

소나무(*Pinus densiflora*) 생육토양의 미생물 군집에 미치는 납과 CO₂의 영향

홍선화 · 김성현¹ · 강호정 · 류희욱² · 이상돈 · 이인숙¹ · 조경숙*

이화여자대학교 환경공학과, ¹이화여자대학교 생명과학과, ²숭실대학교 환경화학공학과

Effects of Pb and CO₂ on Soil Microbial Community Associated with *Pinus densiflora*-Lab

Hong, Sun Hwa, Sung Hyun Kim¹, Hojeong Kang, Hee Wook Ryu², Sang-don Lee, In Sook Lee¹ and Kyung-Suk Cho*

Department of Environmental Science and Engineering, Ewha Woman's University, Seoul 120-750, Korea

¹Department of Life Science, Ewha Woman's University, Seoul 120-750, Korea

²Department of Chemical and Environmental Engineering, Soongsil University, Seoul 156-743, Korea

ABSTRACT: Effects of Pb and CO₂ on soil microbial community associated with *Pinus densiflora* were investigated using community level physiological profiles (CLPP) and 16S rDNA PCR-denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) methods. Two-years pine trees were planted in Pb-contaminated soils and uncontaminated soils, and cultivated for 3 months in the growth chamber where CO₂ concentration was controlled at 380 or 760 ppmv. The structure of microbial community was analyzed in 6 kinds of soil samples (CA-0M : CO₂ 380 ppmv + Pb 0 mg/kg + initial, CB-0M : CO₂ 380 ppmv + Pb 500 mg/kg + initial, CA-3M : CO₂ 380 ppmv + Pb 0 mg/kg + after 3 months, CB-3M : CO₂ 380 ppmv + Pb 500 mg/kg + after 3 months, EA-3M : CO₂ 760 ppmv + Pb 0 mg/kg + after 3 months, EB-3M : CO₂ 760 ppmv + Pb 500 mg/kg + after 3 months). After 3 months, the substrate utilization in the uncontaminated soil samples (CA-3M vs EA-3M) was not significantly influenced by CO₂ concentrations. However, the substrate utilization in the Pb-contaminated soil samples (CB-3M vs EB-3M) was enhanced by the elevated CO₂ concentrations. The results of principal component analysis based on substrate utilization activities showed that the structure of microbial community structure in each soil sample was grouped by Pb-contamination. The similarities of DGGE fingerprints were 56.3 % between the uncontaminated soil samples (CA-3M vs EA-3M), and 71.4% between the Pb-contaminated soil samples (CB-3M vs. EB-3M). The similarities between the soil samples under CO₂ 380 ppmv (CA-3M vs CB-3M) and CO₂ 760 ppmv (EA-3M vs EB-3M) were 53.3% and 35.8%, respectively. These results suggested that the structure of microbial community associated with *Pinus densiflora* were sensitively specialized by Pb-contamination rather than CO₂ concentration.

Key words: CO₂, Forest soil, Heavy metal, Soil microbial community

서론

점점 가속화 되고 있는 산업화로 인한 화석 연료 사용은 지구상의 이산화탄소 농도를 증가시키고, 다양한 인간의 활동은 토양의 중금속 오염을 증가시키고 있다. 이산화탄소는 지구 온난화 주요 가스로서, 이산화탄소 농도 증가는 고등식물 성장 시에 직접적으로 생리학적 영향을 미치고 있는데(Houghton et al. 1990), 식물 광합성률과 물의 이용 능력이 증가하고 뿌리와 근권으로 광합성 산물이 많이 이동된다(Matthias et al. 1997). 식물 성장 변화는 토양 미생물 군집의 변화를 가져오고, 이러한

변화는 다시 식물 생장에 영향을 미치는 피드백이 일어나기 때문에 대기 중의 이산화탄소는 생태계 균형에 중요한 역할을 담당하고 있다. 고농도의 이산화탄소 조건하에서 다년초 초본류인 *Gutierrezia sarothrae* 생육 토양에서 세균 생균수의 변화는 없지만, 미생물의 생리적 특성을 분석하였을 때 그 기질의 이용률이 증가하였다(Matthias et al. 1997). 또한, 식물이 존재하지 않는 토양에서 이산화탄소는 미생물량에는 영향을 미치지 않았지만, white clover가 존재하는 토양에서는 이산화탄소의 농도가 증가할 때 뿌리혹 박테리아의 생장이 2배 증가한다는 연구가 보고되었다(Marcus et al. 1996). 그 이외에도 고농도의 이산화탄소가 대기 중에 존재할 때 버드나무과인 *Populus tremu-*

