

근권세균과 식물을 이용한 유류 오염 토양의 생물복원

김지영 · 조경숙*

이화여자대학교 환경공학과

Bioremediation of Oil-Contaminated Soil Using Rhizobacteria and Plants. Kim, Ji-young and Kyung-Suk Cho*. Department of Environmental Science and Engineering, Ewha Womans University, Seoul 120-750, Korea – Phytoremediation is an economical and environmentally friendly bioremediation technique using plants which can increase the microbial population in soil. Unlike other pollutants such as heavy metals, polychlorinated biphenyl, trichloroethylene, perchloroethylene and so on, petroleum hydrocarbons are relatively easily degradable by soil microbes. For successful phytoremediation of soil contaminated with petroleum hydrocarbons, it is important to select plants with high removal efficiency through microbial degradation. In this study, we clarified the roles of plants and rhizobacteria and identified their species effective on phytoremediation by reviewing the papers previously reported. Plants and rhizobacteria can degrade and remove the petroleum hydrocarbons directly and indirectly by stimulating each other's degradation activity. The preferred plant species are alfalfa, ryegrass, tall fescue, poplar, corn, etc. The microorganisms with a potential to degrade hydrocarbons mostly belong to *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., and *Alcaligenes* spp. It has been reported that the elimination efficiency of hydrocarbons by soil microorganisms can be improved when plants were simultaneously applied. For more efficient restoration, it's necessary to understand the plant-rhizobacteria interaction and to select the suitable plant and microorganism species.

Key words: Petroleum hydrocarbon, plant-assisted bioremediation, rhizodegradation, rhizobacteria, soil pollution

서 론

석유계 탄화수소(petroleum hydrocarbons)란 지하에서 천연적으로 생산되는 액체 탄화수소 또는 이를 정제한 것으로서, 이 중 정제하지 않은 자연상태의 것을 원유라고 한다. 원유는 탄소(84~87%)와 수소(11~14%)를 주성분으로 하며 이 외에도 황, 질소, 산소를 소량 함유하고 있다. 석유계 탄화수소의 구성성분은 탄소 사이에 chain 구조를 가지는 alkanes(methane, ethane, propane 등), 탄소 사이에 하나의 ring 구조를 가지는 aromatics(benzene, toluene, ethylbenzene, xylene 등), 그리고 2개 이상의 ring 구조로 이루어진 polycyclic aromatic hydrocarbons(PAHs; e.g. naphthalene, phenanthrene, anthracene, benzo[a]pyrene)이며, 이들의 구성 비율에 따라 수 천 가지의 물질로 존재한다(Fig. 1).

가솔린에 함유된 BTEX와 같은 방향족 탄화수소는 생분해가 잘 되며 휘발성과 물에 대한 용해도가 높고 유독한 성분으로 알려져 있다. 경유, 등유, 제트유 등의 중유는 최대 약 500여 가지의 성분들로 구성될 수 있으며, 보통 9~20개

의 탄소로 이루어져 있기 때문에 가솔린에 비해 비중이 크고 물에 대한 용해도와 휘발성이 낮다. 오일이나 윤활유는 14개 이상, 최고 30개까지의 탄소로 이루어져 있기 때문에 중유보다 분자량이 크고 점성이 크며 물에 녹지 않는다[1].

석유계 탄화수소는 가정용 연료, 차량 연료, 의약품이나 섬유의 원료 등 매우 다양한 형태로 사용되고 있으며 그에 따라 많은 양의 석유계 탄화수소가 환경에 잔류하여 생태계와 인체에 피해를 주게 된다. 배출된 유류물질은 1차적으로 토양으로 흘러 들어가게 되는데, 토양 내의 유류 성분은 토양의 자정능력 상실로 인한 생산성 저하, 미생물 멸종 등 토양 생태계에 영향을 주게 된다. 석유계 탄화수소에 의한 인체의 영향은 그 종류와 노출 시간, 노출된 양에 따라 다르게 나타나는데, benzene, toluene, xylene 등 분자량이 작은 물질은 중추신경계에 영향을 주며 심할 경우 사망에 이르기기도 하며 *n*-hexane은 대기 중 농도가 500~2,500 ppmv일 때 다리 감각 마비 등 말초신경장애를 일으킨다. 이 외에도 석유계 탄화수소는 혈액, 면역체계, 간, 신장, 폐 등 각종 장기에 심각한 영향을 준다[9].

우리나라에서는 산업공단지역, 주유소 및 지하 유류 비축기지 등으로부터 유류가 누출되어 주변 토양 및 지하수가 오염되고 있다. 우리나라에는 전국에 2006년 현재 11,749개의 주유소가 있으며(한국주유소협회, 2006), 주유소를 포함하여

*Corresponding author

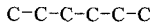
Tel: 82-2-3277-2393, Fax: 82-2-3277-3275

E-mail: kscho@ewha.ac.kr

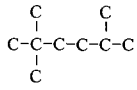
Saturated hydrocarbons

Alkanes

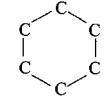
Normal, continuous chain (C_nH_{2n+2n})



Iso, branched chain (C_nH_{2n+2})



Cyclic, circle of carbons: naphthenes



Unsaturated hydrocarbons

Alkanes

Olefins (C_nH_{2n})



Arenes

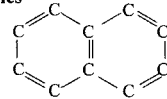
Benzene (C_6H_6)



Toluene (C_7H_8)

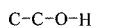
Polynuclear Aromatics

Naphthalene ($C_{10}H_8$)



Oxygenates

Ethanol (C_2H_5OH)



MTBE ($C_5H_{12}OCH_2$)



Fig. 1. The molecular structure of petroleum hydrocarbons [1].

지하에 유류를 저장하고 있는 유류저장업체에서 보유하고 있는 지하유류저장탱크 대부분이 탱크 외부에 콘크리트 박스를 갖추고 있지 않고 20년 이상 된 노후 저장탱크가 많아 심각한 토양 및 지하수 오염을 야기시키고 있다[2]. 1996년부터 토양환경보전법이 시행됨에 따라 2004년 12월 31일 현재 시도지사에게 신고된 토양오염유발시설 설치 업소 22,078개소 가운데 주유소와 석유류 설치 산업시설은 18,491개소였고, 이 중 11,152개 시설을 검사한 결과, 198개 업소가 토양오염우려기준을 초과하였으며 초과율은 1.8%이었다[3].

오염된 토양을 정화하는 방법은 크게 물리화학적 처리기술, 열적 처리기술, 생물학적 처리기술의 3가지로 구분할 수 있다. 우선 물리화학적 처리기술에는 토양증기추출법, 토양세척법, 고형화안정화법이 있고 열적 처리기술에는 소각, 열분해, 휘발, 열탈착법이 있으며 생물학적 처리기술에는 landfarming, biofile, bioreactor, phytoremediation 등이 있다. 휘발성이 큰 물질에 의해 오염되어 있는 경우에는 토양증기추출법을 이용하는 것이 유리하며 정화대상 오염물질이 생물학적으로 분해되기 쉬운 물질인 경우에는 bioremediation 기법이 사용된다. 정화대상 오염물질이 다른 기법으로 정화하기 곤란한 비휘발성 물질, 생물학적 난분해성 물질, 중금속 등인 경우에는 토양세척법이 유리하다[4].

