

군부대와 주유소 주변에서 채취한 토양에서의 미생물 군집구조와 우점종의 파악

Findings of Microbial Community Structure and Dominant Species in Soils Near Army Bases and Gas Stations

김 재 수
Jai-soo Kim

경기대학교 생명과학과
Department of Life Science, Kyonggi University

(2010년 1월 12일 접수, 2010년 2월 2일 채택)

ABSTRACT : This study examined microbial community structures (MCSs) according to environmental factors through DGGE analysis and comparison in various soils collected from near army bases and gas stations. As a result, the similarities based on DGGE band profiles showed the closer relationship in regional properties than in pollution characteristics, probably due to the degree of weak contamination. The highly contaminated samples with oil revealed low MCS similarities with others in the same region and very low with all the other samples in the other regions. Thus the microbial community structure would more be affected by region-based natural factors than by contamination factors in case of minor pollution. All the dominant culturable bacterial species were involved in firmicutes or high GC Gram+ in a major portion of soil samples and the highly oil-contaminated samples contained *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Methylobacterium*, *Clavibacter*, *Streptomyces* and *Nocardia* as reported genera, and *Leifsonia* as a unreported genus.

Key words : Contaminated soil, Microbial community structure, Dominant species, Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), Total petroleum hydrocarbon (TPH)

요약 : 각종 오염지역의 오염토양의 시료를 채취해 DGGE를 이용한 미생물군집구조를 서로 비교함으로써 어떤 요인이 영향을 많이 미치는지를 알아보았다. 미생물군집의 유사도 비교에서 TPH 오염 말고는 대부분의 오염정도가 심하지 않아서 오염 특성보다는 토양시료가 채취된 지역에 따라 더 유사함을 보여주었고 TPH 오염도가 가장 높았던 시료에서만 지역적 특성을 넘어 유사도 차이를 보여 주었다. 이와 같이 오염요인이 너무 크지 않은 경우에는 미생물군집구조가 지역특성 즉 여러 다른 환경요인에 의해 더 크게 영향을 받는 것을 이 연구를 통해 알 수가 있었다. 모든 오염토양의 우점종(배양성 세균) 조사에서 firmicutes와 high GC Gram+에 속하는 세균들이 주로 발견되었고 유류오염이 심한 토양에서 이미 보고된 *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Methylobacterium*, *Clavibacter*, *Streptomyces*, *Nocardia*와 아직 보고되지 않은 *Leifsonia*가 발견되었다.

주제어 : 오염토양, 미생물군집구조, 우점종, DGGE, TPH

1. 서론

산업화의 발달과 함께 세계적으로 많은 오염물질이 환경을 오염시켰으며 그 대가로 생태계의 파괴 및 인류에 각종 악영향을 끼쳐왔다. 이러한 피해를 더 이상 두고 볼 수가 없어 선진국을 비롯한 전 세계 여러 나라에서는 오염된 환경을 복원하고자 많은 노력이 촉발되었다. 처음에는 수질정화에서부터 대기정화에 이르기까지 인류에 가장 직접적인 영향을 주는 환경에 우선적으로 관심을 갖고 많은 투자를 해왔고, 이제는 수질 및 대기오염뿐만 아니라 오염처리가 까다로운 토양오염까지 관심을 갖고 처리에 많은 투자를 하고 있

다. 하지만 토양오염을 처리하기위한 각종 물리화학적 방법들은 비용이 너무 많이 들고 2차 오염, 소음/진동, 지역주민에게 불편함, 환경미화에 악영향, 등 많은 문제점들을 제기되고 있다. 그래서 미생물을 이용한 생물학적 오염물질의 처리방법이 선진국 등 여러 나라에서 연구 및 개발이 활발히 진행되고 있으며 실제 처리 현장에서 많은 적용과 효과가 드러나고 있다.¹⁾ 하지만 미생물자원의 부족으로 좀 더 효율적인 처리가 진행되지 못하고 있는 실정이다. 이에 본 연구를 통해 이러한 문제점을 해결하는데 좀 더 기여하고자 한다. 이 연구의 목적은 우리나라에 널리 분포하고 있는 오염토양을 대상으로 오염물질별 미생물의 군집구조의 차이를 밝히

†Corresponding author : E-mail : jkimtamu@kgu.ac.kr Tel : 031-249-9648 Fax : 031-249-9139

고 그 곳에 우점하면서 오염물질에 내성을 갖고 오염물질을 직접제거 또는 간접적인 도움을 주는 미생물종들을 파악하는데 1차 목적이 있다. 이러한 1차 목적이 달성되면 앞으로 생물학적 토양오염처리에 생물자원으로서 활용가치가 무궁무진한 미생물 종들이 파악되고 분리 및 다량 배양을 통해 토양오염처리 분야에 많은 기여를 하리라 본다.

