

중금속 오염 토양의 식물상 복원에 있어 식물과 근권세균의 상호작용

구소연 · 조경숙*
이화여자대학교 환경학과

Interaction Between Plants and Rhizobacteria in Phytoremediation of Heavy Metal - Contaminated Soil. Koo, So-Yeon and Kyung-Suk Cho*. Department of Environmental Science and Engineering, Ewha Womans University, 11-1 Daehyun-dong, Seodaemun-gu, Seoul 120-750, Korea - In heavily industrialized areas, soil sites are contaminated with high concentrations of heavy metals. These pollutants are highly accumulated to the human body through the food web and cause serious diseases. To remove heavy metals from the soil, a potential strategy is the environmental friendly and cost effective phytoremediation. For the enhancement of remediation efficiency, the symbiotic interaction between the plant and plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) has been attended. In this review, the interaction of the plant and PGPR in the heavy metal-contaminated soil has been reviewed. The physicochemical and biological characteristics of the rhizosphere can influence directly or indirectly on the biomass, activity and population structure of the rhizobacteria. The root exudates are offered to the soil microbes as useful carbon sources and growth factors, so the growth and metabolism of rhizobacteria can be promoted. PGPR have many roles to lower the level of growth-inhibiting stress ethylene within the plant, and also to provide iron and phosphorus from the soil to plant, and to produce phytohormone such as indole acetic acid. The plant with PGPR can grow better in the heavy metal contaminated soil. Therefore higher efficiency of the phytoremediation will be expected by the application of the PGPR.

Key words: Heavy metal, phytoremediation, plant growth-promoting rhizobacteria, interaction

서 론

중금속이란 비중이 약 4 이상인 금속원소의 총칭으로 안티몬, 납, 수은, 아연, 카드뮴, 크롬, 니켈, 코발트 등이 이에 속한다. 중금속 중 구리, 아연, 니켈, 코발트 등은 생명체에 없어서는 안 되는 필수원소이며 납이나 수은 등은 아직 생명 유지 기능이 알려져 있지 않는 비필수원소로 분류되고 있다. 그러나 필수원소일지라도 고농도의 중금속에 노출될 경우에는 생물체에 치명적인 독성물질로 작용 한다.

산업 현장으로부터 다량으로 배출되는 중금속은 토양 입자에 쉽게 흡착되어 토양 내 중금속 축적을 유발할 뿐 아니라, 수질 오염 및 식생 파괴 등과 같은 2, 3차의 오염을 유발할 수 있다. 중금속은 다른 유기화합물 오염원과는 달리 독성이 없는 물질로 분해되거나 안정한 화합물의 형태로 변환되지 않고 오래도록 생태계 내에 잔류하며 토양 등을 오염 시킨다[45]. 따라서 토양 속 중금속이 먹이사슬을 통하여 이동하게 되고, 체외로의 배출이 어려우므로 생물체 내에 고농도로 축적된다. 이렇게 축적된 중금속은 생물체에 독성물질로 작용하여 DNA를 손상시키거나, 암, 돌연변이 등을 유

발한다.

중금속으로 오염된 토양을 정화하는 방법으로는 물리·화학적, 생물학적 정화방법이 있다. 물리·화학적 처리 방법으로는 토양세척법, 물리적 분리, 전기화학적 공정, 산 용출 등이 있으며, 대부분 *ex-situ*로 시행된다. 이 방법은 정화에 소요되는 시간이 짧다는 장점이 있지만, 비용이 많이 들고, 2차 오염물질이 발생될 수 있으며, 효율이 낮다는 단점이 있다[34]. 생물학적 정화 방법(bioremediation)으로는 오염된 토양을 정화하는데 식물을 이용하는 식물상 복원(phytoremediation)이 있다. 이 방법은 *in-situ*의 식물을 이용하는 친환경적인 기술로서 물리·화학적 방법에 비하여 부작용이 적고, 경제적이다. 처리 효율 면에서 뛰어나 중금속으로 오염된 토양을 정화하는데 주목을 받고 있는 기술이다[34].

최근 들어 식물상 복원의 효율을 증대시키기 위한 방법 중 하나로 식물과 근권미생물 간의 상리공생적 상호관계에 대한 연구가 주목을 받고 있다. 중금속에 내성을 가지고 있으며 식물의 성장을 향상시킬 수 있는 능력을 가지는 몇몇 근권미생물들이 중금속에 의한 독성으로부터 식물을 보호하여 결과적으로 식물상 복원을 돕는 역할을 하기 때문이다. 따라서 본 논문에서는 중금속 오염 토양 복원을 위한 식물상 복원의 종류 및 특성을 간략하게 정리하고, 식물과 식물의 근권에서 서식하는 근권세균 사이의 상호 기작에 관한 기존 연구 결과 및 동향을 소개하고자 한다.

*Corresponding author

Tel: 82-2-3277-2393, Fax: 82-2-3277-3275

E-mail: kscho@ewha.ac.kr

중금속 오염 토양 복원을 위한 식물상 복원의 종류 및 특성

식물상 복원이란 식물을 이용하여 환경오염물질을 제거하거나 유해하지 않도록 하는 기술로, 중금속의 제거에 효과적이다. 식물상 복원은 식물이 토양 속에 축적되어 있는 중금속을 체내로 흡수하고 축적하여 토양 속에 존재하는 중금속을 제거하는 기작, 또는 식물의 뿌리나 줄기에 중금속이 흡착되어 중금속의 이동이 최소화 되는 기작 등을 이용하며, 이러한 정화기작에 의해 다시 세부적으로 분류 된다. 이 중 중금속으로 오염된 토양에 적용하는 정화방법으로는 phytoextraction, rhizofiltration, phytostabilization이 있다.

먼저, phytoextraction은 식물의 뿌리를 이용하여 중금속을 제거하는 방법 중 하나로 phytoaccumulation이라고도 불린다. 뿌리를 통해 식물의 내부로 유입된 중금속이 줄기와 잎으로 이동하고, 축적되는 기작을 이용하며, 이렇게 중금속을 함유하게 된 식물을 수확함으로써 결과적으로 토양으로부터 중금속을 제거하는 방법이다. Phytoextraction은 크게 연속(continuous) phytoextraction과 유도(induced) phytoextraction으로 나뉜다[48]. 연속 phytoextraction은 높은 농도의 중금속을 체내에 축적할 수 있는 특별한 능력을 가진 식물인 metal-hyperaccumulator를 이용하는 것이며, 유도 phytoextraction은 중금속의 유동성을 좋게 하는 킬레이트제를 토양에 첨가하여 식물이 보다 높은 농도의 중금속을 체내에 축적할 수 있도록 하는 방법이다. 하지만 킬레이트제에 의해 유동성이 향상된 중금속이 토양 깊은 층으로 이동할 경우, 지하수 오염 문제를 야기할 수 있다는 문제점을 가진다.

Rhizofiltration(혹은 phytofiltration)은 식물의 뿌리에 중금속이 흡수되고 흡착되는 기작을 이용하는 방법이다. 중금속이 함유된 오·폐수가 토양으로 유입될 경우(산업폐수, 농업수, 광산배수 등), 식물의 뿌리가 중금속이 이동하지 못하도록 잡아두는 역할을 하여 토양 속 중금속이 지하수나 하천으로 유입되는 등의 2차 오염을 막는다[16].

Phytostabilization 역시 식물의 뿌리를 이용하는 방법이다. 토양 내에 견고하게 형성되어 있는 식물의 뿌리는 토양 입자가 빗물 등에 의하여 유실되지 못하도록 토양층에 고정시키는 역할을 한다. 이는 토양 입자에 흡착되어있는 중금속이 유동하지 못하도록 하며, 생물이 이용할 수 없도록 토양 내에 안정화시킨다. 하지만 이 경우 토양 내에 중금속이 계속 남아 있게 되고, 따라서 향후 지속적인 모니터링이 요구된다[16].

