

## 식물성장근권 미생물 적용에 의한 Zn 오염 농토양 식물상정화증진기법 적용에 관한 연구

김태성<sup>1</sup> · 최상일<sup>1</sup> · 양재규<sup>2</sup> · 이인숙<sup>3</sup> · 배범한<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>광운대학교 환경공학과, <sup>2</sup>광운대학교 교양학부, <sup>3</sup>이화여자대학교 에코과학부, <sup>4</sup>경원대학교 토목환경공학과

### A Study on the Application of Enhanced Phytoremediation with Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Zn Contaminated Rice Paddy Soil

Tae-Sung Kim<sup>1</sup> · Sang-II Choi<sup>1</sup> · Jae-Kyu Yang<sup>2</sup> · In-Sook Lee<sup>3</sup> · Bumhan Bae<sup>4\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Engineering, Kwangwoon University

<sup>2</sup>Division of General Education, Kwangwoon University

<sup>3</sup>Department of EcoScience, Ewha Womans University

<sup>4</sup>Department of Civil and Environmental Engineering, Kyungwon University

#### ABSTRACT

The contaminated soils near abandoned mine area can threaten human's health and natural ecosystems through multiple pathways. Remediation of contaminated soil using physicochemical technologies are expensive and destructive of soil environments. On the other hand, environmentally friendly approach that maximize biological remediation, that is, phytoremediation, attracts attention as a low carbon green growth technology. This research is a field demonstration study, focused on the enhanced phytoremediation by bioaugmenting PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) that is helpful on the growth of and heavy metal removal by *Echinochloa frumentacea*, at a Zn contaminated paddy soil near SamBo mine at Hwasung, Kyunggi. The results showed that the zinc removal by the plant with PSM (Phosphate Solubilizing Bacteria), a kind of PGPR, was three times higher than that by the control. The results are valuable as it is a result from the field-scale technology demonstration. The results also implies that application of PGPR can enhance heavy metal removal from contaminated soil in full scale phytoremediation using *Echinochloa frumentacea*.

**Key words :** Bioaugmentation, *Echinochloa frumentacea*, Paddy soil, Plant Growth Promoting Rhizobacteria, Phytoremediation, Zn

#### 1. 서 론

최근 기후변화로 인한 저탄소·녹색생장의 중요성이 강조되면서, 토양환경정화공법에도 에너지 투입이 적고 친환경적인 식물상정화공법이 새롭게 부각됨과 동시에 그 처리대상도 확대되는 추세에 있다. 환경오염에 대처하는 방법으로는 오염된 환경매질을 정화하는 복원기술과 오염을 미연에 방지하기 위해 오염원에서 물질의 유출 및 확산을 사전에 예방하는 예방기술이 있다. 식물상정화공법은 복원과 예방이 동시에 가능한 토양처리 및 관리기술

중의 하나이며, 유기물 및 중금속에 적용가능하다. 오염된 토양이나 수계를 복원하기 위해 사용되는 물리화학적 정화 기술은 고비용이며, 환경파괴적인 요소를 가질 뿐 아니라 2차오염물질을 양산한다. 이에 반해 미생물을 이용한 생물학적 복원공법과 식물을 이용한 식물상정화공법은 친환경적 요소를 극대화한 기술이다.

중금속 오염토양정화에 사용되는 식물은 과축적종과 고생체량식물로 크게 대별된다. 과축적종은 비축적종의 100 배 이상의 중금속을 지상부에 축적하는 식물로, 현재 약 400여종, 45속의 식물들이 알려져 있다(Tlustos et al.,