* Corresponding author; Phone: +82-2-3277-2393, Fax: +82-2-3277-3275, e-mail: kscho@ewha.ac.kr

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 항온·항습 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°C 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

Factor	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, MgSO₄ 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 정체를 시켜 상등액만 Eco plate(Biolog, USA)의 각각의 well에 150 μL씩 접종한 후, 20°C에서 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 값을 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

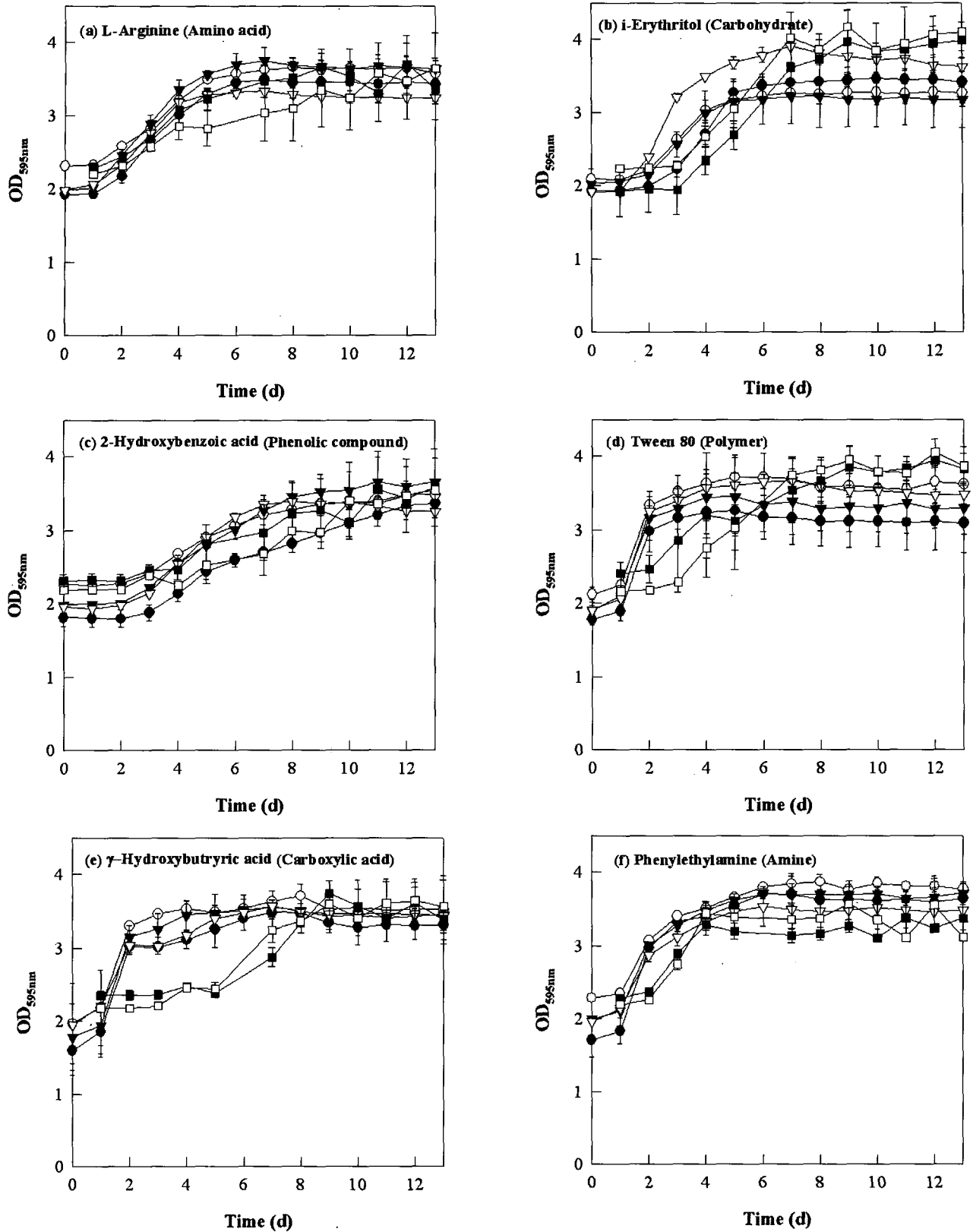


Fig. 1. Time course of substrate utilization in soil samples ($n=3$).
 (■ : CA-0M, □ : CB-0M, ● : CA-3M, ○ : CB-3M, ▼ : EA-3M, ▽ : EB-3M)