이러한 식물상 복원에 이용되는 식물은 매우 높은 농도의 중금속을 뿌리, 줄기, 그리고 잎에 축적할 수 있는 능력을 가지고 있는 중금속 과축적 식물(metal-hyperaccumulator)이다. 현재까지 보고된 바에 의하면 약 400여 식물이 metal-hyperaccumulator로 밝혀져 있다. 알려져 있는 주요 식물 '과(科)'로는, Asteraceae(국화과), Brassicaceae(Mustard, 십

자화과), Caryophyllaceae(석죽과), Cyperaceae(사초과), Cunouniaceae, Fabaceae(콩과), Flacourtiaceae(이나무과), Lamiaceae(Mint, 꿀풀과), Poaceae(벼과), Violaceae(제비꽃과), Euphobiaceae(Spurge) 등이 있다[44]. 이러한 metal-hyperaccumulator 중, 십자화과이며 배추과 혹은 겨자과라고도 하는 Brassicaceae가 11속, 87종으로 가장 많은데(Fig. 1(a)), 7속 72종이 니켈 과축적 식물(Ni-hyperaccumulator), 3속 20종이 아연 과축적 식물(Zn-hyperaccumulator)로 알려져 있다(Fig. 1(b))[12]. 특히 *Thlaspi*(Brassicaceae) 종은 여러 가지의 중금속을 흡수 할 수 있는 것으로 알려져 있는데, *T. caerulescense*는 Cd, Ni, Pb, Zn를 그리고 *T. goesingense*는 Ni과 Zn를 *T. ochroleucum*은 Ni과 Zn, 그리고 *T. rotundifolium*은 Ni과 Pb, Zn를 각각 체내로 흡수할 수 있는 능력을 가지고 있다[44].

식물상 복원은 식물의 뿌리가 닿는 상대적으로 얇은 토양층에서만 효율적이라는 단점을 가진다. 특히 식물의 성장에 의존하는 정화 기법이므로 다른 물리·화학적 처리 방법에 비하여 정화되는 데 많은 시간이 소요되며, 기상학적 요인과 높은 농도의 중금속 등 식물의 성장에 영향을 미치는 여

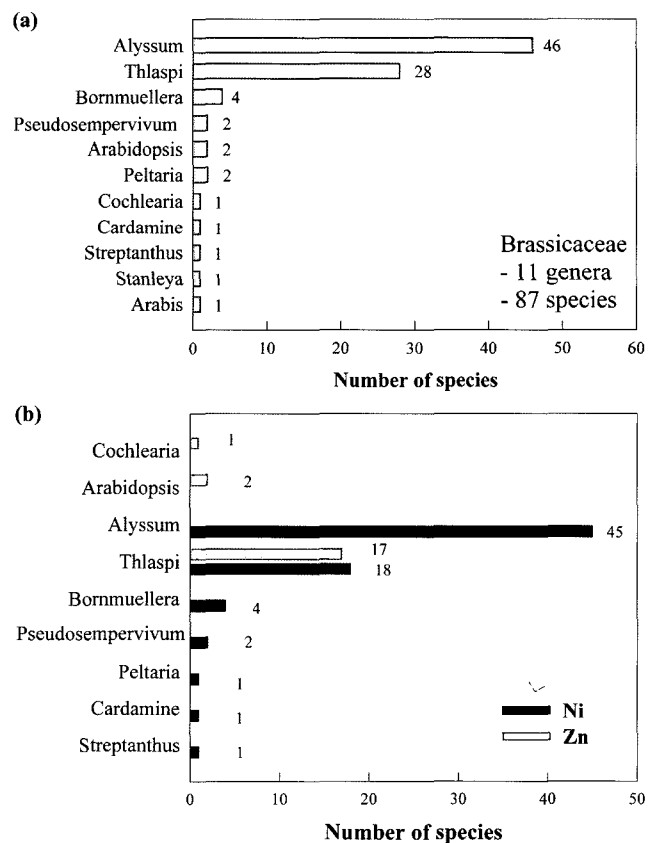


Fig. 1. Metal-hyperaccumulator Brassicaceae [12]. (a) Among wild Brassicaceae 11 genera and 87 species are known to hyperaccumulate metals; (b) Brassicaceae has the largest number of nickel (7 genera and 72 species) and zinc hyperaccumulators (3 genera and 20 species).

러 가지 제한 인자가 식물상 복원의 효율을 저하시키는데 결정적인 역할을 한다. 또한, 처리 후에 수확된 식물체 역시 중금속을 다량으로 함유하는 독성 폐기물로서 후처리의 문제점을 가지고 있으며, 토양을 정화하고자 외래 식물 종을 도입할 경우에는 그 지역의 생물다양성에 영향을 줄 수도 있다.

그러나, 이러한 식물상 복원은 물리·화학적 정화 방법과는 달리 환경을 교란하지 않는 환경친화적인 기법이며, 처리 후에 발생할 수 있는 폐기물의 양이 상대적으로 적다는 장점이 있다. 또한, 식물체 내부에 중금속이 축적되는 방법을 이용하는 것이므로 대기 오염이나 수질 오염 등의 부차적인 오염 문제를 일으키지 않는다. 게다가 정화 작업에 특별한 장비와 인력을 필요로 하지 않으며 현장에서 처리하는 *in-situ* 기법으로서 처리되는데 드는 비용이 상대적으로 적다는 장점을 가진다.

식물과 근권세균간의 상호작용 : 근권세균에 미치는 식물의 영향

식물상 복원은 식물의 성장에 절대적인 상관성을 가진다. 즉, 토양 속에 중금속이 높은 농도로 존재하여 식물체에 독성으로 작용하거나 식물의 성장에 영향을 미치는 여러 가지 제한 요소가 함께 존재할 경우, 식물의 성장이 저하될 것이고 따라서 정화되는데 매우 긴 시간이 요구될 것이다. 또한, 뿌리의 성장 역시 제한 될 수 있는데, 이로 인하여 중금속을 정화시킬 수 있는 토양층의 깊이가 얕아져 결과적으로 식물상 복원의 효율을 저하시키는 결정적인 요인이 된다.

이러한 식물상 복원이 성공적으로 상용화되기 위해서 식

물은 보다 빠르게 성장할 수 있어야 하며, 동시에 중금속의 독성에 대한 내성 능력이 향상되어 중금속이 높은 농도로 존재하는 토양 내에서도 생존할 수 있어야 하며, 뿌리의 성장이 토양 속에서 보다 넓게 그리고 깊게 이루어져야 할 것이다[29]. 따라서 식물의 뿌리와 근권세균 사이의 상호작용에 대하여 연구하고, 이를 식물상 복원에 직접 적용하여 중금속으로 오염된 토양을 보다 효율적으로 정화하고자 하는 연구가 최근 들어 매우 활발하게 진행되고 있다(Fig. 2).

근권과 뿌리삼출물

식물의 뿌리를 둘러싸고 있는, 뿌리의 영향 하에 있는 토양권을 ‘근권’(rhizosphere)이라고 하는데, 이 용어는 1904년 Hiltner가 처음으로 사용하였다[29]. 즉, 근권 토양(rhizosphere soil)은 식물의 뿌리에 접촉하고 있는 토양으로서 뿌리를 흔들었을 때 떨어지지 않고 강하게 붙어 있는 토양을 의미하며, 근권 토양이 아닌 나머지 토양은 ‘bulk soil’이라고 한다.