\*Corresponding author : bhbae@kyungwon.ac.kr

원고접수일 : 2009. 9. 11 심사일 : 2009. 9. 22 게재승인일 : 2010. 1. 18

질의 및 토의 : 2010. 8. 31 까지

2006, Lasat, 2000). 대부분의 과축적종은 Ni 축적종이며, 30여종이 Co, Cu 또는 Zn에 대하여, 그리고 몇몇 종이 Mn과 Cd에 대하여 과축적종으로 보고되고 있다. 아직 토양 중금속오염의 주된 원인물질인 Pb의 과축적종은 알려져 있지 않다(Reeves and Baker 1999; Lasat, 2000; Wang et al, 2006). 과축적종은 일반적으로 생체량이 작고 중금속이 많은 특정지역에 군락으로 자생하며 식물의 경작 및 재배특성이 알려지지 않아, 오염지역의 실제처리에 사용된 경우는 매우 드물다(Nevel et al., 2007). 특히, 국내 자생 식물 중에서는 과축적종이 보고된 바 없기 때문에 외래 과축적종을 사용한다면 식물생태계의 교란이 발생할 수 있다. 반면, 고생체량식물은 지상부 중금속의 농도가 낮더라도 정확할 수 있는 지상부 건량이 큰 식물을 일컫는다. 널리 알려진, 담배, 해바라기, 옥수수 등이 해당되며, 국내 자생종이 많다. 자생종들은 우리나라의 기후조건에 적응해 있고, 종자를 쉽게 구할 수 있으며, 외래종의 무분별한 도입으로 인한 식물생태계의 교란을 미연에 방지할 수 있다.

최근 고생체량 식물에 의한 중금속 흡수를 증진하는 방법으로 Plant Growth Promoting Rhizobacteria(PGPR)을 적용하는 방안이 많이 연구되고 있다. PGPR은 식물을 위한 특정한 물질을 생산하고 환경으로부터의 특정 영양원의 섭취를 용이하게 하며 식물체를 질병으로부터 보호하거나 완화하는 역할을 한다(Zhuang et al, 2007). PGPR은 질소고정, phytohormone 생산, 특정 효소 활성화, 항생제 혹은 siderophores와 chelating agents 생산에 의한 병원균 활성감소 등의 방법으로 식물의 성장을 증진하는 것으로 보고되었다.

토양 내에 있는 다양한 미생물 중에서 PGPR로 분류되는 많은 미생물이 속하는 종은 *Pseudomonas*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Rhizobium*, *Erwinia*, *Serratia*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Acinotobacter* 및 *Flabobacterium* 등이다. 이 중에서 PSM(Phosphate Solubilizing Microorganism)은 PGPR의 일종으로, 탄소원을 이용하여 유기산(gluconic acid, malonic acid, acetic acid 등)을 생산한 후 토양 내 불용성 인산염을 용해하여 성장에 사용한다. PSM이 생산하는 유기산은 미생물종 혹은 탄소원에 따라 변화한다. 인이 가용화되는 중요한 기작은 유기산에 의해 이루어진다. 그러한 유기산으로는 glutamic, 2-ketogluconic, lactic, isovaleric, isobutyric, acetic, glycolic, oxalic, malonic, succinic acids 등이 있다(Rodriguez and Fraga, 1999). Kim et al.(1998)은 PSM종인 *Enterobacter agglomerans*를 이용한 실험에서

토양에 미생물 에너지를 직접 공급함으로써 미생물 생체량 및 phosphatase 활성을 높일 수 있다고 보고하였다. Hoberg et al.(2005)은 *Pseudomonas fluorescens* PF-5를 goethite에 흡착시킨 인을 이용하여 배양한 결과, 미생물이 생산해내는 주된 유기산이 citrate인 것으로 보고하였다. 이에 반하여 *Burkholderia capacia* CC-A174는 gluconic acid를 생성하여 TCP(tricalcium phosphate)를 용해시키고 있다. 중요한 점은 미생물이 생산하는 유기산이 인 이외의 다른 금속도 용해시킬 수 있다는 점이다. PGPR인 *Gluconacetobacter diazotrophicus*를 glucose 혹은 sucrose를 탄소원으로 하여 ZnO, ZnCO<sub>3</sub> 및 Zn<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>를 각각 첨가하고 배양한 결과, ZnO의 용해도가 ZnCO<sub>3</sub> 및 Zn<sub>3</sub>(PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>의 용해도보다 높은 것으로 나타났다. 이를 용해하는 유기산을 GC-MS로 분석한 결과, 5-ketogluconic acid와 pentonic acid로 밝혀졌다.(Saravanan et al., 2007).