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 오염되어질 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

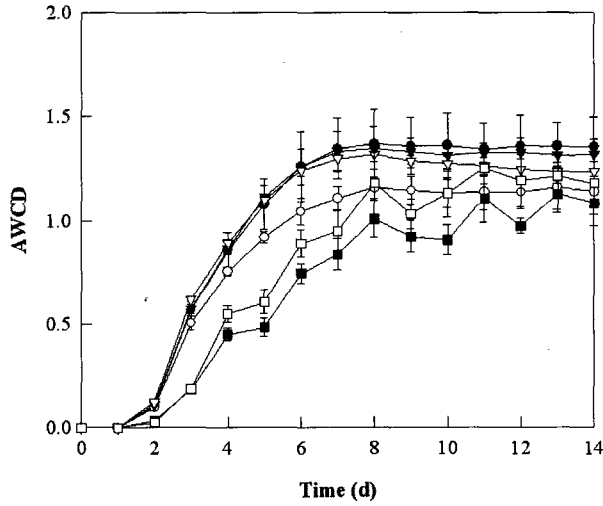


Fig. 2. Time course of average well color development (n=3).
 (■ : CA-0M, □ : CB-0M, ● : CA-3M, ○ : CB-3M, ▼ : EA-3M, ▽ : EB-3M)

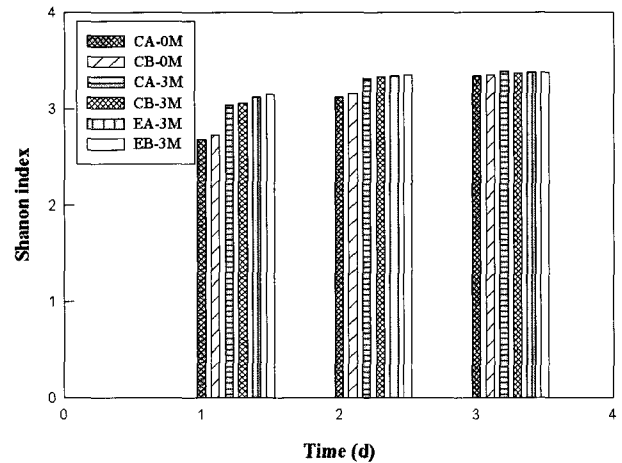


Fig. 4. Comparison of Shannon index.