근권은 식물의 뿌리가 성장하고, 성장하는 동안에 여러 가지 다양한 물질을 흡수하고, 호흡하며, 삼출물을 배출하는 토양 내의 독특한 환경이다. 뿌리의 영향을 받은 rhizosphere soil과 영향을 받지 않은 bulk soil을 비교해 보면 그 토양 특성에 있어서 많은 차이가 있음을 확인할 수 있는데, 이는 식물의 뿌리가 토양 내에서 규명되지 않은 어떤 중요한 역할을 한다는 사실을 뒷받침하고 있다.

이러한 근권이라는 독특한 환경은 토양 미생물의 활성화와 번식에 매우 유리하게 작용한다. 이는 bulk soil에서 보다 훨씬 많은 양, 다양한 종류의 미생물이 근권에서 서식한다는 사실에서 확인할 수 있다[54]. 이렇게 근권에서 서식하는 토

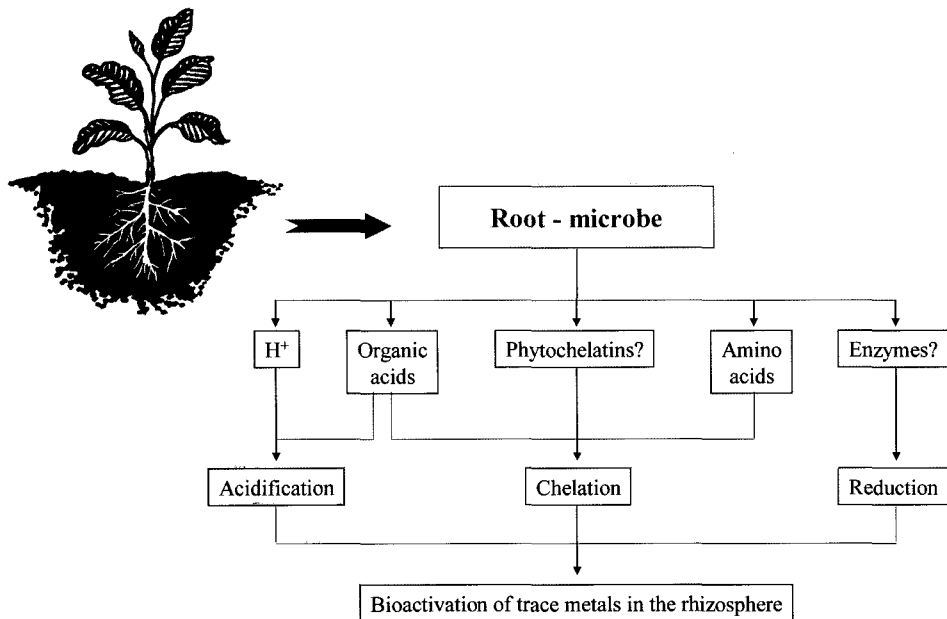


Fig. 2. Promotion of heavy metals-bioavailability by root-microbe interaction [59].

양 미생물을 근권미생물(rhizosphere microorganism)이라고 하며, 근권미생물은 다시 균근균(mycorrhizal fungi)과 근권세균(rhizobacteria)로 나뉜다.

식물의 뿌리에 의해 형성되는 근권의 물리·화학적, 생물학적 특성은 근권세균의 생물량 및 활성, 균집구조에 직·간접적인 영향을 미친다[41]. 이러한 특성을 결정하는 가장 중요한 요소 중 하나가 바로 뿌리삼출물이며, 식물의 종류 및 성장 단계 등의 생물적 요인뿐만 아니라, 그리고 CO₂, 햇빛, pH, 온도, 습도, 영양상태 등의 환경적 요인에 의해 각기 다른 성분의 다양한 뿌리삼출물이 배출된다고 한다[23].

예를 들어, 인이 부족한 환경에서 식물은 citric acid, malic acid와 같은 carboxylic acid 성분의 삼출물을 배출한다. 이는 토양의 pH 변화를 야기하고, 인과 칼레이트 화합물을 형성하고 있던 중금속을 용해시켜 결과적으로 고정화되어있던 인을 이용 가능하게 만드는 역할을 한다[30].

뿌리삼출물은 체외 효소(extracellular enzyme), 당당, 다당, phenolic acid, 아미노산(amino acids), 비타민, 유기산(organic acids), 질소를 함유한 고분자 화합물(purine, nucleoside 등) 등의 유기물질(Table 2)에서부터 HNO₃, PO₄, OH⁻, H⁺, CO₂, H₂와 같은 무기물질과 가스상 물질에

Table 1. Metal-hyperaccumulators.

| Heavy metal | Plant species | References |
|-------------|---|------------|
| Zn | <i>Thlaspi caerulescens</i> , <i>T. goesingense</i> , | [44] |
| | <i>T. ochroleucum</i> , <i>T. rotundifolium</i> , <i>T. caliminare</i> | [11] |
| | <i>Arabidopsis halleri</i> | [35] |
| | <i>Trifolium repens</i> | [53] |
| Ni | <i>Alyssum murale</i> | [2] |
| | <i>Alyssum lesbiacum</i> | [32] |
| | <i>Alyssum bertolonii</i> | [37] |
| | <i>T. goesingense</i> | [44, 46] |
| | <i>T. ochroleucum</i> , <i>T. caerulescense</i> , <i>T. rotundifolium</i> | [44] |
| | <i>Brassica juncea</i> | [12] |
| Cd | <i>B. campestris</i> | [7] |
| | <i>Bornmuellera baldacii</i> subsp. <i>markgrafii</i> | [11] |
| | <i>T. caerulescens</i> | [44] |
| | <i>Arabidopsis halleri</i> | [35] |
| Pb | <i>B. juncea</i> (L.) Czern. | [33] |
| | <i>T. caerulescense</i> , <i>T. rotundifolium</i> | [44] |
| | <i>T. rotundifolium</i> subsp. <i>cepaefolium</i> | [11] |
| Cu | <i>Hemidesmus indicus</i> | [49] |
| | <i>B. juncea</i> | [12] |
| Cr(VI) | <i>Elsholtzia splendens</i> | [57] |
| | <i>B. juncea</i> | [6] |
| As | <i>Pteris vittata</i> | [36] |
| | <i>Pityrogramma calomelanos</i> | [14] |

Table 2. Organic compounds and enzymes identified in root exudates.

| Component | | reference |
|---------------|---|-----------|
| Sugars | glucose, xylose, mannitol | [39] |
| | maltose, oligosaccharides | [8] |
| Amino acids | glutamate, isoleucine, methionine, tryptophan | [39] |
| | alanine, glycine, valine, leucine, proline, serine, threonine, phenylalanine, aspartic acid, glutamic acid, asparagine, glutamine | [17] |
| Aromatics | benzoate, phenols, <i>l</i> -carvone | [25] |
| | limonene, <i>p</i> -cymene | [17] |
| Organic acids | acetate, citrate, malate, propionate | [8] |
| | lactate, succinate, fumarate, pyruvate | [13] |
| Vitamins | biotin, thiamin, niacin, pantothenate, riboflavin | [9] |
| Enzymes | phosphatase, invertase, amylase, protease | [9] |

이르기까지 매우 다양한 성분들로 구성되어 있다[9]. 뿌리삼출물 종류별로 근권세균에 미치는 영향 및 기능을 Table 3에 정리하였다. 이러한 성분들은 미생물에게 유용한 탄소원과 성장인자로 제공됨으로서 토양 내 서식하고 있는 근권세균의 성장과 대사를 촉진하는 역할을 한다[19]. 또한, flavonoids, aromatic acids, amino acids, dicarboxylic