이상에서와 같이 토양 내 PGPR의 활성이 높으면, 식물의 성장이 촉진되어 식물체 생산량의 증가를 가져올 뿐 아니라, 미생물이 토양내 유기물을 분해하여 분비하는 유기산으로 인해 중금속의 용해가 촉진되며, 이 때 식물상 복원공법에 적용하면 식물이 섭취할 수 있는 중금속 비율이 증가하여 결과적으로 중금속의 제거를 증가시킬 수 있는 가능성이 있다. 토양 중에 존재하는 성분인 식물이 이용할 수 없는 tri-calcium phosphate 또는 hydroxy-apatite와 같은 불용성 인산을 가용화 시켜 주는 토양 미생물인 PSM에 대하여 오랫동안 연구하여 왔다. Song et al. (2001)은 인산이 과다 시비된 경작지 토양에서 분리한 PSM인 *Aeromonas hydrophila* DA33, DA57 및 *Burkholderia sp.*의 인산 가용화가 유기산 생성에 따른 산도의 증가에 의한 것으로 보고하였다.

대부분의 폐광산 인근 토양은 AMD(Acid Mine Drainage)와 광미 등의 영향을 받아 토양의 비옥도가 떨어지고, 영양소가 부족한 경우가 많다. 따라서 식물의 성장을 촉진하는 미생물의 주입으로 토양의 비옥도도 증진시키고 식물의 성장과 중금속 제거가 신속하게 이루어지도록 상승적 효과를 발휘할 것이다(Lasat, 2000).

이에 본 연구에서는 식물성장촉진 근권미생물 (PGPR)의 주입에 의한 근권미생물군의 강화 및 미생물학적 접근 방법을 사용하여 Zn의 제거에 대한 기본 기작을 파악하고 식물상복원의 설계에 필요한 변수들을 산정함으로써 식물상정화기법이 완전기술(Proven Technology)로 정착될 수 있는 기틀을 마련하는 것을 목적으로 하였다. 국내 자생종인 식용피(*Echinochloa crusgalli* var. *frumentacea*)를 휴폐광산 인근 Zn 오염 농토양에 적용하고, 피의 성장을

촉진하기 위해 현장 오염토양에서 분리한 PGPR을 매일 주입하여 인용해(PSM) 근권미생물군을 강화하였다. 수확기에 식물체와 토양을 수집하여 식물생체량, 중금속 농도, 미생물 활성도를 측정하고 다음 EDTA를 적용한 대조군 및 무처리군과 비교하였다.

## 2. 실험재료 및 방법

### 2.1. 부지 선정 및 피 식재

실험부지인 삼보광산은 경기도 화성시 봉담읍 상리 산 104번지에 위치하며 1956년에 등록된 광산으로 주광종은 연, 아연으로 1975년 일처리 400 ton 규모의 선광장 건립과 함께 1991년까지 꾸준히 개발되어진 국내 유수의 연, 아연 광산이다. 대상 현장실증지역은 Fig. 1에서와 같이 361-2번지를 논1(site 1)로 371-8번지를 논 2(site 2)로 정하였다. 현장실증부지로 선정된 농토양은 '2005년 폐광산 오염도 일제조사'에서 중금속으로 오염 확인된 부지로 관할 지자체에서 휴경지로 지정하여 농작물 재배를 하지 않는 부지이다. 최초 현장방문 시 해당부지는 벼 밀단이 아직 남아있었으나, 이후 방문했을 때는 트랙터를 이용하여 뒤엎기를 한 상태이었다.

식물상정화증진공법을 위한 실증실험을 위해 미국 RTDF(Remediation Technologies Development Forum)

에서 제정한 식물상복원 현장조사 Protocol에 의거하여 트랙터 로터리 작업을 통해 부지를 조성하고, 배수로 작업을 실시한 후, 실험지역을 설정하였다. 실험구는 무처리구(Control), PSM처리구 및 EDTA처리구로 구분하여 피를 파종하고, 처리구별 피에 의한 중금속(Zn) 축적 및 제거, PGPR 및 EDTA에 의한 식물상정화 증진효과를 비교하였다. 또한 PSM처리구와 Control의 경계에 지하 30 cm로 플라스틱 패널을 설치하여 두 지역군 간에 물의 이동을 방지하였다.

