomic DNA 시료를 template로 하여, RCR (GeneAmp PCR system 2700, Applied Biosystem, USA)을 수행하였다(Cho et al. 2005). PCR에 사용한 primer는 341fGC(5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GCC TAC GGG AGG CAG CAG-3')과 518r(5'-ATT ACC GCG GCT GCT GG-3')이었다. PCR 조건은 95°C에서 5분 동안 predenaturation, 95°C에서 30초 동안 denaturation, 60°C에서 30초 동안 annealing, 72°C 30초 동안 extension을 28 cycling한 후에 72°C에서 5분 동안 final extension을 하였다.

PCR amplicon 시료를 DGGE(Dcode™ System, BIO-RAD, USA)를 수행하였다. 8% acrylamide/bis gel을 이용하였고, urea 농도 구배는 40~60%로 하였다. 전기 영동은 60°C에서 50V로 14시간 하였고, DGGE fingerprints의 유사성은 Gel ComparII(Applied Maths, USA)를 이용해 분석하였다(Cho et al. 2005).

결 과

소나무(*Pinus densiflora*)를 식재한 토양의 미생물 군집에 미치는 CO₂와 납의 영향을 조사하기 위해 CLPP 분석을 수행하였다. Eco plate의 31가지의 기질 중에서 대표적인 6개의 기질의 이용도를 Fig. 1에 도시하였다. L-arginine, 2-hydroxybenzoic acid, tween 80, phenylethylamine의 이용도는 *Pinus densiflora*를 식재 직후 토양 CA-0M, CB-0M 보다는 소나무를 식재하여 3개월간 배양한 CA-3M, CB-3M, EA-3M, EB-3M 토양이 기질 이용도가 좋았다(Fig. 1. a, c, e, f). 중금속의 첨가 여부에 의한 영향을 살펴보면 납을 첨가하지 않은 토양 시료가 첨가한 시료에 비해 기질 이용도가 활발하였다(Fig. 1. a, c, d, f). 그러나-erythritol과 γ-hydroxybutyric acid는 오히려 납을 첨가한 시료의 기질 이용도 활성이 우수하였다(Fig. 1. b, e).

각각의 토양 미생물 군집의 기질 이용도를 AWCD 값으로 비교 분석하였다(Fig. 2). 소나무를 식재하기 직후 토양의 경우는 (CA-0M, CB-0M) 소나무를 3개월간 키운 토양 시료(CA-3M, CB-3M, EA-3M, EB-3M)에 비해 기질 이용도가 낮았다. 또한, 납 오염 시료(CB-3M, EB-3M)가 비 오염 시료(CA-3M, EA-3M)에 비해 기질 이용도가 낮았다. 특히, 비 오염 토양(CA-3M, EA-3M)의 기질 이용도는 CO₂에 의해 크게 영향을 받지 않았으나, 납

오염 토양(CB-3M, EB-3M)의 경우에는 CO₂를 760 ppm으로 높은 토양 시료의 기질 이용도가 높았다. 각각의 시료들의 배양 3, 5, 14일 결과를 이용하여 유의차를 분석해 보았다. 그 결과 배양 3일째와 5일째는 CA-3M, CB-3M, EA-3M, EB-3M는 유의차가 모두 있었다($p < 0.01$). 배양 마지막 날인 14일째에는 토양을 중금속으로 오염시킨 CB-3M 시료에서만 유의 차이가 있는 것으로 나타났다($p < 0.05$).

각 시료간의 기질 이용도를 이용하여 PCA를 수행한 결과를 Fig. 3에 도시하였다. PC는 시료들 사이의 관계를 표현한 것으로 각 시료들 사이의 첫 번째 principal component(PC 1)의 변이는 각각 3, 5, 14일째 각각 76.79%, 72.78%, 79.34%였고, 두 번째 principal component(PC2)의 변이는 16.05%, 17.81%, 8.61%로 나타났는데, 모든 날짜가 PC 1이 PC 2보다 높게 나타났다. PCA 결과, 시간이 지날수록 납의 존재 여부에 따라 그룹화 되었는데, 3일째에는 중금속의 영향을 크게 받고 있지 않지만(Fig. 3 a), 5일이 지나면서 부터 납에 의한 그룹화가 나타나기 시작하여(Fig. 3 b) 측정 마지막 날인 14일째에는 이전 보다 중금속에 의한 영향이 더욱 뚜렷하게 나타났다(Fig. 3 c).