Table 3. Functional role of root exudate components in the rhizosphere[9].

| Component | Rhizosphere function |
|-----------------------------------|---|
| Amino acids and Phytosiderophores | nutrient source chemoattractant signals to microbes |
| Phenolics | nutrient source chemoattractant signals to microbes microbial growth promoters <i>nod</i> gene inducers in rhizobia <i>nod</i> gene inhibitors in rhizobia chelators of poorly soluble mineral nutrients |
| Organic acids | nutrient source chemoattractant signals to microbes chelators of poorly soluble mineral nutrients acidifiers of soil <i>nod</i> gene inducers |
| Vitamins | promoters of plant and microbial growth nutrient source |
| Enzymes | catalysts of P release from organic molecules biocatalysts for organic matter transformation in soil |

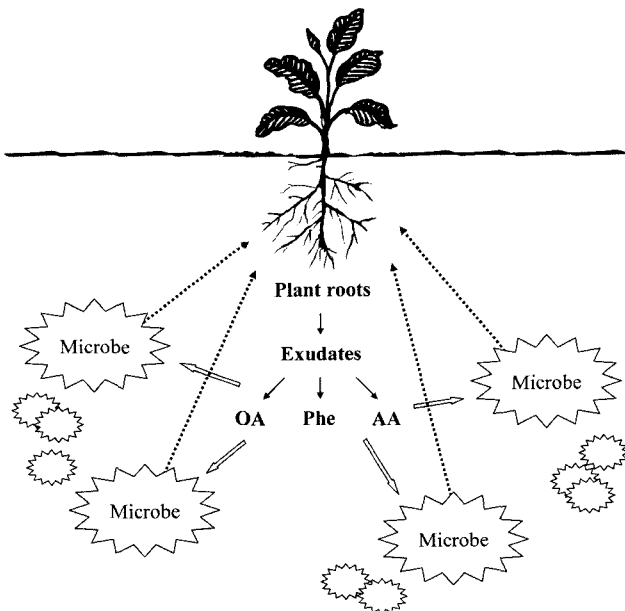


Fig. 3. Effects of root exudate on nutrient availability and uptake by rhizosphere microbes. OA, organic acids; AA, amino acids; Phe, phenolic compounds; Arrow: black, exudation; white, uptake/stimulation; dotted, chemotaxis [9].

acids 등은 토양 미생물의 주화성을 자극하여 근권으로 이동하도록 유도한다. 따라서 이러한 다양한 이점들로 인하여 보다 많은 양, 다양한 종류의 미생물들이 근권에서 서식하고 있음을 알 수 있다(Fig. 3)[9].

식물과 근권세균간의 상호작용 : 식물에 미치는 근권세균의 영향

식물 성장 촉진 근권세균(plant growth-promoting rhizobacteria)

식물이 여러 가지 성분의 뿌리삼출물을 배출하여 근권세균의 성장과 대사를 촉진하듯이, 근권세균 역시 직간접적으로 식물의 성장과 증식을 향상시키는 능력을 가진다. 이러한 근권세균을 식물 성장 촉진 근권세균(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)이라고 한다.

이들 PGPR은 식물성 병원균으로부터 식물을 보호하거나 그러한 병원균으로부터의 해로운 영향을 줄이는 항생물질(antibiotics)을 합성하는 간접적인 기작 이외에도, 대기 중 질소가스(N₂)를 고정하여 질소가 부족한 환경에서 서식하는 식물에 질소를 공급하거나, 토양으로부터 철을 가용화 시켜 철이 부족한 환경에서 서식하는 식물이 이용할 수 있도록 하는 역할을 수행한다. 또한, auxin, cytokinin 그리고 indole acetic acid(IAA)와 같은 식물성 호르몬(phytohormones)을 합성 하는 반면, 식물성 호르몬의 일종인 ethylene의 합성을 저해하기도 한다. 이밖에도 식물의 성장을 조절하는 효소를 생산하기도 하고, 여러 대사를 통하여 토양 내 인과 같은 미네랄을 가용화 시켜 식물이 보다 쉽게 영양물질을 흡수 이용할 수 있도록 하는 등의 여러 가지 직접적인 기작을 수행한다(Fig. 4). 이러한 PGPR은 높은 농도의 중금속으로 오염된 토양에서 식물이 보다 잘 성장하고 서식할 수 있도록 도와 준다. 따라서 이들 PGPR을 식물상 복원에 적용할 경우, 중금속의 높은 정화 효과를 기대할 수 있다[20, 28, 38, 51].

지금까지 연구되어 밝혀진 PGPR의 종류를 Table 4에 정리했다. *Pseudomonas putida*의 경우, ethylene의 전구체인 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid(ACC)를 제거하는 ACC deaminase 활성, 식물성 호르몬인 IAA 생성 능력, 철 공급체인 Siderophore 합성 능력을 모두 가지고 있을 뿐만 아니라 토양 속 인을 식물이 이용할 수 있도록 가용화 시키는 능력까지 가지고 있는 것으로 나타났다. 또한 이러한 PGPR 능력을 가지고 있는 세균에는 *Pseudomonas*와 *Bacillus*가 많이 포함되어 있었으며, 특히 *Pseudomonas*가 많은 것으로 조사되었다.

ACC 탈아민효소 활성

중금속에 의한 토양오염, 병원균의 공격 등 환경으로부터 여러 가지 스트레스를 받는 식물은 대사산물로 ethylene을 합성하는데 [10], 이렇게 생산된 ethylene은 식물의 성장을 제

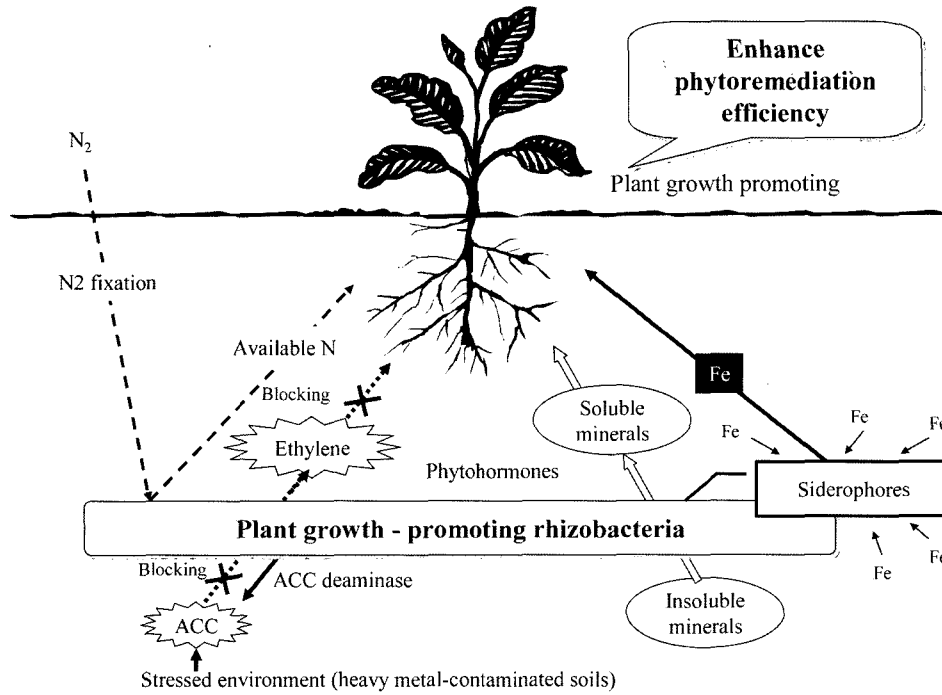


Fig. 4. Functions of plant growth-promoting rhizobacteria.