### 2.2. PGPR 미생물 선정

King B 배지에 오염된 현장 농토양을 접종하여 1차로 약 20여종의 토착미생물을 분리하였다. 분리한 미생물은 인(P)이 제한되는 NBRIP 고체 배지(Nautiyal, 1999)에서 2차로 배양하였다. 유기산을 배출하여 불용성 P(Tricalcium Phosphate,  $Ca_3(PO_4)_2$ )를 용해할 수 있는 미생물 중에서, 동일한 배양일 후 성장이 활발한 3종의 미생물을 선별하였다. 마지막으로 선별된 3종 미생물을 멸균한 500 mL NBRIP 액체배지가 있는 회분식 반응조에 각각 접종하고, 시간 경과에 따른 pH 변화를 측정하였다. 활성이 높은 PSM 미생물은 배출한 유기산 작용으로 동일한 배양조건 하에서 배양액 pH를 가장 낮게 유지할 수 있는 미생물 종이다. 이에 배양액 pH가 가장 낮은 반응조 미생물(PSM No.5)을 최종적으로 선정하였다. 분리한 PSM 미생물은 동정을 위해 한국미생물보존센터(KFCC)에 의뢰하여 생물막지방산(Cell wall fatty acid analysis)분석한 결과 *Enterobacter intermedius*로 판명되었다.

### 2.3. PSM 주입 및 EDTA 처리

식물의 성장기에 생물학적 복합기술이 미치는 영향을 평가하기 위해 파종된 각 식물 섹터에 상기에서 분리한 *E. intermedius* PSM No.5를 실험실에서 NBRIP배지에서 1주일간 배양한 후, 현장토양에 미생물을 주입하였다. 배양시 공기는 0.2  $\mu$ m 공기필터로 멸균하였으며, 폭기량은 9 L/min이었다. 미생물 배양액의 활성은  $24.2 \pm 5.2 \times 10^8$  CFUs/mL, pH는  $4.00 \pm 0.25$ 이었다. 주입방법은 PSM 처리구에 원액 20 L를 물과 5배 희석하여, 1 m<sup>2</sup>당 1 L를 조리개를 이용하여 식물의 하단에 살포하였다. PGPR처리구는 2008년 7월 22일, 8월 12일, 9월 3일 및 18일로 총 4회 주입하였다.

EDTA 처리로 인해 중금속이 지하수로 이동할 우려가 있어, 식물추수 한 달 전부터 EDTA를 2주 간격(2008년 9월 3일 및 18일)으로 토양에 주입하였다. EDTA-3K

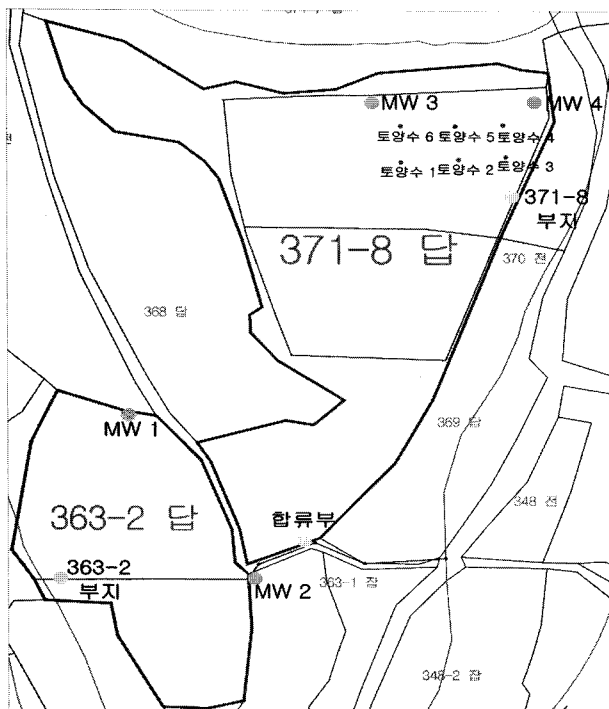


Fig. 1. Map of the experimental site.

(50%-EDTA-Tripotassium) 500 mL을 오염되지 않은 현장 지하수로 1:40으로 희석한 다음, 1 m<sup>2</sup>당 EDTA량으로 0.398 kg씩 처리하였다.