전체 31가지 기질의 흡광도 값에 대한 기질의 흡광도 값을 이용하여 Shannon index 값을 계산하여 Fig. 4에 도시하였다. 배양 3일째를 기준으로 Shannon index 값을 비교해 보면 초기 토양보다는 3개월간 배양한 토양의 종 다양성 지수가 높았다 (CA-0M : 2.67, CB-0M : 2.7, CA-3M : 3.03, CB-3M : 3.06, EA-3M : 3.12, EB-3M : 3.14). 하지만 이러한 배양 8일에는 모든 시료의 Shannon index 값이 거의 유사하였다.

각 토양 시료의 genomic DNA를 추출하여 16S rDNA-PCR 산물의 DGGE fingerprint를 Fig. 5에 도시하였다. DGGE fingerprint의 전체적인 경향은 실험 초기 토양인 납만 첨가(CB-0M) 혹은 비첨가(CA-0M)한 시료간의 DGGE fingerprint 유사성은 40%로, 납에 의해 세균 군집 구조가 크게 영향을 받음을 알 수 있었다. 소나무 식재가 토양 군집에 미치는 영향을 살펴보면, 우선 납에 의해 오염시키지 않은 토양의 경우 CA-0M와 CA-3M의 유사성은 15.4%, CA-0M와 EA-3M의 유사성은 20.7%, CB-0M와 EB-3M의 유사성은 25%였다. 즉, 소나무 식재 3개월 후에는 토양 세균 군집이 상당히 변화함을 알 수 있었다.

비오염 토양 시료(CA-3M과 EA-3M)의 유사성은 56.3%, 오염 토양 시료(CB-3M과 EB-3M)간의 유사성은 71.4%였다. 동일 CO₂ 농도 시료인 CA-3M과 CB-3M의 유사성은 53.3%, EA-3M과 EB-3M 35.8%였다. 즉, 토양 세균 군집구조는 CO₂ 농도보다는 납 오염 여부에 더 민감하게 영향을 받음을 알 수 있었다. 이와 같은 CO₂ 농도가 동일한 시료 사이의 유사도는 35.8~53.3% 이었으나, CO₂ 농도가 다름에도 불구하고 납 오염 여부가 동일하면 두 시료간의 유사도가 56.3~71.4%로 높았다.