Table 4. Plant growth-promoting rhizobacteria.

| Potential | PGPR | References |
|-------------------------------|---|------------|
| ACC deaminase | <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Enterobacter cloacea</i> , <i>Kluyvera ascorbata</i> SUD165 | [7] |
| IAA | <i>Azotobacter paspali</i> | [4] |
| | <i>Azospirillum brasilance</i> | [3] |
| | <i>Pseudomonas putida</i> GR12-2 | [40] |
| | <i>Bacillus pumillus</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> | [53] |
| Siderophore | <i>Pseudomonas putida</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | [55] |
| Solubilization of phosphorous | <i>Bacillus</i> , : <i>B. brevis</i> , <i>B. cereus</i> , <i>B. circulans</i> , <i>B. firmus</i> , <i>B. licheniformis</i> , <i>B. megaterium</i> , <i>B. mesentericus</i> , <i>B. mycoides</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>B. pumilis</i> , <i>B. pulvifaciens</i> , <i>B. subtilis</i> | [52] |
| | <i>Pseudomonas</i> , : <i>P. striata</i> , <i>P. cissicola</i> , <i>P. fluorescens</i> , <i>P. pinophilum</i> , <i>P. putida</i> , <i>P. syringae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>P. putrefaciens</i> , <i>P. stutzeri</i> | |
| | <i>Rhizobium</i> , <i>bravyrhizibium</i> | |

한하며 결과적으로 식물상 복원의 효율을 저하시킨다.

식물성 호르몬의 일종으로 식물의 성장에 영향을 미치는 중요한 요소 중 하나인 ethylene은 스트레스에 의해 생성되는 것 이외에도 식물의 성장, 특히 씨앗이 발아하여 성장하기 시작하는 성장 초기 단계에서 빠른 속도로 생성된다. 하지만 일정 농도 이상으로 높게 생성되어 축적될 경우에는 식물 뿌리의 성장을 저해한다[1, 19].

Ethylene이 생성되는 기작은 다음과 같다(Fig. 5): 식물 내 L-methionine이 S-adenosyl-L-methionine(SAM)과 ACC의 중간대사산물을 거친 후, 최종 대사산물인 ethylene으로 분해된다[58]. L-methionine이 SAM으로 전환되는 대사는

SAM synthetase에 의하여 이루어지며, 이렇게 생성된 SAM은 다시 ACC synthase에 의해서 ACC과 5'-methylthioadenosine으로 가수분해 된다[18, 27]. ACC는 ACC oxidase에 의해 최종적으로 ethylene, CO₂, cyanide로 분해된다[26].

중간 대사산물이자 ethylene의 전구체인 ACC는 다른 저분자의 유기물질들과 함께 뿌리삼출물로 배출된다. 이때 뿌리 표면에 접촉하여 서식하는 근권세균 중 ACC를 분해할 수 있는 효소, 즉 ACC deaminase 활성을 가진 PGPR이 뿌리삼출물 속의 ACC를 α-ketobutyrate와 ammonia로 분해한다(Fig. 5). 이렇게 ACC deaminase 활성을 갖는 PGPR에 의해 근권에서의 ACC가 분해되면, 이로 인하여 식물 뿌리

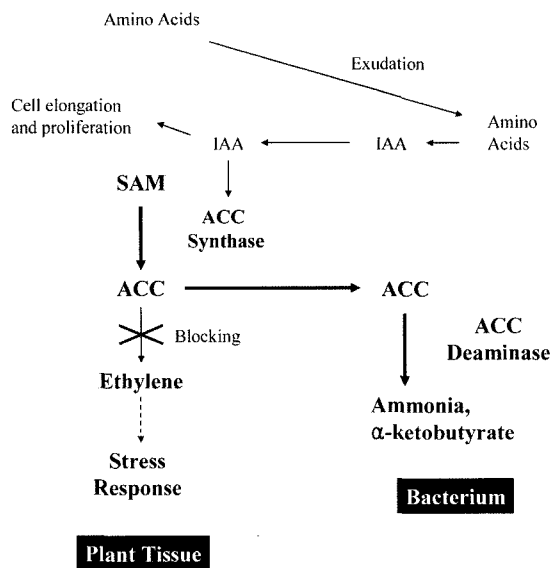


Fig. 5. Interaction of a plant growth-promoting rhizobacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase with a plant root [22, 24]. IAA, indole-3-acetic acid; SAM, S-adenosyl-L-methionine; ACC, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid.

의 내부와 외부에서 ACC의 농도차가 발생하게 되는데, 농도의 평형을 유지하기 위해 식물은 더 많은 양의 ACC를 체외로 배출하게 된다. 따라서 식물 내부에서의 ACC 농도가 감소되고, 결과적으로 생성될 수 있는 ethylene의 농도 또한 낮아지므로 식물의 성장을 향상시키는 효과를 얻을 수 있다 [19]. 실제로 ACC deaminase 활성을 가지고 있는 PGPR로 동정된 근권세균을 식물 뿌리에 접종하여 모니터링한 결과, ACC와 ethylene의 양이 감소되었으며, ethylene의 농도에 민감한 식물종의 경우에 뿌리의 성장이 향상되는 것으로 나타났다[24, 42].

식물성 호르몬

식물성 호르몬(phytohormone)이란, 식물의 각종 생리작용을 조절하는 미량 물질로서 크게 옥신(auxin), 지베렐린(gibberellin), 시토키닌(cytokinin), 기타 호르몬의 4종류로 분류된다. 그러나 이들 식물성 호르몬들은 서로 비슷하게 작용하며, 그 기능 역시 분명하게 구분되어 있지 않다. 옥신은 일반적으로 식물 성장 호르몬이라고 불리는 물질들의 총칭으로서 여러 가지가 알려져 있으며, 대표적인 것으로는 IAA가 있다. 식물 조직의 성장을 촉진하는 것이 옥신의 대표적인 작용으로 알려져 있는데, 이 밖에도 과실의 성숙을 촉진하고, 정단우세(頂端優勢) 현상을 유지시킨다. 정단우세는 제일 꼭대기 가지의 성장을 촉진하고 아래 가지의 성장을 억제하는 현상이다. 또한 낙엽과 낙과(落果)도 방지하는데, 옥신이 활발하게 합성되는 여름에는 낙엽이나 낙과가 일어나지 않으나, 가을이 되어 그 합성량이 줄어들면 낙엽과 낙과

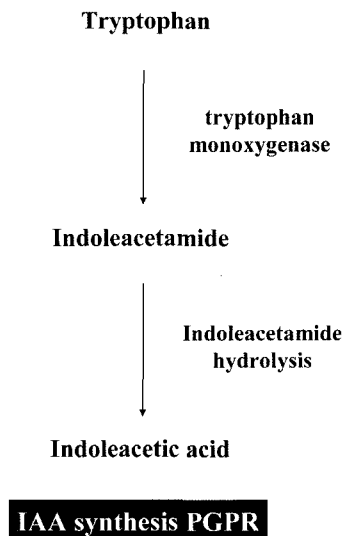


Fig. 6. Indole-3-acetic acid production pathway in the plant growth-promoting rhizobacteria. IAA, indole-3-acetic acid; PGPR, plant growth-promoting rhizobacteria.

가 일어난다.

근권세균 중에는 식물의 뿌리로부터 배출되는 삼출물 중의 L-tryptophan을 분해하여 그 분해산물로서 IAA를 생성하며 식물의 성장에 영향을 주는 PGPR이 있다(Fig. 6)[15]. 이때, tryptophan으로부터 IAA가 합성되는 대사에는 tryptophan monooxygenase와 indoleacetamide hydrolase의 두가지 효소가 관여한다. 즉, 식물의 뿌리로부터 풍부한 유기물질이 배출되고 근권에서 서식하는 세균이 그러한 뿌리삼출물을 영양물로 사용하여 식물성호르몬을 합성하면 이를 다시 식물이 성장인자로 흡수하는, 식물과 PGPR 사이의 긴밀한 상호작용이 형성된다.