## 2.4. 분석방법

### 2.4.1. 미생물 활성분석법

토양 미생물 활성도는 DHA(DeHydrogenase Activity)로 측정하였으며, INT(2-[4-iodophenyl]-3-[4-nitrophenyl]-5-phenyltetrazolium chloride) 평가방법을 사용하였다. (Trevor et al., 1982) 토양 3g에 0.1% INT 용액 1 mL과 멸균수 1.5 mL을 무균조작으로 첨가하고 37°C에서 24시간 동안 진탕 배양한 후 에탄올로 INT-formazan을 추출하였다. 추출한 INT-formazan은 Spectrophotometer (DR/3000 Spectro-photometer; HACH, Loveland, USA)로 파장 485 nm에서 측정하였다. 검량선은 INT-formazan을 이용하여 작성하였으며, 매회 재작성하였다.

APA(Acid Phosphatase Activity)측정을 위해 채취토양을 풍건 후, 2 mm 체로 거르고, 토양 1g에 4 mL modified universal buffer(MUB, pH 6.5)와 1 mL 0.05 M *p*-nitrophenylphosphate (*p*-NPP)을 혼합한 다음, 37±1°C에서 60 rpm으로 한 시간 동안 배양하였다. 이후 0.5 M CaCl<sub>2</sub> 1 mL과 0.5 M NaOH 4 mL을 주입하고 약 3000 rpm으로 20분 동안 원심분리하고, 상정액을 D.I.W로 10배 희석한 다음 398 nm에서 흡광도를 측정하였다.(Floch et al., 2007) 검량선은 *p*-nitrophenol을 이용하여 작성하였다 (Demanou et al., 2004).

Soil IAA(Indole-3-Acetic Acid)는 생토 2g을 15 mL 원심분리기용 vial에 넣고, glucose(phosphate buffer 100 mL 당 glucose 1 g)가 함유된 10 mM phosphate buffer(pH 7.5) 6 mL과 1% L-Tryptophan 용액 4 mL를 가한 다음, 37°C shaking incubator에서 24시간 배양하고, 5% trichloroacetic acid 2 mL을 첨가한 후 0.5 M CaCl<sub>2</sub> 용액 1 mL을 넣고 혼합하였다. 혼합된 반응조는 3,000 rpm으로 20분 동안 원심분리하고, 상정액 2 mL에 10 mM orthophosphoric acid 0.1 mL과 Salkowski reagent 4 mL을 혼합하여 25분 명반응 후 530 nm에서 흡광도를 측정하였다(Ahmad et al., 2008).

### 2.4.2. 중금속 분석법

토양내 중금속은 토양오염공정시험법에 의하여 분석하였다. 식물체내 중금속 추출 및 분석법은 Back et al. (2005)의 acid digestion 방법으로 분석하였다. 채취한 식물 시료는 3차 증류수로 세 번 이상 세척하고 70°C 건조

기에서 향량이 될 때까지 건조시킨 후 뿌리와 지상부로 나누어 막자사발에서 갈았다. 이 시료 0.1g에 60% HNO<sub>3</sub> 5 mL을 가하여 Microwave(MSD-2000, CEM, NC, USA)에서 분해시킨 후 Whatman filter paper No. 2로 여과하고 3차 증류수로 10 mL까지 맞추어 Flame-AAS로 중금속의 농도를 측정하였다. 중금속 분석법의 신뢰도는 미국의 NIST에서 공인된 표준물질인 SRM 1573a(Tomato leaves)의 분석을 통해 확인하였다.