최근의 16S rRNA 유전자의 염기서열을 기초로 한 분자생물학적 기술을 이용하여 토양내의 미생물 군집구조의 분석과 다양성 비교까지도 가능하다. 그 중에 가장 각광을 받고 있는 기술 중의 하나가 denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)이다.^{2,3)} 본 연구에서는 이 DGGE기법을 사용하여 중금속 및 유류로 오염된 각종 토양의 미생물 군집구조를 분석하고 우점종들을 파악하였다.

2. 재료 및 방법

2.1. 오염토양의 채취 및 분석

본 실험에 사용된 오염토양의 채취는 유류나 중금속으로 오염되었을 것으로 추정되는 곳의 표토(0-15 cm)를 채취하여 주요오염물질의 농도(중금속, 유기오염물질, 염소계 VOCs, 유류)를 측정하고 DGGE를 통해 각각의 유사도를 비교분석하였다. 시료번호 1-3은 미군부대 외곽 지역에서 채취를 했고 4-6은 과천지역의 주유소에서 그리고 7번은 모군부대 유류저장탱크 주변에서 채취를 했다. 토양의 물리화학적 특성을 파악하기위해 TN(총질소), OM(유기물), Av. P₂O₅(유효인산), 수분과 pH를 조사 분석하였고(Table 1), 각종 중금속의 분석은 여러 표준방법을 통해 분석하였다. 카드뮴, 구리, 납, 불소는 토양오염공정시험기준⁴⁾에 의한 0.1 N HCl 50 mL로 토양 10 g을 1시간 용출 후 ICP(Varian, Vista-Pro)로 분석하였고, 6가크롬은 전처리는 위와 같고 다만 3가크롬을 제거 후 ICP로 분석하였다. 수은, 아연, 니켈은 EPA method 3051A⁵⁾에 의한 Microwave digestion

(CEM, Mars-5) 처리 후 ICP로 분석하였고 비소는 토양오염공정시험기준에 의한 1.0 N HCl 50 mL로 토양 10 g을 30분 용출 후 ICP로 분석하였다. 유기인화합물은 토양오염공정시험기준⁴⁾에 의해 토양 20 g을 acetone으로 추출 후 GC-NPD(AGILENT, 6890N)으로, 시안은 토양오염공정시험기준에 의한 토양 일정량을 증류한 후 Spectrophotometer (Varian, Cary300)로 620 nm에서, 그리고 페놀은 토양오염공정시험기준에 의한 토양 10 g을 아세톤/노말헥산 (1:1)로 추출 후 GC-FID(Agilent, 6890N)로 분석하였다. 유류오염의 대표적인 물질인 BTEX와 TPH는 EPA method 8015C⁶⁾에 의한 GC-FID로 분석하였고, 염소계화합물의 대표적인 오염물질인 TCE와 PCE는 토양오염공정시험기준⁴⁾에 의한 토양 10 g을 methanol 10 mL로 추출한 후 GC-μECD(Agilent, 6890N)로 분석하였다. 마지막으로 pH는 토양오염공정시험기준⁴⁾에 의해 토양 5 g을 증류수 15 mL로 1시간 방치 후 pH meter(Mettler Toledo)로 측정하였다.