그러나 식물 성장호르몬인 IAA는 미량으로 존재할 때 뿌리의 성장을 향상시키지만, 과도한 농도에서는 오히려 성장을 억제한다. 낮은 농도(10^{-9} ~ 10^{-12} M)의 IAA는 주근(主根, primary root)의 성장을 향상시키는 반면, 높은 농도의 IAA는 Fig. 5에 도시한 바와 같이 ethylene의 합성을 유도하여 주근의 성장을 저해하고, 이로 인하여 잔뿌리들이 성장하게 된다[43, 56]. 즉, IAA의 농도에 따라 식물의 뿌리 성장에 미치는 영향이 다르다고 할 수 있다.

Siderophore 합성

중금속 특히, As, Cu, Mn으로 오염된 토양은 식물이 성장하는데 필요한 영양소의 결핍을 야기하며, 특히 필수원소인 철의 결핍과 관련하여 식물의 성장을 제한한다. 철이 결핍된 식물은 엽록체를 형성하거나 엽록소를 생합성하는 기작을 저해 받는데, 이로 인하여 잎에 백색반점이 나타나게 된다. 또한 철의 결핍은 식물이 ethylene을 생산하도록 유도하고, 스스로 스트레스를 받도록 하여 궁극적으로 식물상 복

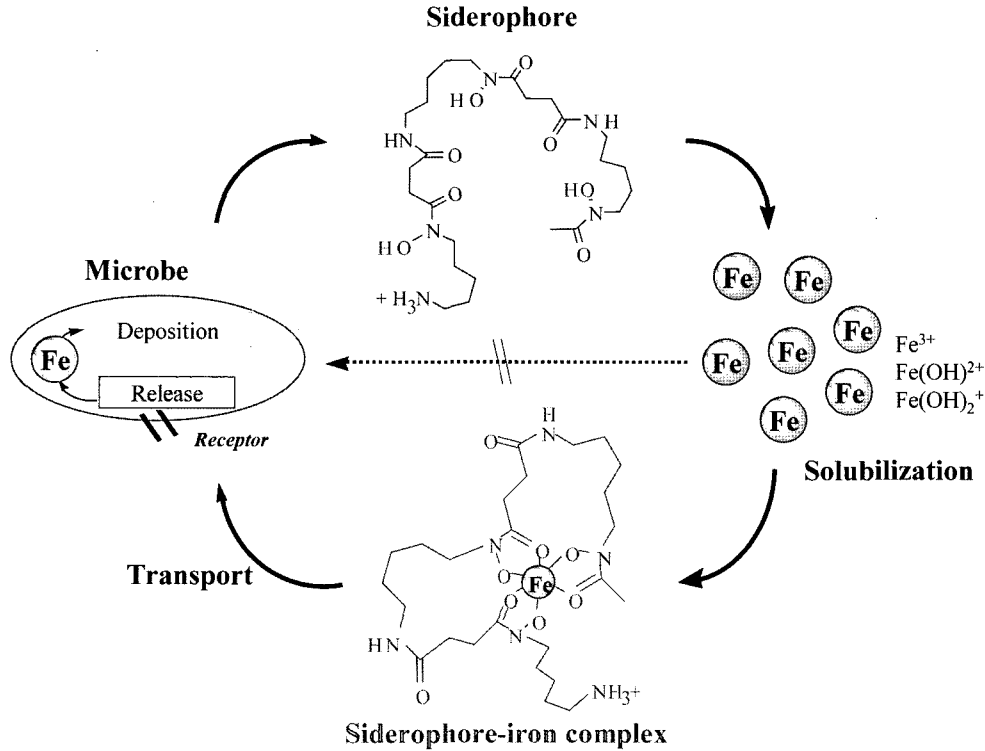


Fig. 7. Siderophore mediated Fe acquisition, transport, and storage by microbes(www.chem.duke.edu/~alc/labgroup/CrumblissResearchDec2004.doc).

원의 효율을 떨어뜨린다[19].

이와 같이 철은 생물의 대사과정에서 없어서는 안 될 필수원소 중 하나이다. 하지만 중성 및 혐기적 조건의 토양 환경에서는 대부분의 철이 난용성인 Fe(OH)₃로 존재하므로, 생물이 이용할 수 있는 철의 농도는 상당히 낮다[50]. 따라서 저농도의 철을 대사에 이용하기 위해서 생물은 'siderophore'라고 불리는 물질을 세포 밖으로 분비한다(Fig. 7). 여기서 siderophore란, 세균에 의해 형성되는 ferric-specific ligand로서 철과의 친화도가 높은 저 분자의 철분 포획체이자 수송체로서, 토양에서 철과 결합한 후, 다시 체내로 흡수되며 생물에게 철을 공급하는 중요한 역할을 수행하는 물질이다[50].

근권에서 서식하는 세균의 일부는 siderophore를 생산하고 세포 밖으로 분비하는 기작을 통하여 철을 포획한다. 이때, 생성되는 iron-siderophore 복합체의 일부가 식물로 흡수되며, 식물에게 철을 공급하는 철 공급원으로서 이용된다[5]. 철을 충분히 공급받게 된 식물은 중금속으로 오염된 토양 내에서도 성장에 저해를 받지 않게 된다. 따라서 siderophore를 합성하는 근권세균 역시 PGPR로 정의될 수 있다.

인의 가용화

인은 식물 성장의 제한인자로서 매우 중요한 영양물질이다. 토양 내 인의 대부분은 흡착, 화학적 침전 기작에 의해 불용성상태로 고정되어 있으며, 비료로서 인을 투여한다 해

도 빠른 속도로 고정화 된다. 즉, 인의 화학적 고정 기작과 낮은 수용성으로 인하여 식물이 실제로 이용할 수 있는 인의 농도는 매우 낮다.

토양 내 세균 중에는 이렇게 고정화 되어 있는 인을 수용성 인으로 전환시키는 인산염 가용화 세균(phosphate-solubilizing bacteria, PSB)가 있다[47]. 이들 세균에 의해 식물이 이용할 수 있는 인의 농도가 높아지게 되고, 따라서 식물의 성장은 향상될 수 있다. 인이 가용화되는 주요한 기작은 PSB가 생산하는 유기산에 의해 이루어진다. 그러한 유기산으로는 glutamic, 2-ketogluconic, lactic, isovaleric, isobutyric, acetic, glycolic, oxalic, malonic, succinic acids 등이 있다[47].

결 론

식물상 복원은 친환경적인 기술로서 물리·화학적 방법에 비하여 제 2차 오염문제 발생이 적고, 경제적이며, 처리 효율 면에서 뛰어나 중금속으로 오염된 토양을 정화하는데 최근 주목을 받고 있다. 그러나 중금속이 높은 농도로 존재할 경우에는 식물 성장이 제한되어 결과적으로 정화 효율이 저하되는 단점을 가지고 있다. 이러한 식물상 정화의 상용화를 위하여 식물 성장 향상 능력을 가지고 있는 근권세균에 관한 연구가 진행되고 있다[20, 21, 31]. 이러한 근권세균은 식물에 스트레스로 작용하는 ethylene의 농도를 낮추거

나, 식물 성장 호르몬 생산, 토양 내 인의 가용화, 식물의 성장에 필수 요소인 철을 공급하는 등의 능력을 가지고 있어 식물이 중금속으로 오염된 토양에서 보다 잘 생육할 수 있도록 한다[19]. 따라서 높은 농도의 중금속에 내성을 가지는 동시에 중금속의 독성으로부터 식물을 보호하며, 성장 또한 향상시킬 수 있는 근권세균의 분리 및 이를 식물상 복원에 활용하는 기술 개발이 향후 필요하다.