유류오염토양을 복원하는 데 있어서 생물을 이용한 복원기술은 경제적이고 환경친화적인 기술로서 적용가능성이 높은 기술이며, 유류오염토양복원에 성공적으로 적용되고 있는 기술이다[51, 82, 98]. 생물학적 처리기술 중에서 landfarming이나 biofile같은 경우 유류로 오염된 토양에 대한 정화효율이 높지 않다는 단점이 있는 반면 영양물질이나 산소를 공급해주어 토착미생물에 의한 토양오염물질 분해를 촉진하는 biostimulation이나 특정 오염물질을 분해할 수 있는 미생물을 개발하여 토양에 접종함으로써 토양정화 효율을 높일 수 있는 bioaugmentation 기법의 경우 정화효

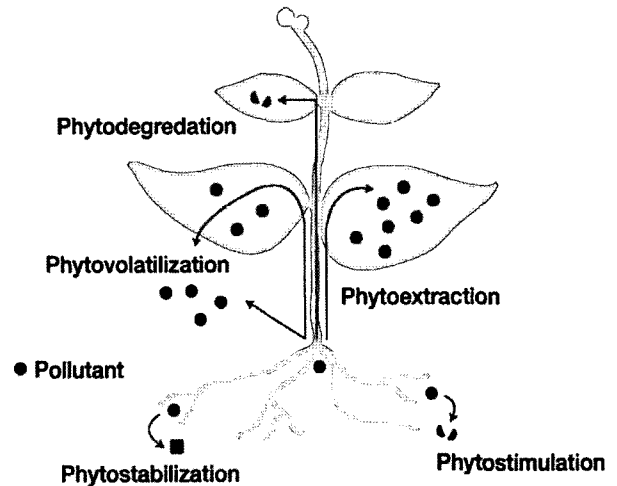


Fig. 2. Possible fates of pollutants during phytoremediation [70].

율이 높고 다른 생물학적 처리방법에 비해 정화에 필요한 시간이 적어 적용가능성이 높은 기술로 평가된다. 특히, 유류오염물질을 분해할 수 있는 미생물과 토양 내의 미생물량을 증가시킬 수 있는 고등식물을 함께 이용함으로써 생물복원기술의 효율을 극대화할 수 있는 phytoremediation 방법이 주목을 받고 있다. Phytoremediation이란 식물과 식물에 결합돼있는 미생물을 이용해서 오염된 환경을 정화하는 방법이다. Phytoremediation의 기작은 phytostabilization과 phytoextraction, phytovolatilization, phytostimulation(혹은 rhizodegradation), phytodegradation 등이 있다(Fig. 2).

Phytostabilization이란 식물을 이용해서 토양의 오염물질을 안정화시키는 방법으로, 식물이 hydraulic barrier로서 토양의 침식과 오염물질의 침출을 방지하거나 토양 내의 오염물질을 침전 등의 과정을 통해 생물이용도가 낮은 형태로 전환하는 역할을 하는 것을 말한다. Phytoextraction이란 토양 내의 오염물질을 식물체내에 축적시키는 방법으로, 오염물질이 축적된 식물은 거두어서 소각 등의 방법으로 처리한다. 식물체내에 흡수된 오염물질 중 특정 성분이 휘발되기도 하는데 이러한 과정을 phytovolatilization이라고 한다. Phytostimulation이란 식물이 근권 미생물의 토양 내 유기오염물질 분해를 촉진하는 기작이다. 또, 식물은 토양 내의 유기오염물질을 직접 분해하기도 하는데 이러한 작용은 식물의 효소 활성에 의해 일어나며 이 과정을 phytodegradation이라고 한다. 오염된 토양은 오염물질의 종류와 환경조건에 따라 다양한 기작에 의해서 정화되는데, 중금속이나 무기오염물질 등의 제거에는 주로 phytoextraction이 이용되고 polychlorinated biphenyl(PCB), polyaromatic hydrocarbons (PAHs), petroleum hydrocarbons와 같이 식물이 직접 흡수할 수 없지만 미생물에 의해 분해될 수 있는 소수성 유기오염물질은 phytostimulation에 의해 제거된다. 또, 제조제,

trinitrotoluene, methyl tert-butyl ether (MTBE), trichloroethylene(TCE) 등은 phytodegradation에 의해, 이 중 MTBE, TCE 등의 휘발성유기화합물이나 Se, Hg 등 휘발성 형태로 존재할 수 있는 무기물의 경우 phytovolatilization에 의해 제거된다[70].

Phytoremediation을 적용함에 있어서 성공적인 토양 복원을 수행하기 위해서는 식물과 근권 미생물 사이의 상호작용을 이해하는 것이 매우 중요하다. 토양 내 유류오염물질은 중금속 등의 오염물질과 달리 식물에 의해서 분해될 수 있으며[70], 따라서 유류오염물질 정화효율이 높은 식물종을 선택하는 것이 무엇보다 중요하다. 또한 유류로 오염된 토양이 정화되는 과정에서 유류오염물질을 분해하는 토착 미생물의 역할에 대한 연구가 많이 수행되어 왔으며 미생물의 오염물질 생분해 활성이 bioremediation 과정에서 매우 결정적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다[100]. 본 연구에서는 유류로 오염된 토양을 정화하는 데 있어서 phytoremediation 기작을 살펴보고, 이 과정에서 식물과 근권 미생물의 역할을 밝혀 phytoremediation 동안의 토양 내의 거동을 이해하고자 한다. 또한 이전에 보고된 연구결과를 바탕으로 유류오염토양 복원에 효과적인 식물종과 근권 미생물을 파악하고자 한다.

Phytoremediation 에서 식물과 근권 미생물의 오염물질 분해와 상호작용

토양 내의 유류오염물질은 분해가 어려워 축적에 의해 토양으로부터 제거되는 중금속이나 휘발에 의해 제거되는 휘발성 오염물질 등과는 달리 주로 분해에 의해서 토양으로부터 제거된다. Phytoremediation 기작 중 유류오염물질의 분해에 관련된 기작인 phytoremediation과 phytostimulation(또는 rhizodegradation)에 대해서 살펴보았다.

식물에 의한 분해 작용(phytodegradation)

Phytodegradation은 식물에 의한 토양 내 오염물질 분해작용으로, phytotransformation이라고 하기도 한다. 식물은 토양 내의 오염물질을 식물체내로 흡수하여 다양한 기작을 통해서 분해하거나 식물체 외부로 효소와 같은 물질을 분비함으로써 오염물질을 분해하기도 한다. 오염물질은 식물에 의해 분해된 후 영양물질로서 이용된다[97]. 오염물질을 분해하는 데 있어서 식물의 역할을 직접적 역할과 간접적 역할로 구분할 수 있다.

직접 분해 기작(direct degradation) : 토양 내 유류오염물질이 식물체내에서 분해된다는 연구가 이미 수십 년 전부터 이루어져왔으며, 최근 방사선동위원소 실험을 통해 식물에 의한 유류오염물질 분해에 대한 보다 정확한 연구결과들이 보고되고 있다. 콩, 옥수수, 모과 등의 식물은 methane, ethane, propane, butane, pentane 등의 *n*-alkane을 분해할

수 있는 것으로 보고되었는데, 그 분해 과정은 다음과 같다. n -alkane \rightarrow primary alcohols \rightarrow fatty acids \rightarrow acetyl-co A \rightarrow various compounds. 또한 aromatics인 benzene과 toluene은 각각 phenol과 glycol로 전환된 이후에 최종적으로 fumaric, succinic, malic acid 등으로 분해된다[24]. PAHs 역시 식물체내의 $^{14}\text{CO}_2$ 의 양을 측정함으로써 분해가 이루어졌음을 확인할 수 있었다[26]. 식물체내에서 오염물질은 식물에 의해 직접적으로 분해되거나 endophytic microorganisms에 의해 분해가 이루어지기도 한다[11]. 그러나 식물에 의한 직접적인 유류오염물질 분해과정은 매우 복잡하고 또 식물체내에서 다양한 기작에 의해 일어나기 때문에 이 과정에 대한 정확한 규명은 아직 이루어지지 않았다.