고 찰

산업의 발달에 토양의 의한 중금속 오염과 CO₂ 농도의 증가

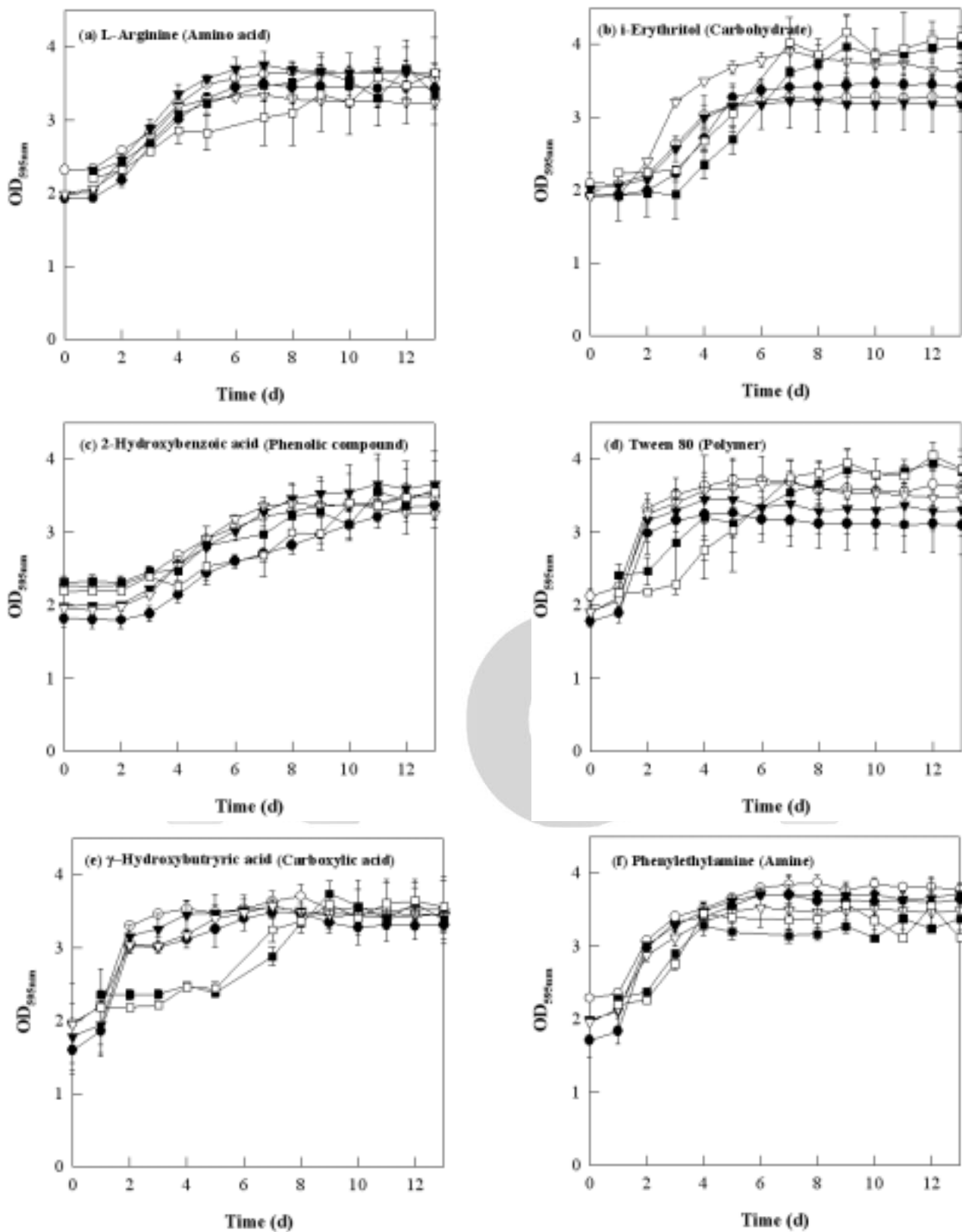


Fig. 1. Time course of substrate utilization in soil samples ($n=3$).

(■ : CA-0M, □ : CB-0M, ● : CA-3M, ○ : CB-3M, ▼ : EA-3M, ▽ : EB-3M)

는 산림 생태계에 직접적인 영향을 미친다. 중금속 오염은 식물 성장에 영향을 미치는 다양한 인자의 기능 저해와 토양 미생물 군집의 악영향을 미친다(Lori et al. 2004). 중금속에 의한 스트레스는 토양 미생물의 성장과 신진대사에도 관여를 하며, CO₂ 농도의 증가에 의한 토양 미생물의 변화는 지구의 탄소와 물질 순환과 큰 관계가 있다(Lori et al. 2004).