요 약

여러 산업현장에서 배출되는 중금속은 독성이 없는 상태로 분해되거나 안정화되지 않고, 먹이사슬을 따라 생물의 체내에 고농도로 축적되어 여러 가지 병을 유발하는 문제점을 가지고 있는 오염물질이다. 이러한 중금속으로 오염된 토양을 정화하기 위하여 식물을 이용한 친환경적이며 경제적인 식물상 복원 기법이 주목 받고 있으며, 그 효율을 증대시키기 위한 방법 중 하나로 식물과 근권미생물 간의 상리공생적 상호관계에 대한 연구가 진행되고 있다. 본 논문에서는 중금속으로 오염된 토양에서 식물과 식물의 근권에서 서식하는 근권세균 사이의 상호 기작에 관한 기존 연구 결과 및 동향에 대하여 알아보았다. 식물의 뿌리에 의해 형성되는 근권의 물리·화학적, 생물학적 특성은 근권세균의 생물량 및 활성, 군집구조에 직·간접적인 영향을 미친다. 뿌리삼출물은 미생물에게 유용한 탄소원과 성장인자로 제공됨으로써 토양 내 서식하고 있는 근권세균의 성장과 대사를 촉진하는 역할을 한다. PGPR은 식물뿌리성장을 억제하는 ethylene의 전구체인 ACC를 제거하는 ACC deaminase 활성, 식물성 호르몬인 IAA 생성 능력, 철 공급체인 Siderophore 합성 능력을 모두 가지고 있을 뿐만 아니라 토양 속 인을 식물이 이용할 수 있도록 가용화 시키는 능력까지 가지고 있는 것으로 나타났다. 이러한 PGPR은 높은 농도의 중금속으로 오염된 토양에서 식물이 보다 잘 성장하고 서식할 수 있도록 도와준다. 따라서 이들 PGPR을 식물상 복원에 적용할 경우, 중금속의 높은 정화 효과를 기대할 수 있다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 특정기초연구지원사업(과제번호: R01-2005-000-10268-0)과 차세대바이오환경기술연구센터(AEBRC, 과제번호: R11-2003-006)의 지원을 받아 수행되었음.

REFERENCES

1. Abeles, F. B., P. W. Morgan, and Jr. M. E. Saltveit. 1992. Ethylene in plant biology. 2nd ed. Academic Press, New York, U.S.A.
2. Abou-Shanab, R. A., J. S. Angle, T. A. Delorme, R. L. Chaney, P. van Berkum, H. Moawad, K. Ghanem, and H. A. Ghazlan. 2003. Rhizobacterial effects on nickel extraction from soil and uptake by *Alyssum murale*. *New Phytol.* **158**: 219-224.
3. Barbieri, P., T. Zanelli, E. Galli, and G. Zanetti. 1986. Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid. *FEMS Microbiol. Lett.* **36**: 87-90.
4. Barea, J. M. and M. E. Brown. 1974. Effects on plant growth by *Azotobacter paspali* related to synthesis of plant growth regulating substances. *J. Appl. Bacteriol.* **37**: 583-593.
5. Bar-Ness, E., Y. Chen, H. Hadar, H. Marschner, and V. Romheld. 1991. Siderophores of *Pseudomonas putida* as an iron source for dicot and monocot plants. *Plant Soil* **130**: 231-241.
6. Blaylock, M. J. and J. W. Huang. 2000. Phytoextraction of Metals, p. 53-70. In Raskin, I. and B.D. Ensley (eds.), *Phytoremediation of Toxic Metals Using Plants to Clean-up the Environment*. John Wiley & Sons, Inc., New York, U.S.A.
7. Burd, G. I., D. G. Dixon, and B. R. Glick. 1998. A plant growth-promoting bacterium that decrease Nickel toxicity in seedlings. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**: 3663-3668.
8. Curl, E. A. and B. Truelove. 1986. Factors affecting root exudation, p. 79-91. In Bommer, D.F.R. et al. (eds.), *The Rhizosphere*. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, Germany.
9. Dakora, F. D. and D. A. Phillips. 2002. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments. *Plant Soil* **245**: 35-47.
10. Deikman, J. 1997. Molecular mechanisms of ethylene regulation of gene transcription. *Physiol. Plant* **100**: 561-566.
11. Delorme, T. A., J. V. Gagliardi, J. S. Angle, and R. L. Chaney. 2001. Influence of the zinc hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* J. & C. Presl. and the nonmetal accumulator *Trifolium pratense* L. on soil microbial populations. *Can. J. Microbiol.* **47**: 773-776.
12. Ebbs, S. D. and L. V. Kochian. 1998. Phytoextraction of zinc by oat(*Avena sativa*), barley(*Hordeum vulgare*), and Indian mustard(*Brassica juncea*). *Environ. Sci. Technol.* **32**: 802-806.
13. Fan, T. W. -M., A. N. Lane, M. Shenker, J. P. Bertley, D. Crowley, and R. M. Higashi. 2001. Comprehensive chemical profiling of gramineous plant root exudates using high-resolution NMR and MS. *Phytochemistry* **57**: 209-221.
14. Francesconi, K., P. Visoottiviseth, W. Sridokchan, and W. Goessler. 2002. Arsenic species in an arsenic hyperaccumulating fern, *Pityrogramma calomelanos*: potential phytoremediator of arsenic-contaminated soil. *Sci. Total Environ.* **284**: 27-35.
15. Frankenberger, W. T. Jr. and W. Brunner. 1983. Methods of detection of auxin-indole acetic acid in soil by high performance liquid chromatography. *Soil Soc. Am. J.* **47**: 237-241.
16. Ghosh, M. and S. P. Singh. 2005. A review on phytore-