2.2. DNA 추출, DGGE 분석 및 유사성 비교

채취된 토양시료의 약 0.5 g(wet)을 취해 BI0101 FastDNA SPIN kit(Q-biogene, USA)를 이용하여 genomic DNA를 추출한 후 전기영동으로 확인하였다. Primer 341F(5'-CCT ACGGGAGGCAGCAG)와 907R (5'-CCCCGTCAATTCATT TGAGT T)을 이용하여⁷⁾ 16S rRNA gene의 염기서열의 일부를 PCR (iCycler, BioRad, USA)을 통해 증폭하였다(1st PCR). 증폭된 1차 PCR product를 gel extraction kit (Bioneer, Korea)를 사용하여 약 600bp 부위를 선택적으로 gel elution하여 전기영동을 하였다. 밴드의 두께는 훨씬 줄었지만 끌리는 밴드가 사라짐을 알 수 있어 확실히 순수화되었음을 확인하였다. 마지막으로 2nd PCR은 GC clamp달린 341F primer를 사용한 것만 빼고 모든 과정이 1st PCR과 동일한 조건에서 모든 과정을 수행하였다. PCR 산물은 DGGE로 분석하였다. DGGE는 DCode™ System (Bio-Rad, USA)과 6% polyacrylamide gel을 이용하여 urea 농도를

Table 1. The physico-chemical properties of contaminated soil samples

Sample	TN (%)	OM (g/kg)	Av. P ₂ O ₅ (mg/kg)	Water Content (%)	pH
1	0.03	2.7	12	22.7	4.3
2	0.01	2.2	19	15.2	5.8
3	0.02	18.3	28	7.9	6.5
4	0.03	4.9	7	15.7	5.9
5	0.01	6.7	7	24.5	5.7
6	0.02	4.6	62	14.7	7.3
7	0.01	7.3	34	14.2	8.0

40~60% (100% denaturant; 7 M urea, 40% (v/v) formamide) 범위로 하여 55 V 에서 12시간 동안 전기영동 하였다. DGGE fingerprint의 유사성은 InfoQuest FP software version 4.50을 이용해 분석하였고 Jaccard coefficient와 Peason coefficient로 표현하였다.

2.3. 오염토양에 서식하는 우점종의 파악 및 종다양성 분석

각 오염토양에서의 우점종을 파악하기위해 Tryptic soy agar plate를 사용하여 우점하고 있는 균주를 분리한 후 유전자서열 분석을 통해 동정하였다. Plate count를 위해 각 시료의 토양 1 g을 9 mL 증류수와 잘 섞은 후 1 mL을 취해 9 mL의 증류수가 들어있는 시험관으로 연속 희석하여 (10⁻⁷ 까지) 각각의 시험관으로부터 0.1 mL씩을 agar plate 도말 한 후 colony 유형별로 숫자를 세어 희석배수를 곱해 원래 토양의 생균수를 종류별로 구했다.⁸⁾ 구별된 유형별 DNA를 추출해 16S rDNA의 염기서열을 27F와 1492R primer를 사용하여 위에 언급된 방법과 같이 분석하여 BLAST Search를 통해 동정하였다. 유전자 서열분석결과 같은 종으로 동정되어지는 경우에는 서로 합쳐서 우점도를 계산하였다. 종다양성은 Shannon Index 값을 아래의 식을 이용하여 산출하였다.⁹⁾

$$H = - \sum_{i=1}^s P_i \ln P_i$$

여기서 H는 Shannon index를 나타내며, P_i는 전체 종수의 각종의 비율을 나타내고 s는 각 시료의 종수를 나타낸다. 값이 클수록 종다양성이 큰 것이다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 오염토양의 특성 및 오염물질별 오염농도

각 오염토양의 물리화학적 특성은 Table 1에 나와 있다. 시료별 TN의 분석결과는 0.01~0.03%로 거의 비슷하였고 OM의 경우는 2.2~18.3 g/kg로 좀 다양하게 나타났는데 3번 시료가 18.3으로 유난히 높게 나타났다. 유효인산(Av. P₂O₅)은 7~62 mg/kg의 범위로 4,5번이 7 mg/kg으로 가장 낮았고 6번 시료가 62 mg/kg으로 가장 높았다. 수분함량은 대부분 14~25%의 범위에 속했으나 3번 시료만 7.9%로 매우 낮은 값을 보여주었다. 한편 pH 분석은 1번 시료가 4.3으로 가장 산도가 높았고 2,3,4,5번 시료는 5.7~6.5 정도의 범위로 산성을 나타냈으며 6번 시료는 7.3으로 중성이었고 7번 시료는 8로 알칼리성을 나타내었다.