간접 분해 기작(indirect degradation) : 식물은 토양 내의 유류오염물질을 직접 분해하는 것 외에도 근권 미생물이나 토양의 특성에 영향을 줌으로써 간접적으로 오염물질 분해를 돕는 작용을 하기도 한다. 토양 내의 유류오염물질 분해 과정에서 식물의 간접적인 역할은 첫 번째로 뿌리 삼출물을 분비함으로써 근권 미생물의 오염물질 분해를 촉진하는 rhizosphere effect이다[35]. 뿌리 삼출물은 glucose, fructose, saccharose, citric acid, lactic acid, succinic acid, alanine, serine, glutamic acid 등의 성분으로 이루어져 있다[12]. 뿌리 삼출물의 성분과 양은 식물종과 식물의 성장단계에 따라서 다양하며, 뿌리삼출물의 성분에 따라 식물과 근권 미생물 간의 상호작용은 특이적 상호작용과 비특이적 상호작용으로 구분된다. 특이적 상호작용은 오염물질의 종류에 따라 특정한 성분의 뿌리 삼출물을 분비하는 식물과 근권 미생물 간의 상호작용이며, 비특이적 상호작용은 식물 뿌리로부터 오염물질의 종류에 상관없이 일정 성분의 뿌리 삼출물이 분비되는 경우에 식물과 근권 미생물 사이의 상호작용을 말한다[87]. 특이적 상호작용의 예로, 붉은 뽕나무는 일반적으로 뿌리로부터 phenolics를 분비하는데 이 물질은 PCB 분해 미생물인 *Alcaligenes eutrophus*, *Pseudomonas putida*와 같은 특정 미생물의 성장을 촉진하여 PCB나 PAHs를 분해하기 좋은 환경을 만든다[33]. 또한 식물의 뿌리 삼출물은 근권 미생물에 탄소원으로 이용될 수 있는데, 식물에 의한 탄소원 공급을 통해 토양 내에서 많은 양의 미생물 군집을 유지할 수 있게 된다.

식물의 두 번째 역할은 효소를 분비함으로써 효소의 촉매반응을 통해 유기오염물질 분해 작용이 시작되도록 하는 것이다. 이 과정에 관여하는 식물 효소는 dehalogenase, nitroreductase, peroxidase, carboxylesterase, laccase, nitrilase, phosphatase 등이 있다. 식물은 효소를 분비함으로써 살아 있을 때뿐만 아니라 죽은 이후에도 영향을 주게 된다[20, 70, 104].

세 번째는 토양의 물리화학적 성질에 영향을 줌으로써 오염물질의 분해를 돕는 작용이다. 식물의 넓은 뿌리 구조는 식물, 근권 미생물, 토양 내 영양물질과 오염물질 사이의 접

속을 늘려 분해가 활발히 일어나도록 한다. 뿌리의 골무세 포가 떨어져 나오거나 점액질 콜로이드 탄수화물인 mucigel 이나 gelatic 성분의 물질을 분비하거나 또는 식물 사체로부터 토양에 유기물이 공급되어 근권 미생물이 영양물질과 에너지원으로 사용되며 그 외에 분비되는 다른 영양 물질은 근권 미생물의 활성을 촉진시킨다[55, 56, 50]. 또한, petroleum 중 lipophilics는 비교적 생물이용도가 낮은 성분으로서 식물 뿌리로부터 유기물이 공급되면 근권 미생물이 이용하기 쉬운 형태의 유기물이 먼저 소비되며, lipophilics는 공급된 유기물에 결합함으로써 생물이 더욱 이용하기 힘든 상태로 변한다. 식물 뿌리는 토양의 구조를 느슨하게 만들고, 뿌리 근처로 물을 이동시켜 근권 미생물의 분해활성을 돕기도 한다[30, 97].

근권 미생물에 의한 분해 작용(Rhizodegradation)

Rhizodegradation은 식물-보조 생물복원(plant-assisted bioremediation/degradation)이라고 하기도 하며, 근권 미생물의 활성을 이용하여 토양 내 오염물질을 분해하는 작용으로 이러한 오염물질 분해 능력은 식물 뿌리에 의해 근권이 형성된 경우에 향상될 수 있다. 근권 미생물은 토양 내 오염물질을 영양분과 에너지원으로 이용함으로써 분해할 수 있다. Rhizodegradation도 phytodegradation에서와 마찬가지로 근권 미생물의 역할을 직접적인 분해 작용과 식물에 대한 독성을 감소시킴으로써 식물의 성장을 돕는 간접적인 역할 두 가지로 구분할 수 있다.

근권 미생물에 의한 직접 분해 기작(rhizobacterial degradation) : 근권 미생물은 유기오염물질을 탄소원으로 이용할 뿐만 아니라 에너지를 얻기 위한 electron을 유기오염물질로부터 공급받기도 한다. 기본적으로 근권 미생물에 의한 오염물질 분해 기작은 호기성/혐기성 호흡, 공대사 및 발효 등이 있다[19]. PAHs는 호기성 호흡 기작에 의해 acids, alcohols, CO₂, H₂O 등 독성이 낮은 물질로 분해되며, 이 때 작용하는 효소는 dioxygenase이다[28]. 미생물은 개체 간에 유전정보를 빠르게 교환할 수 있다는 특징이 있다. 따라서 유류오염과 같이 새로운 오염물질에 노출되는 등 환경조건이 변화할 경우, 변화한 환경 조건에 적응하여 노출된 오염물질을 분해할 수 있는 미생물의 유전정보를 빠르게 다른 개체로 전달되어 토양 내의 미생물 군집은 변화한 환경 조건에 적응하는 방향으로 이동하게 된다[14].

근권 미생물에 의한 식물독성 감소(reducing phytotoxicity to plants) : 근권 미생물은 식물의 성장을 저해하는 식물독성 오염물(phytotoxic contaminants)를 분해함으로써 식물의 성장을 돕고 결국 식물이 식물 무독성 오염물(non-phytotoxic contaminants)을 잘 분해할 수 있도록 도와주는 역할을 한다. 또한 근권 미생물은 항생물질을 생산함으로써 토양 내 병원균에 의해 발생하는 여러 가지 식물질병으로부터 식물을 보호하는 역할을 하기도 한다[17].

식물과 근권 미생물의 상호작용

근권 미생물에 미치는 식물의 영향 : 식물의 뿌리는 근권 미생물에 서식처를 제공하고, 근권 미생물과 토양 내의 영양물질과 오염물질 간의 접촉을 증가시킴으로써 근권 미생물에 의한 오염물질 분해를 촉진한다[8, 46, 47, 66]. 또, 식물 뿌리는 토양 내에 산소를 공급함으로써[77] 근권 미생물의 호기적 분해를 돕는다. 식물로부터 분비되는 뿌리 삼출물은 근권을 영양분이 풍부한 환경으로 만들어 많은 수의 미생물이 살 수 있도록 하고 미생물의 활성을 촉진하며, 뿌리 삼출물에는 오염물질을 분해할 수 있는 효소가 포함되어 있어 근권 미생물에 의한 오염물질 분해 이외에 식물에 의한 오염물질 분해가 이루어지기도 한다. 또한 식물은 아직 밝혀지지 않았지만 특정한 기작에 의해 어떤 오염물질을 분해할 수 있는 미생물을 선택적으로 촉진하는 것으로 알려져 있다[88].

식물에 미치는 근권 미생물의 영향 : 근권 미생물은 식물에 독성을 가지는 오염물질을 분해함으로써 식물을 보호하고 식물의 성장에 필요한 영양분을 제공함으로써(예, 질소고정) 식물의 성장을 촉진시켜 식물에 의한 오염물질 분해가 잘 일어나도록 한다. 근권 미생물이 생산하는 항생물질은 토양으로부터 기인하는 각종 식물 병원균으로부터 식물을 보호하는 역할을 하기도 한다.

Phytoremediation 연구사례와 Petroleum 저감효과 비교

석유계 탄화수소로 오염된 토양의 정화에 근권 미생물을 이용한 phytoremediation을 적용한 연구사례를 살펴보았다. 우선 phytoremediation의 적용에 선호되는 식물종의 특성은 다음과 같다. 성장속도가 빠르고 식물 생체량이 많아야 하며 다른 종과의 경쟁에서 살아남을 수 있어야 하고 오염된 환경에 견딜 수 있어야 하고[70] 식물의 뿌리 구조가 크고 밀도가 높아야 하며 오염물질을 분해할 수 있는 효소를 많이 분비해야 한다. Phytoremediation을 적용할 때에 식물종과 미생물종의 선택에 있어서 정화하고자 하는 지역에서 자라고 있는 식물종과 그 지역으로부터 분리한 미생물 중에서 오염물질을 분해할 수 있는 미생물종을 선택하는 것이 효과적이며 높은 정화효율을 기대할 수 있다. Phytoremediation의 적용에 주로 이용된 식물종은 alfalfa, ryegrass, tall fescue, poplar, corn 등이었으며, 이 외에도 little bluestem, sorghum, sallow, oat, pine 등의 식물이 유류오염물질에 내성을 가지는 것으로 보고되었다(Table 2). 탄화수소를 분해할 수 있는 것으로 밝혀진 미생물종은 주로 *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Alcaligenes* spp. 등이었으며, 이 외에도 *Acidovorax* spp., *Acinetobacter* spp., *Cellulomonas* spp., *Rhodococcus* spp. 등의 미생물이 탄화수소 분해활성을 가지는 것으로 보고되고 있다(Table 3).