식물 뿌리와 근권 세균과의 상호 기작은 식물 성장에 크게 영향을 미친다(Glick, 1995, Kennedy et al. 1997, Mordukhova et al.1991, Shanahan et al. 1992). 따라서 식물의 뿌리와 근권 세균 사이의 상호 기작에 대하여 연구가 활발하게 진행되어지고 있다(Glick, 1995; Kloepper et al. 1989). 식물의 뿌리에 의해 형성되는 근권의 물리·화학적 및 생물학적 특성은 근권 세균의 생물량 및 활성, 군집구조에 직·간접적인 영향을 미친다 (Pearce et al. 1995). 식물이 여러 가지 성분의 뿌리 삼출물을 배출하여 근권 세균의 성장과 대사를 촉진하듯이, 근권 세균 역시 식물

의 성장과 증식을 향상시키는 능력을 가진다. 이러한 근권 세균을 식물 성장 촉진 근권 세균(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)이라고 한다(Yang et al. 2005). 이들 PGPR은 높은 농도의 중금속으로 오염된 토양에서 식물이 잘 성장할 수 있도록 도와준다. 지금까지 연구되어 밝혀진 PGPR의 종류는 매우 다양하며, 그 중에서도 *Pseudomonas*와 *Bacillus*가 많이 포함되어 있으며, 특히 *Pseudomonas*가 많은 것으로 조사되었다(Glick, 2003).

소나무를 식재한 후의 기질 이용도가 좋아지는 것은 식물이 호흡과 신진대사를 통한 영양분을 섭취하면서 성장하는 근권 토양 미생물에 의한 활성이 활발해지기 때문으로 사료되어진다. AWCD 분석 결과 납으로 오염시킨 경우가 오염시키지 않은 토양에 비해 그 값이 낮았다, 이것은 기존에 보고 되어진 Muhammad et al.(2005)과 같은 결과이지만 중금속으로 오염될 경우 기질 이용도가 대부분 증가한다는 보고에는 반대되는 결과였다(Yao et al. 2003). 그러나 납으로 오염되어진 토양 중에서 CO₂ 농도가 높은 경우는 납이 없는 시료와 AWCD 결과를 비교하였을 때 그 값이 다소 낮긴 했지만 큰 차이를 보이지

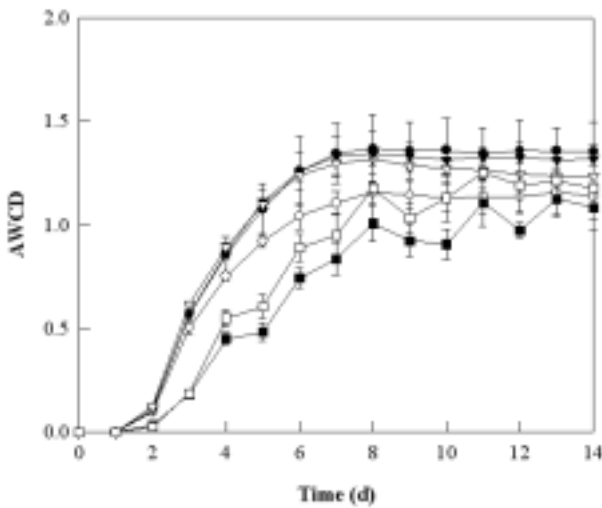


Fig. 2. Time course of average well color development (n=3).
 (■ : CA-0M, □ : CB-0M, ● : CA-3M, ○ : CB-3M, ▼ : EA-3M, ▽ : EB-3M)

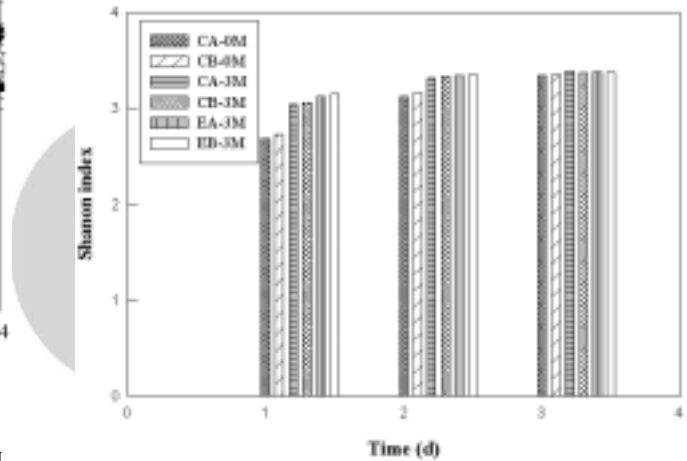


Fig. 4. Comparison of Shannon index.