- mediation of heavy metals and utilization of its byproducts. *Appl. Ecol. Environ. Res.* **3**: 1-18.
17. Gilbert, E. S. and D. E. Crowley. 1997. Plant compounds that induce polychlorinated biphenyl biodegradation by *Arthrobacter* sp. strain B1B. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**: 1933-1938.
 18. Giovanelli, J., S. H. Mudd, and A. H. Datko. 1980. Sulfur amino acids in plants, p. 453-505. In Mifflin, B.J. (ed.), *Amino acids and derivatives. The biochemistry of plants: a comprehensive treatise*, vol. 5. Academic Press, New York, U.S.A.
 19. Glick, B. R. 2003. Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment. *Biotechnol. Adv.* **21**: 383-393.
 20. Glick, B. R., D. M. Karaturovic, and P. C. Newell. 1995. A novel procedure for rapid isolation of plant growth promoting pseudomonads. *Can. J. Microbiol.* **41**: 533-536.
 21. Glick, B. R., C. L. Patten, G. Holguin, and D. M. Penrose. 1999. *Biochemical and genetic mechanisms used by plant growthpromoting bacteria*. Imperial College Press, London, England.
 22. Glick, B. R., D. M. Penrose, and J. Li. 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentration by plant growth-promoting bacteria. *J. Theor. Biol.* **190**: 63-68.
 23. Grayston, S. J., D. Vaughan, and D. Jones. 1996. Rhizosphere carbon flow in trees, in comparison with annual plants: the importance of root exudation and its impact on microbial activity and nutrient availability. *Appl. Soil Ecol.* **5**: 29-56.
 24. Hall, J. A., D. Peirson, S. Ghosh, and B. R. Glick. 1996. Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2. *Isr. J. Plant Sci.* **44**: 37-42.
 25. Hegde, R. S. and J. S. Fletcher. 1996. Influence of plant growth stage and season on the release of root phenolics by mulberry as related to development of phytoremediation technology. *Chemosphere* **32**: 2471-2479.
 26. John, P. 1991. How plant molecular biologists revealed a surprising relationship between two enzymes, which took an enzyme out of a membrane where it was not located, and put it into the soluble phase where it could be studied. *Plant Mol. Biol. Rep.* **9**: 192-194.
 27. Kende, H. 1989. Enzymes of ethylene biosynthesis. *Plant Physiol.* **91**: 1-4.
 28. Kennedy, I. R., L. L. Pereg-Gerk, C. Wood, R. Deaker, K. Gilchrist, and S. Katupitiya. 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.
 29. Khan, A. G., 2005. Role of soil microbes in the rhizospheres of plants growing on trace metal contaminated soils in phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **18**: 355-364.
 30. Kirk, G. J. D., E. E. Santos, and G. R. Findenegg. 1999. Phosphate solubilisation by organic anion excretion from rice (*Oryza sativa* L.) growing in anaerobic soil. *Plant Soil* **221**: 11-18.
 31. Kloepper, J. W., R. Lifshitz, and R. M. Zablotowicz. 1989. Freelifing bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol.* **7**: 39-44.
 32. Kramer, U., R. D. Smith, W.W. Wenzel, I. Raskin, and D. E. Salt. 1997. The role of metal transport and tolerance in nickel hyperaccumulation by *Thlaspi goesingense* Halacsy. *Physiol. Plant* **115**: 1641-1650.
 33. Kumar, P. B. A., V. Dushenkov, H. Motto, and I. Raskin. 1995. Phytoextraction: the use of plants to remove heavy metals from soils. *Environ. Sci. Technol.* **29**: 1232-1238.
 34. Kumino, T., K. Seaki, K. Nagaoka, H. Oyaizu, and S. Matsumoto. 2001. Characterization of copper-resistant bacterial community in rhizosphere of highly copper-contaminated soil. *Eur. J. Soil Biol.* **37**: 95-102.
 35. Kupper, H., F. J. Zhao, and S. P. McGrath, 1999. Cellular compartmentation of zinc in leaves of the hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens*. *Plant Physiol.* **119**: 305-311.
 36. Ma, L. Q., K. M. Komer, C. Tu, W. Zhang, Y. Cai., and E. D. Kennelly. 2001. A fern that hyperaccumulates arsenic. *Nature* **409**: 579.
 37. Mengoni, A., E. Grassi, R. Barzanti, E. G. Biondi, C. Gonnelli, C. K. Kim, and M. Bazzicalupo. 2004. Genetic Diversity of Bacterial Communities of Serpentine Soil and of Rhizosphere of the Nickel-Hyperaccumulator Plant *Alyssum bertolonii*. *Microb. Ecol.* **48**: 209-217.
 38. Mordukhova, E. A., N. P. Skvortsova, V. V. Kochetkov, A. N. Dubeikovskii, and A. M. Boronin. 1991. Synthesis of the phytohormone indole-3-acetic acid by rhizosphere bacteria of the genus *Pseudomonas*. *Mikrobiologiya* **60**: 494-500.
 39. Pandya, S., P. Iyer, V. Gaitonde, T. Parekh, and A. Desai. 1999. Chemotaxis of *Rhizobium* sp. S2 towards *Cajanus cajan* root exudates and its major components. *Curr. Microbiol.* **38**: 205-209.
 40. Patten, C. L. and B. R. Glick. 2002. Role of *Pseudomonas putida* Indoleacetic Acid in Development of the Host Plant Root System. *Appl. Environ. Microbiol.* **68**: 3795-3801.
 41. Pearce, D., M. J. Bzin, and J. M. Lynch. 1995. The rhizosphere as a biofilm, p. 207-220. In Lappin-Scott, H. M., J. W. Costerton (Eds.), *Microbial Biofilms*. Cambridge University Press, Cambridge, England.
 42. Penrose, D. M. and B. R. Glick. 2001. Levels of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) in exudates and extracts of canola seeds treated with plant growth-promoting bacteria. *Can. J. Microbiol.* **47**: 368-372.
 43. Pilet, P.-E. and M. Saugy. 1987. Effect on root growth of endogenous and applied IAA and ABA. *Plant Physiol.* **83**: 33-38.
 44. Prasad, M. N. V. and H. M. Freitas. 2003. Metal hyperaccumulation in plants - Biodiversity prospecting for phytoremediation technology. *Electron. J. Biotechnol.* **6**: 285-321.
 45. Rajkumar, M., R. Nagendran, K. J. Lee, W. H. Lee, and S. Z. Kim. 2005. Influence of plant growth promoting bacteria and Cr^{6+} on the growth of Indian mustard. *Chemosphere* **62**: 741-748.
 46. Reeves, R. D. and R. R. Brooks. 1983. European species of *Thlaspi* L.(Cruciferae) as indicators of nickel and zinc. *J.*

- Geochem. Explor.* **18**: 275-283.
47. Rodríguez, H. and R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol. Adv.* **17**: 319-339.
 48. Salt, D. E., R. D. Smith, and I. Raskin. 1998. Phytoremediation. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **49**: 643-668.
 49. Sekhar, K. C., C. T. Kamala, N. S. Chary, V. Balaram, and G. Garcia. 2005. Potential of *Hemidesmus indicus* for phytoextraction of lead from industrially contaminated soils. *Chemosphere* **58**: 507-514.
 50. Seong, K. Y. 1995. Factors influencing siderophore producing by plant growth promoting *Rhizopseudomonas* strains. *J. Korean Soc. Soil Sci. Fert.* **28**: 287-294.
 51. Shanahan, P., D. J. O'Sullivan, P. Simpson, J. D. Glennon, and F. O'Gara, 1992. Isolation of 2,4-Diacetylphloroglucinol from a fluorescent pseudomonad and investigation of physiological parameters influencing its production. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 353-358.
 52. Tilak, K. V. B. R., N. Ranganayaki, K. K. Pal, R. De, A. K. Saxena, C. S. Nautiyal, S. Mittal, A. K. Tripathi, and B. N. Johri. 2005. Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Curr. Sci.* **89**: 136-150.
 53. Vivas, A., B. Biro, J. M. Ruiz-Lozano, J. M. Barea, and R. Azcon, 2006. Two bacterial strains isolated from a Zn-polluted soil enhance plant growth and mycorrhizal efficiency under Zn-toxicity. *Chemosphere* **62**: 1523-1533.
 54. Wallace, J. 2001. Organic Field Crop Handbook. 2nd ed. Canadian Organic Growers Inc., Ottawa, Canada.
 55. Whipps, J. M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* **52** (Roots special issue): 487-511.
 56. Xie, H., J. J. Pasternak, and B. R. Glick. 1996. Isolation and characterization of mutants of the plant growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2 that overproduce indoleacetic acid. *Curr. Microbiol.* **32**: 67-71.
 57. Yang, M. J., X. E. Yang, and V. Romheld. 2002. Growth and nutrient composition of *Elsholtzia splendens* Nakai under copper toxicity. *J. Plant Nutr.* **25**: 1359-1375.
 58. Yang, S. F. and N. E. Hoffman. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **35**: 155-89.
 59. Yang, X., Y. Feng, Z. He, and P. J. Stoffella. 2005. Molecular mechanisms of heavy metal hyperaccumulation and phytoremediation. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **18**: 339-353.

(Received Mar. 28, 2006/Accepted Apr. 17, 2006)