각 오염현장에서 시료를 채취하여 분석해본 결과 Table 2와 같이 나타났다. 가지역 기준으로 보았을 때 오염수준을 초과한 시료는 6,7번으로 모두 TPH 항목에 국한되었다. TPH 농도가 6번 시료는 9152.963 ppm으로 약 18배였고 7번은 7365.238 ppm으로 약 15배 정도로 둘 다 기준수치를 훨씬 초과한 오염도를 나타내고 있다. 한편 기준 초과는 아

Table 2. Concentration of various contaminants in contaminated soil samples (unit: mg/kg)

Pollutants	Level*	1	2	3	4	5	6	7
Cd	1.5	0.000	0.025	0.050	0.080	0.015	0.040	0.080
Cu	50	0.165	1.400	1.635	0.840	0.425	2.850	2.745
As	6	0.120	0.170	0.495	0.871	0.736	0.686	0.793
Hg	4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.007
Pb	100	0.405	1.860	11.685	3.115	0.885	2.030	1.720
Cr(VI)	4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Zn	300	54.867	56.167	83.433				
Ni	40	7.000	26.333	6.000				
F	400	275.000	159.500	121.000				
Organic Phosphate	10	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Cyanide	2	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
Phenol	4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
B.T.E.X	-	0.000	0.000	1.762	0.000	0.000	0.000	5.263
TPH	500	0.000	0.000	284.067	0.000	0.000	9152.963	7365.238
TCE	8	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
PCE	4	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

*Potential levels in residential and agricultural areas

니지만 3번 시료는 284 ppm 정도의 오염도를 나타냈고 나머지 시료는 전혀 오염정도가 검출이 되지 않았다. 기타 항목에 대해서 1,2,3번 시료는 아연, 니켈, 불소로 어느 정도 오염이 되어 있었으며 4,5,6,7번 시료는 기타 중금속으로 미약하게 오염되어 있었다. 유류 중 난분해성 단일고리 방향족에 속하는 BTEX는 3번과 7번에서 각각 1,762와 5,263 ppm으로 약하게 오염되어 있었다. 알칼리성 토양은 유류분해 미생물의 활성에 저해를 받아서 오염농도의 빠른 저감 없이 높은 농도를 유지한 것 같다.¹⁰⁾

3.2. DGGE 유사도 분석

시료간의 DGGE band 유형을 비교한 결과 각 band의 위치(우점종의 구성)를 기초로 유사성을 나타내는 Jaccard type(Fig. 1)과 각 band의 위치보다는 각 band의 두께 즉 우점종의 우점도를 기초로 유사성을 나타낸 Pearson type(Fig. 2) 모두에서 비슷하게 grouping 되었다. 두 경우에서 1,2,3 시료가 한 그룹으로 분류되었고 4,5,6의 시료가 또 다른 group으로 나뉘었다. 다른 점이 있다면 7번 시료가 Jaccard type에서는 1-2-3 group에 속했으나 Pearson type에서는 완전히 독립적으로 분류되었다. 두 가지 유사도 분석방법에서 나타난 유사도 값들을 비교해보면 Pearson type이 훨씬 높게 나왔는데 우점하는 종들 간의 우점도가 우

점종들의 존재여부의 일치도보다 더 유사했기 때문일 것이다. 그러나 일반적으로 DGGE 유사도는 Jaccard type 보다 Pearson type에 높게 나오는 경향이 있어 방법의 차이에서 오는 결과 일 수도 있다. 두 가지 type에서의 공통점은 채취된 시료의 지역특성에 따라 묶여져 있었고 TPH 오염도가 확실히 높은 6번 시료는 지역특성에 따라 함께 묶였지만 유사도는 오염 때문에 그런지 4,5번의 유사도 보다 약간 떨어졌다.