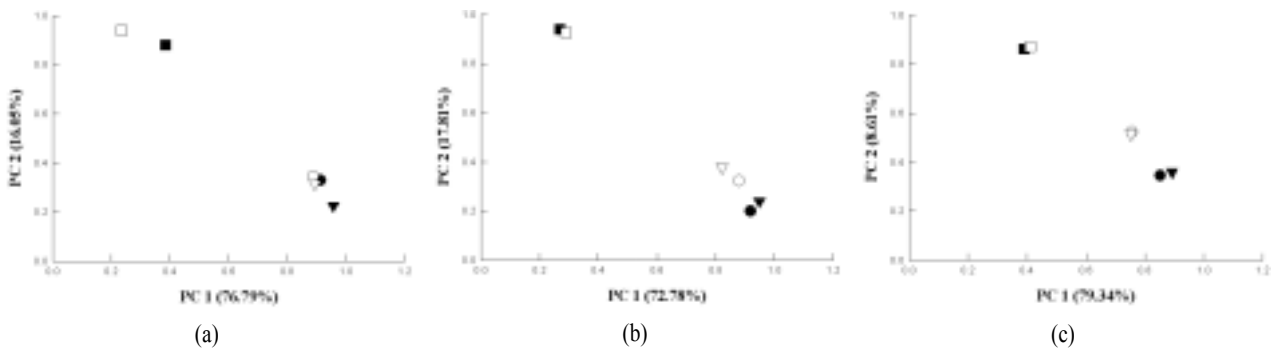


Fig. 3. Principal component analysis of average well color development.
 (a) 3 day, (b) 5 day, (c) 14 day
 (■ : CA-0M, □ : CB-0M, ● : CA-3M, ○ : CB-3M, ▼ : EA-3M, ▽ : EB-3M)