토양중금속 70°C 건조기에서 향량이 될 때까지 건조시킨 후, 건조 토양 1g에 5가지의 시약을 단계적으로 처리하는 연속추출법(Tessier et al., 1979)의 방법으로 실시하였다. 1단계(F1)는 exchangeable fraction을 추출하는 것으로, pH 7로 맞춘 1 M MgCl<sub>2</sub> 8 mL을 넣고 1시간 혼합한 후 여과하였다. 2단계(F2)는 carbonate bound fraction을 추출하는 것으로, pH 5로 맞춘 1 M NaOAc 8 mL을 넣고 5시간 혼합한 후 여과하였다. 3 단계(F3)는 Fe-Mn oxide bound fraction을 추출하는 것으로, 25% HOAc에 NH<sub>2</sub>OH<sup>+</sup>HCl을 섞어 0.04 M로 만든 용액을 20 mL 넣고 6시간 혼합한 후 여과하였다. 4단계(F4)는 organic matter bound fraction을 추출하는 것으로, 0.02 M HNO<sub>3</sub> 3 mL과 pH 2로 맞춘 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 5 mL을 넣고 85±2°C에서 2시간 혼합한 후 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>(pH 2)를 3 mL 더 넣고 3시간 혼합하였다. 이 용액을 식힌 후 20%(v/v) HNO<sub>3</sub>를 첨가한 3.2M NH<sub>4</sub>OAc을 5 mL 넣은 후 증류수로 20 mL까지 맞추어 30분 혼합한 후 여과하였다. 각 단계가 끝난 후에는 원심분리하여 Whatman filter paper No.2로 여과하고 Flame Atomic Absorption Spectrophotometer (AAnalyst 100, Perkin Elmer, USA)로 중금속의 농도를 측정하였으며, 각 단계 사이에는 증류수 10 mL로 세척하여 오염을 최소화하였다. 5단계(F5)는 안정화, 고정화 되어있는 residual fraction을 추출하는 것으로 본 실험에서는 김 등(2006)이 사용한 왕수분해법을 사용하였다. 시료 0.5 g에 왕수 2.4 mL(35% HCl 1.8 mL + 60% HNO<sub>3</sub> 0.6 mL)를 가하여 hot plate에서 산분해시킨 후 Whatman filter paper No. 2로 여과하고 증류수로 10 mL까지 맞추어 Flame-AAS로 중금속의 농도를 측정하였다. 각 형태별 중금속의 함량을 합한 값을 총중금속(Total) 농도로 나타내었다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 토양 특성 및 처리구별 피의 건량

피를 재배한 논 1 및 논 2 토양은 식양토였으며, 유기

물 함량은 논 1이  $5.5 \pm 0.7\%$ , 논 2는 0~20 cm에서는 6.3%이었으나 토심이 깊어질수록 조금씩 감소하는 경향을 보였다. 토양 CEC는 논 1 및 논 2에서 각각 25.7 meq/100 g, 15.4 meq/100 g로 논 2는 논 1의 약 50%에 해당하였다. 논 1 및 2 토양의 상세한 물리화학적 특성은 Table 1과 같다.

최종 수확기에 논 1에서 지상부 피 길이는 control이 75.7 cm이었고, PSM 처리구에서 114.3 cm로서 1.5배 차이가 났으며, 논 2의 지상부 피 길이는 control이 109.7 cm이었는데 PSM 처리구는 136.3 cm로서 1.2배의 차이를 보였다. 논 2의 EDTA 처리구에서는 지상부 피 길이가 94.7 cm로 control에 비해 유의적인 차이가 없었다. 뿌리는 완전히 채취하지 못해서 길이를 측정할 수 없었다.

피 개체당 부위별 건량은 Table 2와 같다. 논 1에서 PSM 처리구 건량은 줄기 3.1 g, 잎 2.7 g, 이삭 2.7 g였

으며, control구에 비해 줄기에서는 2.6배, 잎에서는 2.3배, 그리고 이삭에서는 2.5배 증가하였다. 뿌리에서도 약 1.8배 증가하였으나, 모든 뿌리를 수확할 수 없었으므로 정확한 비교는 아닌 것으로 사료된다. 논 2에서 PSM처리구 잎 건량이 control에 비하여 1.7배 증가한 반면, EDTA처리구는 EDTA 독성으로 인해 control 구에 비해 오히려 24%나 감소하였다. 이상에서와 같이, 미생물로 처리할 경우 논 1에서는 모든 부위별 식물체건량이 95% 신뢰수준에서 유의적으로 증가하였고 논 2에서는 잎 건량이 유의적으로 증가하여, PSM 처리시에 최종수확 할 수 있는 지상부건량이 증가하는 것이 확인되었다.

3.2. 토양내 미생물 활성도 비교

논 1에서의 토양내 미생물 활성도는 Fig. 2~4에 도식하였다. Fig. 2에서와 같이 DHA는 심도에 따라 감소하는

Table 1. Physico-chemical properties of the site soils

Site	Depth (cm)	OM (%)	CEC (meq/100g)	Zn Concentration (mg/kg)	Soil Texture
Paddy soil No. 1	0~30	$5.5 \pm 0.7$	$25.7 \pm 2.0$	551.9	Silty clay loam clay 38.5%
	0~20	$6.3 \pm 0.3$			
Paddy soil No. 2	20~40	$5.7 \pm 0.2$	$15.4 \pm 3.3$	807.7	Silty clay loam clay(%) $36.3 \pm 1.1$
	40~60	$5.1 \pm 0.2$			