Table 1. Plants with a potential to tolerate petroleum hydrocarbons.

Plants	Reference
Fescue grass (<i>Cynodon dactylon</i>)	[5]
Western wheatgrass (<i>Agropyron smithi</i>)	[29]
Indiangrass (<i>Sorghastrum nutans</i>)	[29]
Common buffalograss (<i>Buchloe dactyloides</i>)	[29, 70]
Switchgrass (<i>Panicum virgatum</i>)	[16, 72]
Bermuda grass (<i>Cynodon dactylon</i> L.)	[83]
Alpine bluegrass (<i>Poa alpina</i> L.)	[66]
Ryegrass (<i>Lolium perenne</i> L.)	[31, 49, 53, 79]
Alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L.)	[59, 65, 66, 72, 83, 103]
Carrot (<i>Daucus carota</i>)	[102]
Tall fescue (<i>Festuca arundinacea</i> Schreb.)	[16, 34, 42, 70]
Red fescue (<i>Festuca rubra</i> var. <i>Arctared</i>)	[29, 79]
Soybean (<i>Glycine max</i>)	[25]
Mulberry (<i>Morus</i> L.)	[70]
Oriental goat's rue (<i>Galega orientalis</i>)	[40]
Palisadegrass (<i>Brachiaria brizantha</i>)	[61]
Water hyacinth (<i>Eichhornia crassipes</i>)	[70]
Broad bean (<i>Vicia faba</i>)	[74]
Canada wild-rye (<i>Elymun Canadensis</i>)	[29]
Fern (<i>Azolla pinnata</i>)	[18]
Side oats grama (<i>Bouteloua curtipendula</i>)	[29]
Blue grama (<i>Bouteloua gracilis</i>)	[29]
Poplar trees (<i>Populus deltoids x nigra</i>)	[29, 39, 68, 70, 86, 93]
Little bluestem (<i>Schizachyrium scoparius</i>)	[29, 72]
Big bluestem (<i>Andropogon gerardi</i>)	[29]
Sorghum (<i>Sorghum bicolor</i>)	[10, 83]
Duckweed (<i>Lemna gibba</i>)	[70]
Black mustard (<i>Brassica nigra</i>)	[89]
Willow (<i>Salix viminalis</i> L.)	[70, 99]
Mangrove (<i>Kandelia candel</i> and <i>Bruguiera gymnorrhiza</i>)	[43]
Corn (<i>Zea mays</i>)	[54, 81, 105]
Lupin (<i>Fabaceae Lupinus</i> L.)	[52]
Dill (<i>Anethum graveolens</i> L.)	[52]
Oat (<i>Avena</i> L.)	[52, 54]
Pine (<i>Pinus</i> L.)	[52, 58]
Common reed (<i>Phragmites australis</i>)	[65, 94]

석유계 탄화수소로 오염된 토양을 복원하는 데 있어서 처리효율을 극대화하기 위해서는 식물이나 미생물을 따로 적용하기보다 식물과 미생물을 함께 이용해서 처리하는 것이 효과적이다. 식물과 미생물이 가진 각각의 유류오염물질 분해활성뿐 아니라 식물과 미생물의 상호작용에 의한 유류오염물질 분해활성도 기대할 수 있기 때문이다. 미생물을 이용하는 경우에도 한 종의 미생물을 이용하는 것보다 여러 종으로 이루어진 미생물 consortium을 이용하는 것이 보다 높은 정확효율을 기대할 수 있다. 식물과 미생물을 이용하여 석유계 탄화수소로 오염된 토양을 정화한 연구를 비교 검토하여 오염물질의 종류와 사용한 식물과 미생물, 그리고 그에 따른 정확효율에 대해 Table 3에 정리하였다. *Cyperus laxus* Lam.과 *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Arthrobacter*

Table 2. Hydrocarbon-degrading microorganisms.

Microorganism	Reference
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	[45]
<i>Pseudomonas putida</i>	[32, 69]
<i>Pseudomonas veronii</i>	[101]
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	[84]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	[37, 96]
<i>Pseudomonas alcaligenes</i>	[95]
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	[21]
<i>Arthrobacter oxydans</i>	[73]
<i>Alcaligenes piechaudii</i>	[71]
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	[37]
<i>Alcaligenes faecalis</i>	[69]
<i>Corynebacterium</i>	[75]
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	[7]
<i>Micrococcus luteus</i>	[37]
<i>Mycobacterium</i>	[21, 41]
<i>Nocardia</i>	[15]
<i>Acidovorax avenae</i>	[63]
<i>Acidovorax facilis</i>	[101]
<i>Sphingomonas Yanoikuyae</i>	[36, 78]
<i>Clavibacter</i>	[23]
<i>Acinetobacter junii</i>	[60]
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	[38]
<i>Cunninghamella elegans</i>	[92]
<i>Paenibacillus polymyxa</i>	[101]
<i>Brevibacillus</i>	[90]
<i>Corynebacterium</i>	[22]
<i>Cytophaga</i>	[44]
<i>Erwinia</i>	[80]
<i>Methanosarcina mazei</i>	[85]
<i>Cellulomonas flavigena</i>	[73]
<i>Cellulomonas turbata</i>	[101]
<i>Rhodococcus erythropolis</i>	[62, 73]
<i>Rhodococcus aetherovorans</i>	[7]
<i>Bacillus cereus</i>	[60]
<i>Bacillus subtilis</i>	[6, 37]
<i>Bacillus sphaericus</i>	[60]
<i>Bacillus fusiformis</i>	[60]
<i>Bacillus pumilus</i>	[60]
<i>Gordonia rubropertincta</i>	[62]
<i>Gordonia terrae</i>	[62]
<i>Xanthomonas</i>	[32]
<i>Aspergillus ochraceus</i>	[92]
<i>Phanerochaete chrysosporium</i>	[92]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	[92]
<i>Syncephalastrum racemosum</i>	[92]
<i>Methylobacterium</i>	[7]
<i>Acidocella</i>	[23]
<i>Staphylococcus</i>	[64]

sp.로 구성된 미생물 consortium을 이용했을 때 180일 동안 90%의 total petroleum hydrocarbon(TPH)이 제거되었다는 연구결과가 보고되었으며[27], 비교적 난분해성 물질인 total PAH의 경우 alfalfa, switchgrass, little bluestem grass의 식물 종에 의해 같은 기간 동안 57%의 제거효율을 보였다 [72]. 보다 정확한 제거효율을 알기 위해 ¹⁴C-labeled pyrene

Table 3. Comparison of the elimination efficiency.