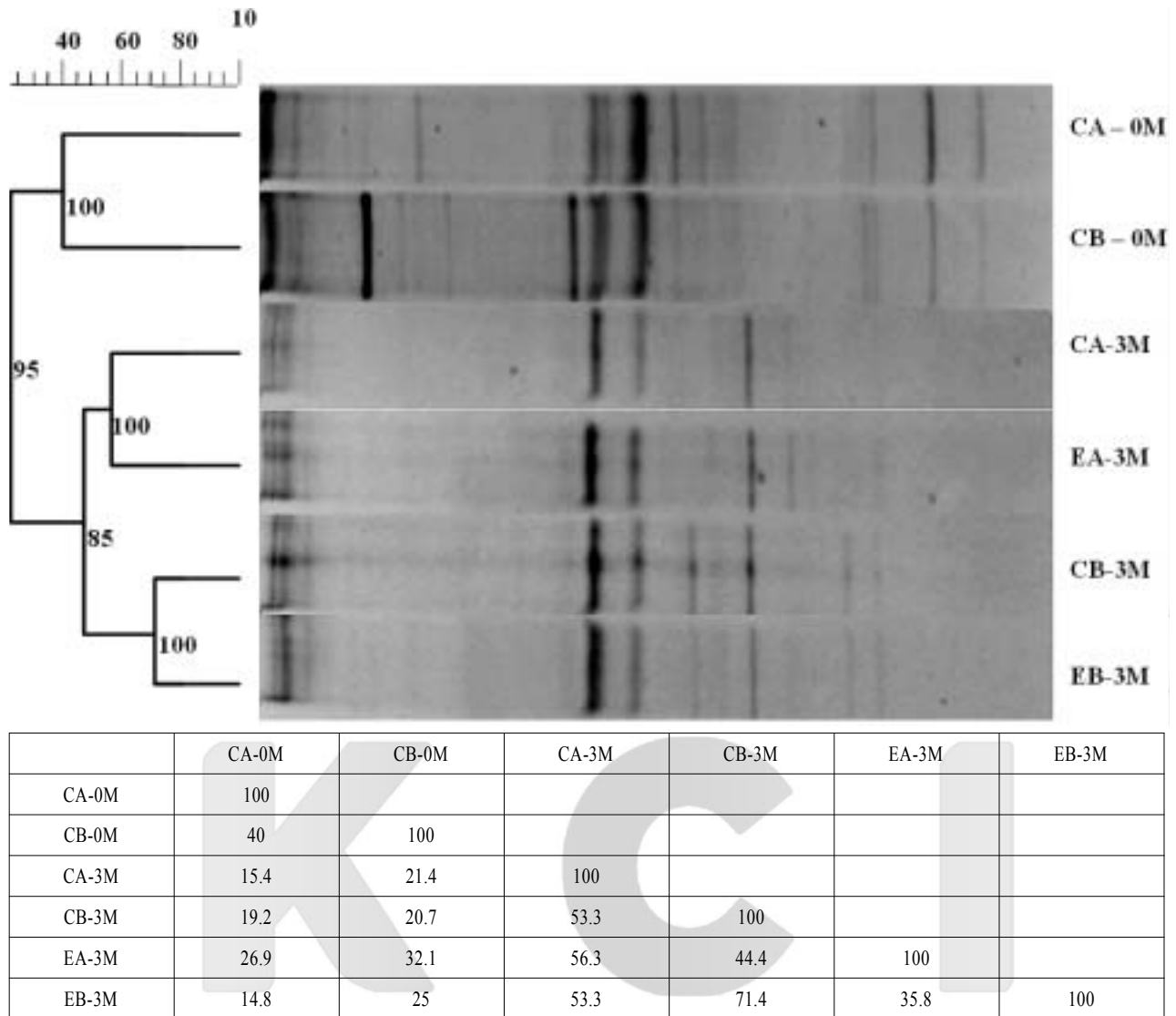


Fig. 5. Similarity analysis based on DGGE fingerprints.

않았다. 이는 대기 중의 CO₂ 농도 증가에 의한 미생물 활성의 증가를 보여주고 기체인 이산화탄소를 소나무가 당과 같은 탄수화물로 동화시켜 저장 산물로 만들면 이를 탄소원으로 이용하는 종속 영양 미생물이 많이 존재하기 때문이라 여겨진다. 기존의 연구에서는 CO₂ 농도가 100 ppmv ~ 1,000 ppmv 사이에서는 미생물 군집에 변화가 없다는 보고가 있는데(Lori et al. 2004), PCA 결과에서 CO₂ 농도에 의한 영향이 나타나지 않는 이유는 대기 중의 CO₂ 농도 변화에 의한 토양 미생물 군집 변화를 알아보기에는 실험 진행 기간이 다소 짧았기 때문으로 사료된다. 또한, CO₂ 영향 효과보다 납 오염 여부가 토양 미생물 군집변화에 미치는 영향이 더욱 크기 때문으로 사료된다.

DGGE fingerprint 결과도 기질 이용도와 마찬가지로 CO₂ 농도에 의한 영향은 크게 보이지 않았다. 이는 위에서도 언급한 바와 같이 CO₂ 영향에 의한 근권 세균의 양향을 보기에는 실험

기간이 너무 짧았던 것으로 사료된다. 또한 근권 토양과 비근권 토양의 DGGE fingerprint 결과가 다른 것은 식물(소나무)과 세균 간의 상호 작용이 토양 세균 군집 구조의 변화를 가져온 것으로 사료된다.

기존의 연구에서는 CO₂의 농도를 높이면 기질의 성장 속도가 증가하고, 특정 미생물의 활성은 빈 영양 상태에서 CO₂의 영향을 받는다는 연구 보고가 있었지만(Christiane et al. 1999), 본 연구에서는 토양 미생물 군집에 있어 CO₂의 농도 변화는 큰 영향을 미치지 않았고, 중금속(납) 오염이 토양 미생물 군집에 영향을 미침을 알 수 있었다.