Table 2. Distribution of plant dry-weight in *Echinochloa frumentacea* after harvest

(unit: g)

		Stem	Leaf	Ear	Root
Paddy soil No. 1	Control	$1.2 \pm 0.3$	$1.2 \pm 0.1$	$1.1 \pm 0.2$	$0.5 \pm 0.1$
	PSM	$3.1 \pm 0.5^*$	$2.7 \pm 0.6^*$	$2.7 \pm 0.0^*$	$0.9 \pm 0.1^*$
Paddy soil No. 2	Control	$2.1 \pm 0.6$	$1.5 \pm 0.4$	$2.2 \pm 0.9$	$1.7 \pm 1.4$
	PSM	$3.5 \pm 0.9$	$2.6 \pm 0.5^*$	$3.1 \pm 1.1$	$1.8 \pm 0.2$
	EDTA	$1.6 \pm 0.6$	$1.1 \pm 0.3$	$1.0 \pm 0.5$	$1.1 \pm 0.3$

\*p < 0.05

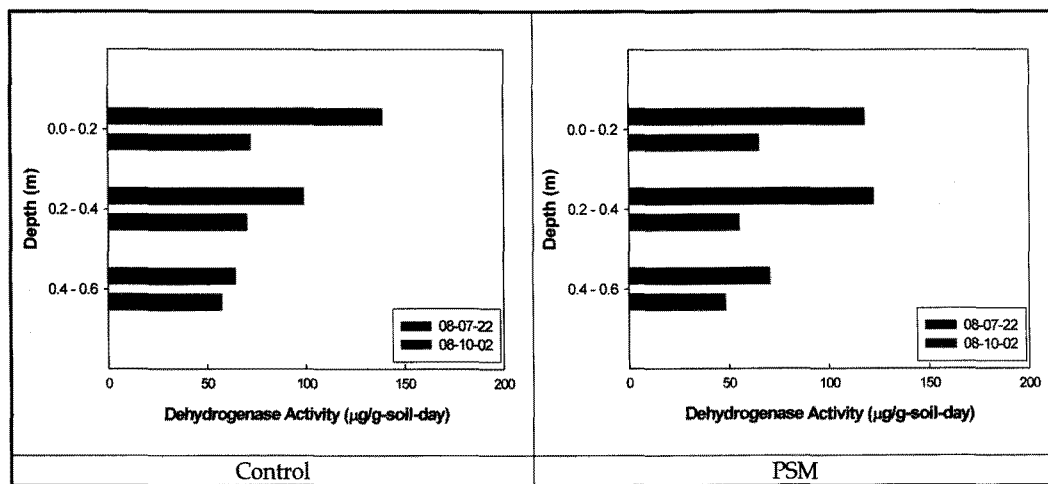


Fig. 2. DHA variation according to soil depth in site 1.

추이를 보이고 있다. 2008년 7월에 식물성장기에는 0~20 cm 표토에서 약 120~140  $\mu\text{g/g-soil-day}$ 로 높은 값을 보인다, 식물성장이 멈춘 10월에는 약 50% 감소한 값을 보이고 있다. 이 결과는 식물성장에 의한 뿌리삼출액이 근권 미생물성장에 영향을 주기 때문으로 판단된다. PSM 처리구와 Control구에서 DHA의 유의적 변화는 없었다. APA는 모든 심도에서 PSM 처리구가 Control구에서 전반적으로 약 1.3배 높은 값을 보이고 있다(Fig. 3). PSM 처리구 표토에서 7월과 10월에 각각 500 및 420  $\mu\text{g/g-soil-hr}$ 이지만 Control에서는 7월과 10월에 각각 440 및 350  $\mu\text{g/g-soil-hr}$ 으로 나타났다. IAA 역시 모든 심도에서 PSM 처리구가 Control에 비해 약 1.2~1.5배 높게 검출되었다(Fig. 4). IAA는 식물성장호르몬으로 농도가 높을수록 식물성장이 증진된다. 그러므로 이 결과는 PSM 처리

구에서 식물생체량이 높게 나타난 결과와 부합하는 것이라 판단된다.