Contaminants	Plants	Microbes	Efficiency	Ref.
TPH	Cyperus laxus Lam.	Consortium (<i>Bacillus</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Arthrobacter</i> sp.)	90% after 180d	[27]
	-	Hydrocarbon-degrading bacterial consortium (<i>Bacillus</i> sp., <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp.)	72.7% in 12 weeks (light fraction of diesel fuel)	[13]
	-	-	75.2% in 12 weeks (heavy fraction of diesel fuel)	
¹⁴ C-labeled pyrene	Tall fescue	-	38% mineralization	[16]
	Switchgrass	Not identified	30% mineralization	
	Corn	-	15% more than bulk soil	[105]
¹⁴ C Benzo[a]pyrene	Poplar	<i>Sphingomonas yanoikuyae</i>	0.2% ¹⁴ CO ₂ production	[78]
	Oat		0.3% ¹⁴ CO ₂ production	
Pyrene, anthracene	Alfalfa, grass	Not identified	30~40% more than unplanted soil	[76]
Total PAH	Alfalfa, Switchgrass, little bluestem grass	Not identified	57% reduction after 6 months	[72]
Mineral oil	Willow	Not identified	57% removal after 1.5 years	[99]
Diesel	Poplar	Not identified	86% after 28d (second diesel application)	[68]
			50~60% after 30d (first diesel application)	[67]
PCB	Alfalfa	<i>Sinorhizobium meliloti</i>	45% mineralization	[59]
	Black mustard	Not identified	61% removal after 9 weeks	[89]
PBB	wild ryegrass	Not identified	95% decrease by 185d	[91]

을 대상으로 실험한 결과, 옥수수를 식종한 경우에 그렇지 않은 경우보다 15% 높은 제거효율이 관찰되었다[105].

근권 미생물을 이용한 Phytoremediation 적용의 장점과 제한

Phytoremediation은 오염한 환경을 정화하는 과정에서 발생하는 환경교란을 최소화할 수 있는 환경 친화적인 처리 기술이다. 또한 토양을 굴착하거나 다른 장소로 옮기는 등의 추가적 요구가 없이 오염된 현장에서 바로 적용할 수 있으며, 생물의 자연적인 정화 능력을 이용하는 기술로서 유지 관리하는 데 드는 비용이 적어 경제적인 토양 복원 기술이다. 물리화학적, 열적 처리기술과는 달리 심미적 장점이 있어 사회의 용인도가 높아 적용가능성이 매우 크다[57]. 토양이 오염된 경우에 한가지 오염물질에 노출되어있는 경우는 거의 없으며 대부분 토양 내에 다양한 오염물질이 같이 존재한다. 따라서 다양한 오염물질을 처리할 수 있는 phytoremediation 기법은 오염된 토양환경의 복원에 성공적으로 적용되고 있다[82, 98].

그런데, phytoremediation 기술이 오염된 토양을 복원하는데 있어서 경제적이고 친환경적인 기술임에도 불구하고, 실제 토양복원 적용사례가 적은 것은 물리화학적, 열적 처리 기술에 비해서 만족할 만한 처리 효과를 얻기까지 시간이 필요하며, 생물을 이용한 처리기술이기 때문에 오염물질의 독

성효과로 인해 적용 초기에 식생이 형성되기 어렵고 기후 등 식물의 성장이나 미생물의 활성에 영향을 미칠 수 있는 다양한 환경조건을 고려해야 하는 까다로움이 있기 때문이다. 또, 식물의 뿌리가 미치는 범위 내에서만 오염물질의 처리가 이루어지므로 처리범위가 제한적이고 식물체내에 축적된 오염물질이 다시 환경으로 이동할 가능성과 일부 오염물질의 경우 오히려 용해도를 증가시켜 오염을 확산시킬 수 있다는 우려도 있다[48, 57].

결론

석유계 탄화수소 화합물(petroleum hydrocarbons)은 매우 다양한 형태로 사용되고 있고 이에 따라 많은 양의 석유계 탄화수소가 환경에 잔류하여 생태계와 인체에 심각한 피해를 주게 된다. 토양 정화기술 중 phytoremediation 기법은 경제적이고 친환경적인 토양복원기술로, 유류로 오염된 토양을 복원하는 데 있어서 적용가능성이 높은 기술이다. 유류로 오염된 토양의 경우 식물과 미생물이 가진 각각의 오염물질 분해능력이 더해 서로의 상호작용에 의한 분해 작용이 토양 내의 유류오염물질을 제거하여 토양을 정화하는데 많은 기여를 한다. 따라서 근권미생물을 이용한 phytoremediation을 적용하여 성공적인 토양 복원을 수행하기 위해서는 식물과 근권 미생물 사이의 상호작용을 이해하는 것이 매우 중요하다. Phytoremediation을 도입하기 위해

서는 토양의 유류오염물질이 분해되는 과정에서 일어나는 식물과 근권 미생물 간의 상호작용을 보다 정확히 규명하고, 이를 통해 오염된 토양의 정화효율을 극대화하여 여전히 남아있는 제한점을 극복해야 한다.

요 약

산업발달과 인구증가로 인하여 석유계 탄화수소의 사용량이 점차 증가함에 따라 많은 양의 석유계 탄화수소가 환경에 잔류하여 토양과 지하수에 심각한 오염을 야기시키고 있으며, 인체에도 피해를 주게 된다. 유류오염토양을 복원하는 방법 중 생물을 이용한 복원기술은 경제적이고 환경친화적인 기술로서, phytoremediation 방법은 유류오염물질을 분해할 수 있는 미생물과 토양 내의 미생물량을 증가시킬 수 있는 고등식물을 함께 이용함으로써 생물복원기술의 효율을 극대화할 수 있는 방법이다. 토양 내 유류오염물질은 중금속, polychlorinated biphenyl, trichloroethylene, perchloroethylene 등의 오염물질과 달리 식물에 의해 분해될 수 있기 때문에 유류오염물질 정화효율이 높은 식물종을 선택하는 것이 무엇보다 중요하다. 본 연구에서는 phytoremediation 기법을 이용하여 유류오염토양을 정화하는 과정에서 식물과 근권 미생물을 역할을 밝히고, 이전에 보고된 연구결과를 바탕으로 유류오염토양복원에 효과적인 식물종과 근권미생물을 알아보았다. 토양 내의 유류오염물질은 식물과 근권 미생물에 의해 분해제거되는데, 식물과 근권 미생물은 유류오염물질을 직접 분해하기도 하며 서로의 분해작용을 촉진하는 간접적 역할을 하기도 한다. 유류오염 토양의 정화에 선호되는 식물종은 alfalfa, ryegrass, tall fescue, poplar, corn 등이었으며, 탄화수소를 분해할 수 있는 것으로 밝혀진 미생물종은 주로 *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp., *Alcaligenes* spp. 등이었다. Phytoremediation 방법을 통해 토양 내 유류오염물질의 정화효율을 높일 수 있다는 연구결과가 보고되고 있다. 따라서 phytoremediation 과정에서 식물과 근권 미생물의 역할과 상호작용을 정확히 이해한다면 보다 효과적인 토양복원을 기대할 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 한국과학재단 특정기초연구지원사업(R01-2005-000-10268-0)과 차세대바이오환경기술연구센터(AEBRC, R11-2003-006)의 지원을 받아 수행하였으며, 이에 감사드립니다.

REFERENCES

1. 김영웅, 2001. 유류오염 토양/지하수 환경복원 조사설계 사례. *J. Kor. Geoenviron. Soc.* 2: 10-19.