적 요

우리나라 산림의 대표적인 침엽수인 소나무(*Pinus densiflora*)

생육 토양의 미생물 군집에 미치는 CO₂와 납의 영향을 파악하기 위해, 군집 수준 기질 이용도를 평가하는 CLPP (community level physiological profiles) 방법과 16S rDNA PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) 방법을 활용하여 토양 미생물 군집 특성을 조사하였다. 납 오염 토양(500 mg/kg-soil)과 비오염 토양에 2년생 소나무를 식재한 후, CO₂ 농도를 380 ppmv 혹은 760 ppmv으로 조절한 배양기에서 3개월간 생육시킨 후 6종류의 토양 시료의 미생물 군집을 비교 분석하였다. 3개월 후 비오염 토양(CA-3M vs EA-3M)의 기질 이용도는 CO₂에 의해 크게 영향을 받지 않았으나, 납 오염 토양(CB-3M vs EB-3M)의 경우에는 CO₂를 760 ppmv로 높인 토양 시료(EB-3M)의 기질 이용도가 높았다. 각 시료간의 기질 이용도를 이용하여 PCA를 수행한 결과, 각 토양 시료의 미생물 군집은 납의 존재 유무에 따라 그룹화 되었다. 비오염 토양(CA-3M vs EA-3M) 사이의 DGGE fingerprint 유사성은 56.3%, 납 오염 토양(CB-3M vs EB-3M) 사이의 DGGE fingerprint 유사성은 71.4%였다. 동일 CO₂ 농도 시료인 CA-3M과 CB-3M사이의 유사성은 53.3%, EA-3M과 EB-3M사이의 유사성은 35.8%이었다. 이러한 결과는 소나무를 식재한 토양의 세균 군집 구조는 CO₂ 농도보다는 납 오염 여부에 의해 더 민감하게 특성화됨을 의미한다.

감사의 글

본 연구는 농림부 연구비 지원에 의해 수행되었으며, 이에 감사 드립니다.