Jaccard type(Table 3)에서는 2번 시료와 3번 시료가 42.9%의 유사도로 값 자체는 낮은 편이지만 비교된 시료 중에서 가장 높게 나타났고 그 다음은 1,3번 시료 간(40.0%) 그리고 세 번째는 38.1%로 4,5번간의 유사도였다. 한편 가장 낮은 유사도를 보인 것은 6번과 2번 그리고 6번과 3번의

Table 3. Similarity analysis by using DGGE band patterns (Jaccard type)

Sample	1	2	3	4	5	6	7
1	100						
2	26.7	100					
3	40.0	42.9	100				
4	9.1	4.5	17.4	100			
5	4.2	4.4	28.6	38.1	100		
6	11.1	0.0	0.0	33.3	33.3	100	
7	5.3	5.9	10.0	4.5	14.3	18.8	100

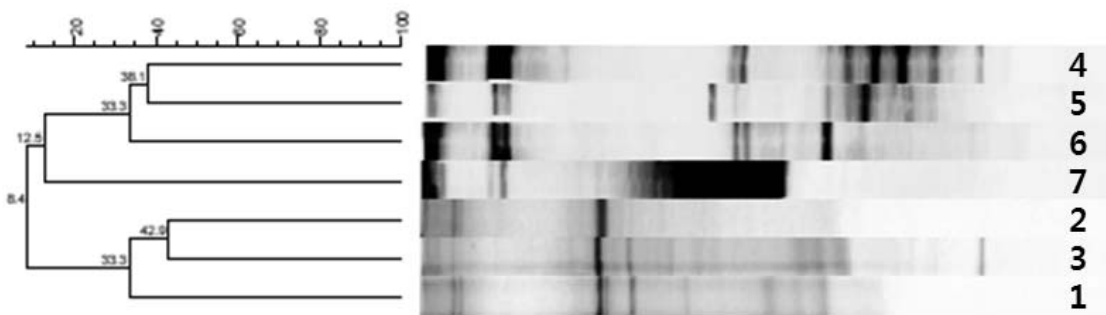


Fig. 1. Genetic similarity of microbial community profiles based on DGGE band patterns (Jaccard type).

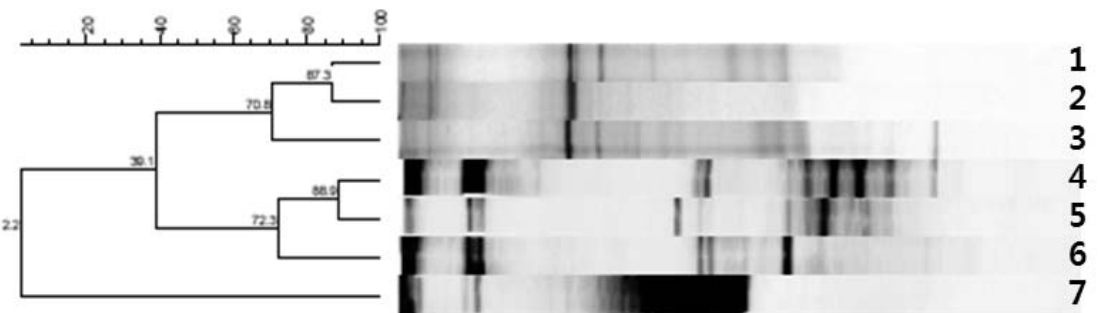


Fig. 2. Genetic similarity of microbial community profiles based on DGGE band patterns (Pearson type).

Table 4. Similarity analysis by using DGGE band patterns (Pearson type)

Sample	1	2	3	4	5	6	7
1	100						
2	87.3	100					
3	71.9	69.6	100				
4	35.9	31.7	37.9	100			
5	41.7	34.6	43.2	88.9	100		
6	44.8	38.9	43.2	71.0	73.6	100	
7	4.2	1.0	0.0	0.0	0.0	8.0	100

로 둘 다 0.0%를 보였다. 이는 다른 지역특성 뿐만 아니라 높은 TPH 오염도 때문에 유사도가 매우 낮게 나타난 것으로 사료된다. Pearson type 유사도 분석(Table 4)에서는

Jaccard type과는 달리 4번과 5번 시료 간에 88.9%로 가장 높게 나타났고, 그 다음은 1번과 2번 시료 간에 87.3%로 나타났다. 4번과 5번이 높게 나타난 이유는 지역특성도 있겠지만 토양의 물리화학적 특성 및 오염의 특성이 가장 유사하기 때문인 것으로 보여 진다(Table 1과 Table 2). 유사도가 가장 낮은 것은 7번 시료와 비교한 3번, 4번, 5번과의 유사도가 모두 0.0%를 보여 주었고 다른 시료와의 비교에서도 10% 이하의 낮은 유사도를 보임으로 7번 시료의 미생물 군집구조가 특이적으로 다르다는 것을 보여준다. 이것은 시료 채취지역의 차이점도 있겠지만 TPH 오염농도가 상당히 높고 또한 미생물 독성이 높은 BTEX가 가장 높으며 pH 또한 유일하게 알칼리성을 나타낸다. 그나마 유사하게 TPH 오염