2. 박용하, 1995. 토양환경보전을 위한 오염방지기준 및 관리대책. 한국환경기술개발원.
3. 윤상희, 2005. 2004년 특정토양오염유발시설 설치 및 관리현황 보고. 환경부.
4. 최병순, 국승욱, 김진한, 이동훈, 박철희, 2001. 토양오염 처리 기술. 토양오염개론. 동화기술. p. 237-244.
5. Al-Ghazawi, Z., I. Saadoun, and A. Al-Shak'ah. 2005. Selection of bacteria and plant seeds for potential use in the remediation of diesel contaminated soils. *J. Basic Microbiol.* 45: 251-256.
6. Al-Sharidah, A., A. Richardt, J. R. Golecki, R. Dierstein, and M. H. Tadros. 2000. Isolation and characterization of two hydrocarbon-degrading *Bacillus subtilis* strains from oil contaminated soil of Kuwait. *Microbiol Res.* 155: 157-164.
7. Andreoni, V., L. Cavalca, M. A. Rao, G. Nocerino, S. Bernasconi, E. Dell'Amico, M. Colombo, and L. Gianfreda. 2004. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils. *Chemosphere* 57: 401-412.
8. Aprill, W. and R. C. Sims. 1990. Evaluation of the use of prairie grasses for stimulating polycyclic aromatic hydrocarbon treatment in soil. *Chemosphere* 20: 253-265.
9. ATSDR. 1999. Public health statement for total petroleum hydrocarbons (TPH).
10. Banks, M. K., P. Kulakow, A. P. Schwab, Z. Chen, and K. Rathbone. 2003. Degradation of crude oil in the rhizosphere of sorghum bicolor. *Int. J. Phytoremediation* 5: 225-234
11. Barac, T., S. Taghavi, B. Borremans, A. Provoost, L. Oeyen, J. V. Colpaert, J. Vangronsveld, and D. van der Lelie. 2004. Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants. *Nat. Biotechnol.* 22: 583-588.
12. Baudoin, E., E. Benizri, and A. Guckert. 2003. Impact of artificial root exudates on the bacterial community structure in bulk soil and maize rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.* 35: 1183-1192.
13. Bento, F. M., F. A. O. Camargo, B. C. Okeke, and W. T. Frankenberger. 2005. Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation. *Bioresour. Technol.* 96: 1049-1055.
14. Bollag, J. M., T. Mertz, and L. Otjen. 1994. Role of microorganisms in soil bioremediation. p. 2-10. In T. A. Anderson and J. R. Coats (ed.), *Bioremediation Through Rhizosphere Technology*. vol. 563, American Chemical Society: Washington, D.C. ACS Symposium Series, U.S.A.
15. Chang, J. H., S. K. Rhee, Y. K. Chang, and H. N. Chang. 1998. Desulfurization of diesel oils by a newly isolated dibenzothiophene-degrading *Nocardia* sp. strain CYKS2. *Biotechnol Prog.* 14: 851-855.
16. Chen, Y. C., M. K. Banks, and A. P. Schwab. 2003. Pyrene degradation in the rhizosphere of tall fescue (*Festuca arundinacea*) and switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *Environ. Sci. Technol.* 37: 5778-5782.

17. Chin-A-Woeng, T. F. C., G. V. Bloemberg, A. J. van der Bij, K. M. G. M. van der Drift, J. Schripsema, B. Kroon, R. J. Scheffer, C. Keel, P. A. H. M. Bakker, H. V. Tichy, F. J. de Bruijn, J. E. Thomas-Oates, and B. J. J. Lugtenberg. 1998. Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of tomato root caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Mol. Plant Microbe Interact.* **11**: 1069-1077.
18. Cohen, M. F., J. Williams, and H. Yamasaki. 2002. Biodegradation of diesel fuel by an *Azolla*-derived bacterial consortium. *J. Environ. Sci. Health Part A Toxic-Hazard Subst. Environ. Eng.* **37**: 1593-1606.
19. Committee on In Situ Bioremediation, Water Science and Technology Board, Commission on Engineering and Technical Systems, and National Research Council. 1993. *In Situ Bioremediation : When Does It Work?* National Academy Press, Washington, D.C., U.S.A.
20. Cunningham, S. D., T. A. Anderson, A. P. Schwab, and F. C. Hsu. 1996. Phytoremediation of soils contaminated with organic pollutants. *Adv. Agron.* **56**: 55-114.
21. Dandie, C. E., S. M. Thomas, R. H. Bentham, and N. C. McClure. 2004. Physiological characterization of *Mycobacterium* sp. strain 1B isolated from a bacterial culture able to degrade high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons. *J. Appl. Microbiol.* **97**: 246-255.
22. De Wever, H. and H. Verachtert. 1997. Biodegradation and toxicity of benzothiazoles. *Wat. Res.* **31**: 2673-2684.
23. Dore, S. Y., Q. E. Clancy, S. M. Rylee, and C. F. Kulpa, Jr. 2003. Naphthalene-utilizing and mercury-resistant bacteria isolated from an acidic environment. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **63**: 194-199.
24. Durmishidze, S. V. 1977. Metabolism of certain air-polluting organic compounds in plant (review). *Appl. Biochem. Microbiol.* **13**: 646-653
25. Edwards, N. T., B. M. Ross-Todd, and E. G. Garver. 1982. Uptake and metabolism of ¹⁴C anthracene by soybean (*Glycine max*). *Environ. Exp. Bot.* **22**: 349-357.
26. Edwards, N. T. 1988. Assimilation and metabolism of polycyclic aromatic hydrocarbons by vegetation – An approach to this controversial issue and suggestions for future research, p. 211-229. *In* M. Cook and A.J. Dennis (eds.), *Polycyclic aromatic hydrocarbons: A decade of progress*. 10th Int. Symp. Battelle Press, Columbus, Ohio, U.S.A.
27. Escalante-Espinosa, E., M. E. Gallegos-Martinez, E. Favela-Torre, and M. Gutierrez-Rojas. 2005. Improvement of the hydrocarbon phytoremediation rate by *Cyperus laxus* Lam. Inoculated with a microbial consortium in a model system. *Chemosphere* **59**: 405-413.
28. Eweis, J. B., S. J. Ergas, D. P. Y. Chang, and E. D. Schroeder. 1998. *Bioremediation principles*. McGraw-Hill, Inc.: Toronto, Canada.
29. Farrell, R. E., C. M. Frick, and J. J. Germida. 2000. A database of plants that play a role in the phytoremediation of petroleum hydrocarbons. p. 29-40. *Proceedings of the Second Phytoremediation Technical Seminar*, Environment Canada, Ottawa, Canada.
30. Frick, C. M., R. E. Farrell, and J. J. Germida. 1999. Assessment of phytoremediation as an In-Situ technique for cleaning oil-contaminated sites. Petroleum Technology Alliance of Canada, Calgary, Canada.
31. Gunther, T., U. Dornberger, and W. Fritsche. 1996. Effects of ryegrass on biodegradation of hydrocarbons in soil. *Chemosphere* **33**: 203-215.
32. Hammann, C., J. Hegemann, and A. Hildebrandt. 1999. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation genes in different soil bacteria by polymerase chain reaction and DNA hybridization. *FEMS Microbiol. Lett.* **173**: 255-263.
33. Hegde, R. S. and J. S. Fletcher. 1997. 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.
34. Huang, X. D., Y. El-Alawi, J. Gurska, B. R. Glick, and B. M. A. Greenberg. A multi-process phytoremediation system for decontamination of persistent total petroleum hydrocarbons (TPHs) from soils. *Microchem. J.* **81**: 139-147.
35. Hutchinson, S. L., A. P. Schwab, and M. K. Banks. 2003. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in the rhizosphere. p. 355-386. *In* S. C. McCutcheon, and J. L. Schnoor (eds.), *Transformation and Control of Contaminants*, Wiley, New York, U.S.A.
36. Hynes, R. K., R. E. Farrell, and J. J. Germida. 2004. Plant-assisted degradation of phenanthrene as assessed by solid-phase microextraction (SPME). *Int. J. Phytoremediation* **6**: 253-268.
37. Ilori, M. O. and D. I. Amund. 2000. Degradation of anthracene by bacteria isolated from oil polluted tropical soils. *Z Naturforsch [C]*. **55**: 890-897.
38. Jirausch, M., O. Asperger, and H. P. Kleber. 1986. Alcohol oxidation by *Acinetobacter calcoaceticus* EB 104-a n-alkane-utilizing and cytochrome P-450-producing strain. *J. Basic Microbiol.* **26**: 351-357.
39. Jordahl, J. L., L. Foster, J. L. Schnoor, and P. J. J. Alvarez. 1997. Effect of hybrid poplar trees on microbial populations important to hazardous waste bioremediation. *Environ. Toxicol. Chem.* **16**: 1318-1321.
40. Kaksonen, A. H., M. M. Jussila, K. Lindstrom, and L. Suominen. 2006. Rhizosphere effect of *Galega orientalis* in oil-contaminated soil. *Soil Biol. Biochem.* **38**: 817-827.
41. Kanaly, R. A., R. Bartha, K. Watanabe, and S. Harayama. 2000. Rapid mineralization of benzo[a]pyrene by a microbial consortium growing on diesel fuel. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 4205-4211.
42. Karthikeyan, R., K. R. Mankin, L. C. Davis, and L. E. Erickson. 2003. Fate and transport of jet fuel (JP-8) in soils with selected plants. *Int. J. Phytoremediation* **5**: 281-292.
43. Ke, L., W. Q. Wong, T. W. Wong, Y. S. Wong, and N. F. Tam. 2003. Removal of pyrene from contaminated sediments by mangrove microcosms. *Chemosphere* **51**: 25-34.
44. Khomiakova, D. V., I. V. Botvinko, and A. I. Netrusov.