인용문헌

- Amann RI, Ludwig W, Schleifer KH. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev* 59: 143-169.
- Bruns MA, Stephen JR, Kowalchuk GA, Prosser JI, Paul EA. 1999. Comparative diversity of ammonia oxidizer 16S-rRNA gene sequences in native, tilled, and successional soils. *Appl Environ Microbiol* 65: 2994-3000.
- Cho WS, Lee EH, Shim EH, Kim JS, Ryu HW, Cho KS. 2005. Bacterial communities of biofilm sampled from seepage groundwater contaminated with petroleum oil. *J Microbiol Biotechnol* 15: 952-964.
- Christiane M, Morten M, Heribert I. 1999. Elevated CO₂ alters community-level physiological profiles and enzyme activities in alpine grassland. *J Microbiol Methods* 36: 35-43.
- Duineveld BM, Rosado AS, Elsas JD, Veen JA. 1998. Analysis of the dynamics of bacterial communities in the rhizosphere of the chrysanthemum via denaturing gradient gel electrophoresis and substrate utilization pattern. *Appl Environ Microbiol* 64: 4950-4957.
- Head IM, Saunders JR, Pickup RW. 1998. Microbial evolution diversity, and ecology: a decade of ribosomal RNA analysis of uncultivated microorganisms. *Microbiol Ecol* 35: 1-21.
- Hershey DR. 1994. Solution culture hydroponics: History and inexpensive equipment. *American Biology Teacher* 56: 111-118.
- Heuer HM, Baker KP, Smalla K, Wellington EMH. 1997. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S-rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. *Appl Environ Microbiol* 63: 3232-3241.
- Garland JL, Aaron LM. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of community-level sole-carbon-source utilization. *Appl Environ Microbiol* 57: 2351-2359.
- Giovannoni SJ, Brischgi TB, Moyer CL, Field KS. 1990. Genetic diversity in sargasso sea bacterioplankton. *Nature (London)* 345: 60-63.
- Glick BR, Karaturovic DM, Newell PC. 1995. A Novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting *Pseudomonads*. *Can J Microbiol* 41: 533-536.
- Glick BR. 2003. Phytoremediation : Synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnol Adv* 21: 383-393.
- Kennedy IR, Pereg-Gerk LL, Wood C, Deaker R, Gilchrist K, Katupitiya S. 1997. Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: Facilitating the evolution of an effective association between azospirillum and wheat. *Plant Soil* 194: 65-79.
- Kloepper JW, Lifshitz R, Zablotowicz RM. 1989. Freelifing bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol* 7: 39-44.
- Knight B, McGrath SP, Chaudri AM. 1997. Biomass carbon measurements and substrate utilization patterns of microbial populations from soils amended with cadmium, copper, or zinc. *Appl Environ Microbiol* 63: 39-43.
- Ian FS, Peter JF. 2003. A tribute to claude shannon (1916 ~ 2001) and a plea for more rigorous use of species richness, species diversity and the shannon-wiener index. *Global Ecol Biogeog* 12: 177-179.
- Lori RJ, Nicholas LA, Jhon M, Steven TR, Nancy CT, Jhon JK. 2005. Elevated atmospheric CO₂ alters soil microbial communities associated with trembling aspen (*Populus tremuloides*) roots. *Microbiol Ecol* 50: 102-109.
- Marcus S, Ueli AH, Georeg RH, Michael JS. 1996. Microbial community Changes in the rhizospheres of white clover and perennial ryegrass exposed to free air carbon dioxide enrichment (FACE). *Soil Biol Biochem* 28: 1717-1724.
- Matthias CR, Kate MS, Jhon NK, Michael FA. 1997. Microbial Carbon-substrate utilization in the rhizosphere of *Gutierrezia sarothrae* grown in elevated atmospheric carbon dioxide. *Soil Biol Biochem* 29: 1387-1394.
- Mordukhova EA, Skvortsova NP, Kochetkov VV, Dubeikovskii AN, Boronin AM. 1991. Synthesis of the phytohormone indole-3-Acetic acid by rhizosphere bacteria of the genus *Pseudomonas*. *Mikrobiologiya* 60: 494-500.
- Muhammad A, Xu J, Li Z, Wang H, Yao H. 2005. Effects of lead and cadmium nitrate on biomass and substrate utilization pattern of soil microbial communities. *Chemosphere* 60: 508-514.
- Muyzer G, De-Waal EC, Uitterlinden AG. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 59: 695-700.
- Nicola L, Therese H, Tanja K, Arata K, Tsuyoshi Y, Petra M, Ellen K. 2006. Response of microbial activity and microbial community composition in soil to long-term arsenic and cadmium exposure. *Soil Biol Biochem* (in press).

- Shanahan P, O'Sullivan DJ, Simpson P, Glennon JD, O'Gara F. 1992. Isolation of 2,4-diacetylphloroglucinol from a fluorescent *Pseudomonad* and investigation of physiological parameters influencing its production. *Appl Environ Microbiol* 58: 353-358.
- Pearce D, Bzin MJ, Lynch JM. 1995. The rhizosphere as a biofilm. In: Lappin-Scott, H. M., Costerton, J. W. (Eds), *Microbial Biofilms*. Cambridge University Press, Cambridge. 207-220.
- Ward DM, Weller R, Bateson MM. 1990. 16s rRNA Sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature* 345: 63-65.
- Yang X, Feng Y, He Z, Stoffella PJ. 2005. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *J Trace Elem Med Biol* 18: 339-353.
- Yang Y, Campell CD, Clark L, Cameron CM, Paterson E. 2006. Microbial indicators of heavy metal contamination in urban and rural Soils. *Chemosphere* 11:1942-52.
- Yao H, Xu J, Huang C, Campell CD. 2000. Microbial biomass and community structure in a accumulation in soils increasing fertility and changing land use. *Microbial Ecol* 40: 223-237.
- Yao H, Xu J, Huang C. 2003. Structure utilisation pattern, biomass and activity of microbial communities in a sequence of heavy metal polluted paddy soils. *Geoderma* 115: 139-1487.
(2006년 10월 27일 접수; 2006년 12월 27일 채택)

K C I