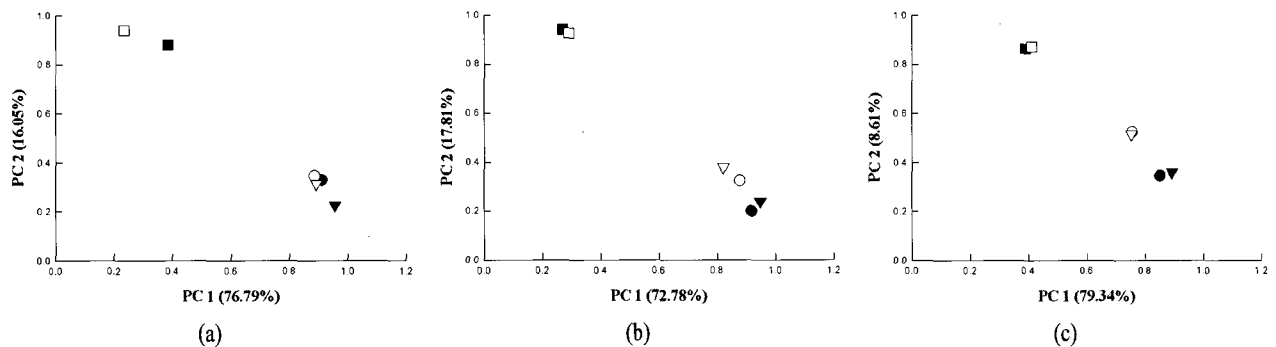
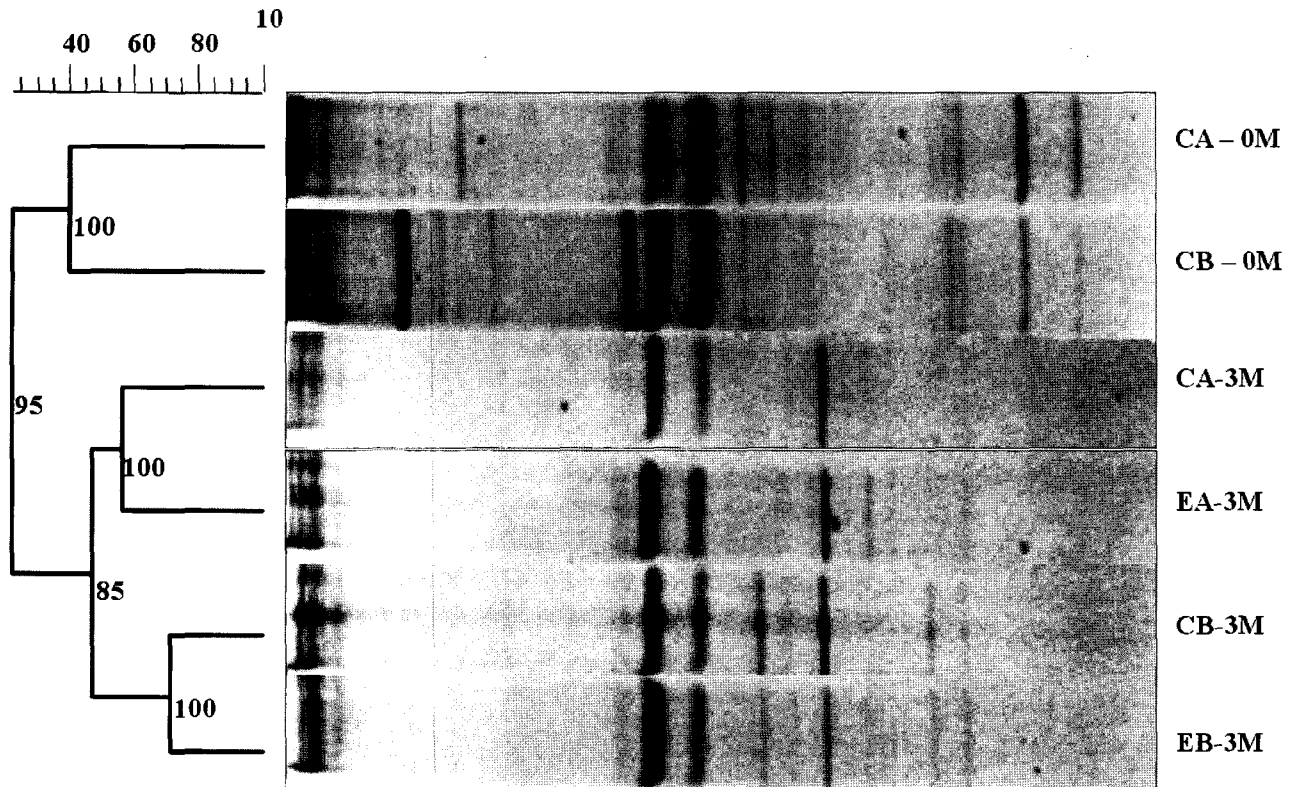


Fig. 3. Principal component analysis of average well color development.
 (a) 3 day, (b) 5 day, (c) 14 day
 (■ : CA-0M, □ : CB-0M, ● : CA-3M, ○ : CB-3M, ▼ : EA-3M, ▽ : EB-3M)



	CA-0M	CB-0M	CA-3M	CB-3M	EA-3M	EB-3M
CA-0M	100					
CB-0M	40	100				
CA-3M	15.4	21.4	100			
CB-3M	19.2	20.7	53.3	100		
EA-3M	26.9	32.1	56.3	44.4	100	
EB-3M	14.8	25	53.3	71.4	35.8	100

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 ppmv로 조절된 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)