Table 5. Identification, relative distribution and species diversity

Sample	Genus & Species	Group	Relative Distribution(%)	Diversity (H')
1	<i>Geobacillus</i> sp.	firmicutes	0.5	0.86
	<i>Arthrobacter chlorophenolicus</i>	high GC Gram+	79.0	
	<i>Gordonia bronchialis</i>	high GC Gram+	3.8	
	<i>Bacillus amylobifaciens</i>	firmicutes	2.7	
	<i>Bacillus</i> sp. SG-1	firmicutes	1.0	
	<i>Bacillus</i> sp. NRRL	firmicutes	9.7	
	<i>Rhodococcus opacus</i>	high GC Gram+	0.5	
	<i>Bacillus</i> sp. B	firmicutes	0.5	
	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	γ -proteobacteria	1.0	
	<i>Bacillus licheniformis</i>	firmicutes	0.5	
<i>Tsukamurella paurometabola</i>	high GC Gram+	0.5		
2	<i>Arthrobacter</i> sp.	high GC Gram+	63.0	0.66
	<i>Methylobacterium radiotolerans</i>	high GC Gram+	37.0	
3	<i>Bacillus subtilis</i>	firmicutes	1.6	1.30
	<i>Bacillus licheniformis</i>	firmicutes	0.8	
	<i>Bacillus cereus</i>	firmicutes	12.5	
	<i>Paenibacillus</i> sp.	firmicutes	1.6	
	<i>Arthrobacter chlorophenolicus</i>	high GC Gram+	29.0	
	<i>Bacillus pumilus</i>	firmicutes	3.9	
	<i>Leitsonia xyli</i>	high GC Gram+	50.0	
<i>Bacillus thuringiensis</i>	firmicutes	0.8		
4	<i>Arthrobacter chlorophenolicus</i>	high GC Gram+	100	0.00
5	<i>Bacillus cereus</i>	firmicutes	100	0.00
6	<i>Arthrobacter chlorophenolicus</i>	high GC Gram+	33.4	0.98
	<i>Bacillus cereus</i>	firmicutes	7.7	
	<i>Leitsonia xyli</i>	high GC Gram+	56.4	
	<i>Methylobacterium populi</i>	high GC Gram+	2.6	
7	<i>Bacillus pseudomycolides</i>	firmicutes	6.7	1.43
	<i>Bacillus</i> sp. NRRL	firmicutes	26.8	
	<i>Clavibacter michiganensis</i>	high GC Gram+	6.7	
	<i>Streptomyces coelicolor</i>	high GC Gram+	46.7	
	<i>Leitsonia xyli</i>	high GC Gram+	6.7	
	<i>Nocardia farcinica</i>	high GC Gram+	6.7	

도가 높은 6번 시료와 Jaccard type에서는 18.8% 그리고 Pearson type에서는 8.0%로 가장 높게 나타나서 오염특성에 의해 약간의 유사도 값이 높아진 것 같다.