2003. Isolation of hydrocarbon-oxidizing psychrophilic bacteria from oil-polluted soils. *Prikl Biokhim Mikrobiol.* **39**: 661-664.
45. King, J. M. H., P. M. DiGrazia, B. Applegate, F. Larimer, and G. S. Saylor. 1990. Rapid, sensitive bioluminescent reporter technology for naphthalene exposure and biodegradation. *Science* **249**: 778-781.
46. Kingsley, M. T., J. K. Fredrickson, F. B. Metting, and R. J. Seidler. 1994. Environmental restoration using plant-microbe bioaugmentation. p. 287-292 *In* R. E. Hinchee, A. Leeson, L. Semprini, and S. K. Ong (eds.), *Bioremediation of Chlorinated and Polyaromatic Hydrocarbon Compounds*, Lewis Publishers, Boca Raton, FL, U.S.A.
47. Kuiper, I., G. V. Bioemberg, and B. J. J. Lugtenberg. 2001. Selection of a plant-bacterium pair as a novel tool for rhizostimulation of polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacteria. *Mol. Plant Microbe Interact.* **14**: 1197-1205.
48. Kuiper, I., E. L. Lagendijk, F. V. Bloemberg, and B. J. J. Lugtenberg. 2004. Rhizoremediation: A beneficial plant-microbe interaction (review). *Mol. Plant Microbe Interact.* **17**: 6-15.
49. Lalonde, T. L., H. D. Skipper, D. C. Wolf, C. M. Reynolds, D. L. Freedman, B. W. Pinkerton, P. G. Hartel, and L. W. Grimes. 2003. Phytoremediation of pyrene in a Cecil soil under field conditions. *Int. J. Phytoremediation* **5**: 1-12.
50. Leigh, M. B., J. S. Fletcher, X. Fu, and F. J. Schmitz. 2000. Root turnover: an important source of microbial substances in rhizosphere remediation of recalcitrant contaminants. *Environ. Sci. Technol.* **36**: 1579-1583.
51. Lindstrom, J. E., R. C. Prince, J. C. Clark, M. J. Grossman, T. R. Yeager, J. F. Braddock, and E. J. Brown. 1991. Microbial populations and hydrocarbon biodegradation potentials in fertilized shoreline sediments affected by the T/V Exxon Valdez oil spill. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 2514-2522.
52. Liste, H. J. and M. Alexander. 2000. Plant-promoted pyrene degradation in soil. *Chemosphere* **40**: 7-10.
53. Liste, H. H. and D. Felgentreu. 2006. Crop growth, culturable bacteria, and degradation of petrol hydrocarbons (PHCs) in a long-term contaminated field soil. *Appl. Soil Ecol.* **31**: 43-52.
54. Liste, H. H. and I. Prutz. 2006. Plant performance, dioxygenase-expressing rhizosphere bacteria, and biodegradation of seathered hydrocarbons in contaminated soil. *Chemosphere* **62**: 1411-1420.
55. Lugtenberg, B. J. J. and L. A. de Weger. 1992. Plant root colonization by *Pseudomonas* spp.. p. 13-19. *In* E. Galli, S. Silver, and B. Witholt (eds.), *Pseudomonas: Molecular Biology and Biotechnology*, des. Am. Soc. Microbiol., Washington, D.C., U.S.A.
56. Lynch, J. M. and J. M. Whipps. 1990. Substrate flow in the rhizosphere. *Plant Soil* **129**: 1-10.
57. Macek, T., M. Mackova, and J. Kas. 2000. Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation (research review paper). *Biotechnol. Adv.* **18**: 23-34.
58. McLean, L., J. Ireland, S. Hohn, and L. Herman. 1999. Preliminary report and design of using jack pines for the phytoremediation of diesel-contaminated soils in Northern Saskatchewan. p. 159-167. *Proceedings of the Phytoremediation Technical Seminar*, Calgary, Alberta. Ottawa, Canada.
59. Mehmannaavaz, R., S. O. Prasher, and D. Ahmad. 2002. Rhizospheric effects of alfalfa on biotransformation of polychlorinated biphenyls in a contaminated soil augmented with *Sinorhizobium melioli*. *Process Biochem.* **37**: 955-963.
60. Menezes Bento, F., F. A. de Oliveira Camargo, B. C. Okeke, and W. T. Frankenberger, Jr. 2005. Diversity of biosurfactant producing microorganisms isolated from soils contaminated with diesel oil. *Microbiol. Res.* **160**: 249-255.
61. Merkl, N., R. Schultze-Kraft, and M. Schultze-Kraft. 2005. Effect of the tropical grass *Brachiaria brizantha* (Hochst. Ex A. Rich.) Stapf on microbial population and activity in petroleum-contaminated soil. *Microbiol. Res.* **161**: 80-91.
62. Mikolasch, A., E. Hammer, and F. Schauer. 2003. Synthesis of Imidazol-2-yl Amino Acids by Using Cells from Alkane-Oxidizing Bacteria *Appl. Environ. Microbiol.* **69**: 1670-1679.
63. Monferran, M. V., J. R. Echenique, and D. A. Wunderlin. 2005. Degradation of chlorobenzenes by a strain of *Acidovorax avenae* isolated from a polluted aquifer. *Chemosphere* **61**: 98-106.
64. Morgan, P. and R. J. Watkinson. 1994. Biodegradation of components of petroleum. p. 1-31. *In* C. Ratledge (ed.) *Biochemistry of Microbial Degradation*, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Netherlands.
65. Muratova, A., T. Hubner, N. Narula, H. Wand, L. Turkovskaya, P. Kuschik, R. Jahn, and W. Merbach. 2003. Rhizosphere microflora of plants used for the phytoremediation of bitumen-contaminated soil. *Microbiol. Res.* **158**: 151-161.
66. Nichols, T. D., E. C. Wolf, H. B. Rogers, C. A. Beyrouthy, and C. M. Beyrouthy. 1997. Rhizosphere microbial populations in contaminated soils. *Water Air Soil Pollut.* **95**: 165-178.
67. Palmroth, M. R., J. Pichtel, and J. A. Puhakka. 2002. Phytoremediation of subarctic soil contaminated with diesel fuel. *Bioresour Technol.* **84**: 221-228.
68. Palmroth, M. R., U. Munster, J. Pichtel, and J. A. Puhakka. 2005. Metabolic responses of microbiota to diesel fuel addition in vegetated soil. *Biodegradation.* **16**: 91-101.
69. Pepi, M., A. Minacci, F. Di cello, F. Baldi, and R. Fani. 2003. Logn-term analysis of diesel fuel consumption in a co-culture of *Acinetobacter venetianus*, *Pseudomonas putida* and *Alcaligenes faecalis*. *Antonie Van Leeuwenhoek.* **83**: 3-9.
70. Pilon-Smits, E. 2005. Phytoremediation. *Annu Rev Plant Biol.* **56**: 15-39.