3.3. 우점종의 파악 및 종다양성 분석

시료마다 우점하고 있는 종의 수도 달랐고 동정된 세균 종들도 모두 달랐는데 대부분 high GC Gram+와 firmicutes 군에 속하는 종들이었고 1번 시료에서 γ -proteobacteria군에 속하는 *Pseudomonas stutzeri*가 유일한 것이었다(Table 5). 한편, 속 수준에서 *Arthrobacter chlorophenolicus*(1, 3, 4, 6번 시료) 와 *Arthrobacter* sp.(2번 시료)가 5, 7번 시료만 제외하고 대부분에서 매우 우점(높은 상대적 분포)하고 있음을 알 수 있었다(Table 5). 이는 일반 토양에서 *Arthrobacter*가 총 plate count의 개체수 중 40% 정도 차지한다는 일반적인 평가와 상당히 일치하는 결과임을 알 수 있고¹¹⁾ 오염수준이 낮아서 그런지 오염에 특징을 보여주지는 못한 것 같다. 그 다음으로 높은 상대적 분포를 나타내는 것은 *Bacillus* 속에 속하는 종들로 2, 4번 시료만 제외하고 대부분 시료에서 우점하고 있었고 가장 다양한 종이 동정되었다. 일반 토양에서 *Streptomyces*, *Pseudomonas* 그리고 *Bacillus*가 plate count에서 5~20% 정도의 개체수를 나타내는 것과 일치하지만¹¹⁾ *Pseudomonas*는 모든 시료에서 낮거나 확인하기 힘들었고 *Streptomyces*는 7번 시료에서는 가장 우점했지만 다른 시료에서는 역시 분포조차 확인되지 않았다.

6, 7번 시료는 TPH 분석을 통해 유류로 심하게 오염된 토양임이 밝혀졌는데 *Arthrobacter*,^{12,13)} *Nocardia*,^{12,13)} *Bacillus*,^{13~16)} *Strptomyces*,^{15,16)} *Methylobacterium*¹⁵⁾ 그리고 *Clavibacter*^{13,17)} 등 대부분이 유류분해 또는 유류오염 시료에서 분리된 속들로 보고되었다. 하지만 두 시료에서 발견된 *Leifsonia xyli*는 토양에서 분리되지만 유류오염과 관련되었다는 보고가 현재까지 없고 사탕수수의 래툰위축병(ratoon stunting disease)을 일으키는 세균으로 잘 알려져 있다.¹⁸⁾ 유류오염이 가장 심한 6번 시료에서 가장 우점도가 높은 것으로 봐서는 유류오염에 적응한 변종이거나 그 동안 밝혀지지 않았던지 둘 중에 하나일 가능성이 크다.

한편 종다양성(Shannon Index)은 종수가 가장 많은 1번 시료보다는 종수는 적지만 우점도의 격차가 적은 7번 시료에서 가장 크게 나타났다. 이는 유류오염, 특히 독성이 강한 편인 BTEX에 의한 특정종의 지나친 우점도가 어느 정도 통제되었기 때문인 것으로 사료된다.

4. 결론

각종 오염물질로 오염이 되었을 것으로 추정되는 토양 시료를 채취하여 주요 오염물질의 오염도를 측정하고 미생물 군집구조의 비교 및 각 시료에 서식하는 우점토양세균을 파악하였다.

1. 우점종의 구성의 유사성을 비교하는 Jaccard type의 DGGE 밴드 유형의 비교에서 42.9%의 유사도로 가장 높았는데 비슷한 지역특성과 오염의 특징이 많은 차이가 없기 때문인 것으로 판단된다. 한편 가장 낮은 값인 0.0%의 유사도를 보인 두 시료는 다른 지역적 특성뿐만 아니라 유효인산농도 차이와 특히 TPH의 오염도 차이에 기인한 것으로 사료된다.
2. 우점종의 우점도의 차이를 비교하는 Pearson type의 DGGE 밴드 유형의 비교에서 88.9%의 유사도 값이 가장 높았는데 같은 지역성 특성도 있겠지만 토양의 물리화학적 특성 및 오염의 특성이 매우 유사하기 때문인 것으로 사료된다. 또한 가장 낮은 0.0%를 보여준 시료끼리의 차이점은 TPH 오염농도의 차이뿐만 아니라 미생물독성이 높은 BTEX의 농도차이와 pH의 차이 등에 의한 것으로 판단된다.
3. 유류로 심하게 오염된 토양에서 기존에 보고된 유류분해 균인 *Arthrobacter*, *Nocardia*, *Bacillus*, *Strptomyces*, *Methylobacterium*, 그리고 *Clavibacter*에 속하는 종들이 발견되었고 특히 기존에 보고되지 않았던 *Leifsonia xyli*이 새롭게 발견되어 앞으로 유류분해능에 대한 연구가 이루어져야 될 것으로 사료된다.

KSEE

감사의 말

본 연구는 2007학년도 경기대학교 학술연구비(신진연구 과제) 지원에 의하여 수행되었음.