71. Plaza, G. A., K. Ulfig, and R. L. Brigmon. 2005. Surface active properties of bacterial strains isolated from petroleum hydrocarbon-bioremediated soil. *Pol. J. Microbiol.* **54**: 161-167.
72. Pradhan, S. P., J. R. Conrad, J. R. Paterek, and V. J. Srivastava. 1998. Potential of phytoremediation for treatment of PAHs in soil at MGP sites. *J. Soil Contam.* **7**: 467-480.
73. Radwan, S. S., H. Al-Awadhi, N. A. Sorkhoh, and I. M. El-Nemr. 1998. Rhizospheric hydrocarbon-utilizing microorganisms as potential contributors to phytoremediation for the oily Kuwaiti desert. *Microbiol. Res.* **153**: 247-251.
74. Radwan, S., N. Dashti, and I. El-Nemr. 2005. Engancing the growth of *Vicia faba* plants by microbial inoculation to improve their phytoremediation potential for oily desert area. *Int. J. Phytoremediation.* **7**: 19-32
75. Rahman, K. S., T. Rahman, P. Lakshmanaperumalsamy, and I. M. Banat. 2002. Occurrence of crude oil degrading bacteria in gasoline and diesel station soils. *J. Basic Microbiol.* **42**: 284-291.
76. Reilley, K. A., M. K. Banks, and A. P. Schwab. 1996. Organic chemicals in the environment: dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere. *J. Environ. Qual.* **25**: 212-219.
77. Rentz, A. J., B. Chapman, P. J. J. Alvarez, and J. L. Schnoor. 2003. Stimulation of hybrid poplar growth in petroleum contaminated soils through oxygen addition and soil nutrient amendments. *Int. J. Phytoremediation* **5**: 57-72.
78. Rentz, J. A., P. J. J. Alvarez, and J. L. Schnoor. 2005. Benzo[a]pyrene co-metabolism in the presence of plant root extracts and exudates: Implications for phytoremediation. *Environ. Pollut.* **136**: 477-484.
79. Reynold, C. M. and D. C. Wolf. 1999. Microbial based strategies for assessing rhizosphere-enhanced phytoremediation. p. 125-135. *Proceedings of the Phytoremediation Technical Seminar*, Calgary, Alberta, Ottawa, Canada.
80. Rojas-Avelizapa, N. G., R. Rodriguez-Vazquez, J. Martinez-Cruz, F. Esparza-Garcia, A. Montes de Oca-Garcia, E. Rios-Leal, and G. Fernandez-Villagomez, 1999. Isolation and characterization of bacteria degrading polychlorinated biphenyls from transformer oil. *Folia Microbiol (Praha).* **44**: 317-321.
81. Ronchel, M. C. and J. L. Ramos. 2001. Dual system to reinforce biological containment of recombinant bacteria designed for rhizoremediation. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 2649-2656.
82. Ruberto, L., S. C. Vazquez, W. P. Mac Cormack. 2003. Effectiveness of the natural bacterial flora, biostimulation and bioaugmentation on the bioremediation of a hydrocarbon contaminated Antarctic soil. *Int. Biodeterior. Biodeg.* **52**: 115-125.
83. Schwab, A. P., M. K. Banks, and M. Arunachalam. 1995. Biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in rhizosphere soil. p. 23-29. *In* R.E. Hinchee, D.B. Anderson, and R.E. Hoepfel (eds.), *Bioremediation of Recalcitrant Organics*, Battelle Press, Columbus, U.S.A.
84. Shao, Z. Z., Y. Xu, Y. F. Ma, and Q. Guo. 2004. Isolation and identification of two marine bacteria with hydrocarbon-biodegradation activity. *Huan Jing Ke Xue.* **25**: 133-137.
85. Shcherbakova, V. A., K. S. Laurinavichus, A. M. Lysenko, N. E. Suzina, and V. K. Akimenko. 2003. Methanogenic sarcinae from an anaerobic microbial community degrading p-toluene sulfonate. *Mikrobiologiya* **72**: 547-553.
86. Shim, H., S. Chauhan, D. Ryoo, K. Bowers, S. M. Thomas, K. A. Canada, J. G. Burken, and T. K. Wood. 2000. Rhizosphere competitiveness of trichloroethylene-degrading, poplar-colonizing recombinant bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* **66**: 4673-4678.
87. Siciliano, S. D. and J. J. Germida. 1998. Mechanisms of phytoremediation: biochemical and ecological interactions between plants and bacteria. *Environ. Rev.* **6**: 65-79
88. Siciliano, S. D., N. Fortin, A. Mihoc, G. Wisse, S. Labelle, K. Beaumier, D. Ouellette, R. Roy, L. G. Whyte, M. K. Banks, P. Schwab, K. Lee, and C. W. Greer. 2001. Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**: 2469-2475.
89. Singer, A. C., D. Smith, W. A. Jury, H. Khoiviet, and D. E. Crowley. 2003. Impact of the plant rhizosphere and augmentation on remediation of polychlorinated biphenyl contaminated soil. *Environ. Toxicol. Chem.* **22**: 1998-2004.
90. Smith, R. M. 1994. The Physiology of aromatic hydrocarbon degrading bacteria. p 365-367. *In* C. Ratledge (ed.), *Biochemistry of Microbial Degradation*, Kluwer Academic Publisher, Dordrecht, Netherlands.
91. Sung, J., C. L. Munster, R. Rhykerd, M. C. Drew, and M. Y. Corapcioglu. 2003. The use of vegetation to remediate soil freshly contaminated recalcitrant contaminants. *Wat. Res.* **37**: 2408-2418.
92. Sutherland, J. B. 1992. Detoxification of polycyclic aromatic hydrocarbons by fungi. *J. Ind. Microbiol.* **9**: 53-62.
93. Tesar, M., T. G. Reichenauer, and A. Sessitsch. 2002. Bacterial rhizosphere populations of black poplar and herbal plants to be used for phytoremediation of diesel fuel. *Soil Biol. Biochem.* **34**: 1883-1892.
94. Tischer, S. and T. Hubner. 2002. Model trials for phytoremediation of hydrocarbon-contaminated sites by the use of different plant species. *Int. J. Phytoremediation* **4**: 187-203.
95. Totevova, S., M. Prouza, J. Burkhard, K. Demnerova, and V. Brenner. 2002. Characterization of polychlorinated biphenyl-degrading bacteria isolated from contaminated sites in Czechia. *Folia Microbiol (Praga).* **47**: 247-254.
96. Ueno, A., M. Hasanuzzaman, I. Yumoto, and H. Okuyama. 2006. Verification of Degradation of n-Alkanes in Diesel Oil by *Pseudomonas aeruginosa* Strain WatG in Soil Microcosms. *Curr. Microbiol.* **52**: 182-185.
97. USEPA, 1999. Phytoremediation resource guide. EPA/52/B-99/0.
98. USEPA, 2004. Abstracts of remediation case studies, Volume 8, EPA/542/R-04/012.

99. Vervaeke, P., S. Luyssaert, J. Mertens, E. Meers, F. M. Tack, and B. Lust. 2003. Phytoremediation prospects of willow stands on contaminated sediment: a field trial. *Environ Pollut.* **126**: 275-282.
100. Vogel, T. M. 1996. Bioaugmentation as a soil bioremediation approach. *Curr. Opin. Biotechnol.* **7**: 311-316.
101. Vogt, C., D. Simon, A. Alfreider, and W. Babel. 2004. Microbial degradation of chlorobenzene under oxygen-limited conditions leads to accumulation of 3-chlorocatechol. *Environ. Toxicol. Chem.* **23**: 265-270.
102. Wild, S. R. and K. C. Jones. 1992. Polynuclear aromatic hydrocarbon uptake by carrot grown in sludge-amended soil. *J. Environ. Qual.* **21**: 217-225.
103. Wiltse, C. C., W. L. Rooney, Z. Chen, A. P. Schwab, and M. K. Banks. 1998. Greenhouse evaluation of agronomic and crude oil-phytoremediation potential among alfalfa genotypes. *J. Environ. Qual.* **27**: 169-173.
104. Wolfe, N. L. and C. F. Hoehamer. 2003. Enzymes used by plants and microorganisms to detoxify organic compounds, p. 159-187. In S. C. McCutcheon and J. L. Schnoor (eds.), *Phytoremediation: Transformation and Control of Contaminants*, Wiley, New York, U.S.A.
105. Yoshitomi, K. J. and J. R. Shann. 2001. Corn (*Zea mays* L.) root exudates and their impact on ¹⁴C-pyrene mineralization. *Soil Biol. Biochem.* **33**: 1769-1776.

(Received May 25, 2006/Accepted June 12, 2006)