참고문헌

1. Watanabe, K., "Microorganisms relevant to bioremediation," *Curr. Opin. Struct. Biol.*, **12**, 237~241(2001).
2. MacNaughton, S. J., Stephen, J. R., Venosa, A. D., Davis, G.A., Chang, Y. J., and White, D. C., "Microbial population changes during bioremediation of an experimental oil spill,"

- Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, 3566~3574(1999).
3. Röling, W. F., Milner, M. G., Jones, M., Lee, K. Daniel, F., Swannell, R. J. P., and Head, I. M., "Robust hydrocarbon degradation and dynamics of bacterial communities during nutrient-enhanced oil spill bioremediation," *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**, 5537~5548(2002).
 4. 동화기술편집부, "수질오염·폐기물토양오염 공정시험법," 동화 기술, pp. 1~887(2009).
 5. EPA, "Method 3051A: Microwave assisted acid digestion of sediments, sludges, soil, and oils," pp. 1~30(2007a), (www.epa.gov/waste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/3051a.pdf).
 6. EPA, "Method 8015C: Nonhalogenated organics by gas chromatography," pp. 1~36(2007b), (www.epa.gov/waste/hazard/testmethods/sw846/pdfs/8015c.pdf).
 7. Muyzer, G., Brinkhoff, T., Nübel, U., Santegoeds, C., Schäfer, H., and Wawer, C., "Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology," *Mol. Microbiol. Ecol. Manual*, 3.4.4, pp. 1~27(1998).
 8. Kim, J., Min, K. A., Cho, K. S., and Lee, I. S., "Enhanced bioremediation and modified bacterial community structure by barnyard grass in diesel-contaminated soil," *Environ. Eng. Res.*, **12**, 37~45(2007).
 9. Kim, J., Koo, S. Y., Kim, J. Y., Lee, E. H., Lee, S. D., Ko, K. S., Ko, D.C., and Cho, K. S., "Influence of acid mine drainage on microbial communities in stream and groundwater samples at Guryong Mine, South Korea," *Environ. Geol.*, **58**, 1567~1574(2009).
 10. Betancur-Galvis, L. A., Alvarez-Bernal, D., Ranos-Valdivia, A. C., and Dendooven, L., "Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated saline-alkaline soils of the former Lake Texacoco," *Chemosphere*, **62**, 1749~1760(2006).
 11. Paul, E. A., and Clark, F. E., "Soil microbiology and biochemistry," Academic Press, San Diego, California, USA, p. 54(1989).
 12. Atlas, R. M., "Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective," *Microbiol. Rev.*, **45**, 180~209 (1981).
 13. Dott, W., Feidieker, D., Steiof, M., Becker, P. M., and Kämpfer, P., "Comparison of ex situ and in situ techniques for bioremediation of hydrocarbon-polluted soils," *Int. Biodeterior. Biodegrad.*, **35**, 301~316(1995).
 14. Bento, F. M., Camargo, F. A. O., Okeke, B. C., and Frankenberger, W. T., "Comparative bioremediation of soils contaminated with diesel oil by natural attenuation, biostimulation and bioaugmentation," *Bioresour. Technol.*, **96**, 1049~1055(2005).
 15. Sette, L. D., Simioni, K. C. M., Vasconcellos, S. P., Dussan, L. J., Neto, E. V. S., and Oliveira, V. M., "Analysis of the composition of bacterial communities in oil reservoirs from a southern offshore Brazilian basin," *Antonie Leeuwenhoek*, **91**, 253~ 266(2007).
 16. Van Gestel, K., Mergaert, J., Swings, J., Coosemans, J., and Ryckeboer, J., "Bioremediation of diesel oil-contaminated soil by composting with biowaste," *Environ. Pollut.*, **125**, 361~ 368(2003).
 17. Tesar, M., Reichenauer, T. G., and Sessitsch, A., "Bacterial rhizosphere populations of black poplar and herbal plants to be used for phytoremediation of diesel fuel," *Soil Biol. Biochem.*, **34**, 1883~1892(2002).
 18. Monteiro-Vitorello, C. B., "The genome sequence of the Gram-positive sugarcane pathogen *Leifsonia xyli* subsp. *xyli*," *MPMI*, **17**, 827~836(2004).