는 2에서의 토양미생물활성도는 Fig. 5~7과 같다. DHA의 경우, 전반적으로 PSM 처리구가 가장 높았으며, 이를 이어 Control 및 EDTA 처리구로 나타났다(Fig. 5). 는 2 표토에서 2008년 5월 이후 DHA가 전반적으로 감소하는 경향을 보이고 있는데 이는 가뭄으로 인해 수분공급이 원활하지 못했던 점을 반영하고 있다. 또한 EDTA 처리구에서 EDTA독성으로 인해 약품처리 후인 7~10월 사이에 DHA 감소가 크게 나타났다. APA 측정결과(Fig. 6)에 의하면 DHA가 가장 높았던 PSM 처리구가 가장 높은 값을 보이고 있고, EDTA 처리구와 Control 구는 서로 큰 차이를 보이지 않았다. 더불어 모든 처리구에서 토심이 깊어질수록 APA가 낮아지는 경향을 보이고 있다.

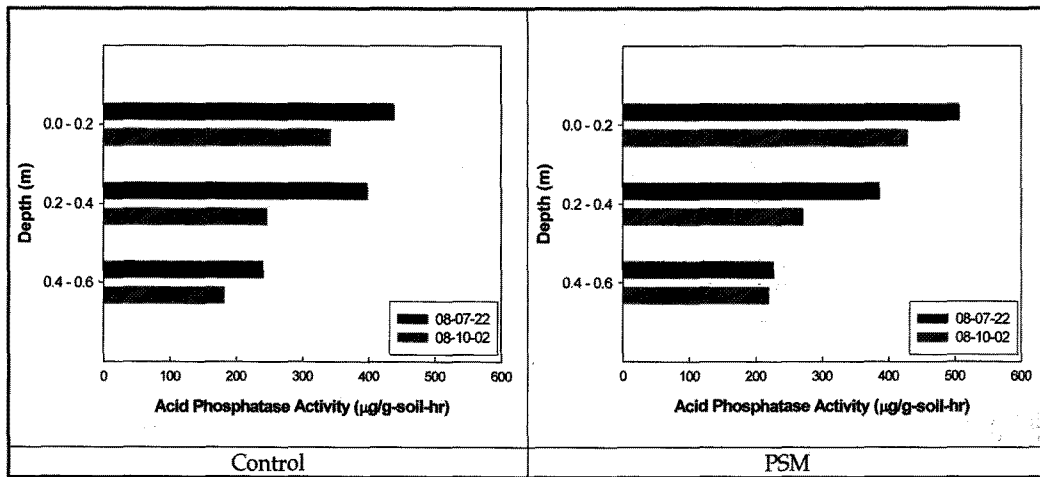


Fig. 3. APA variation according to soil depth in site 1.

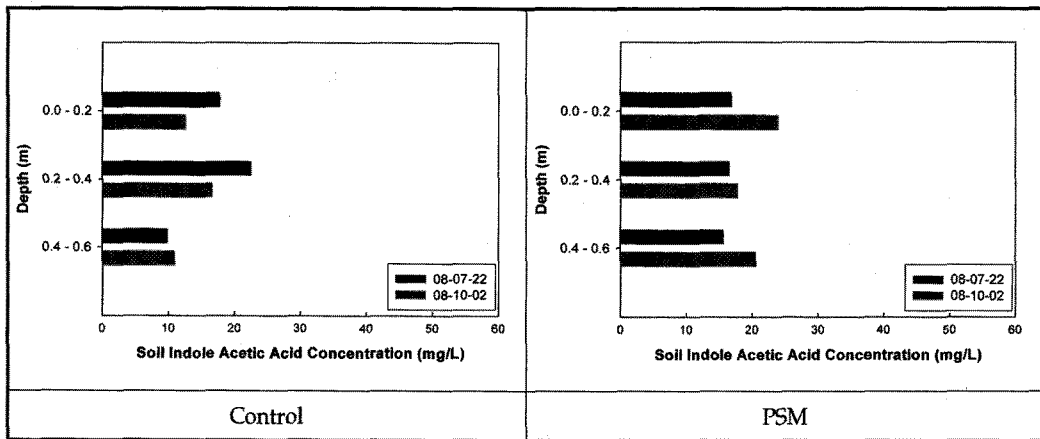


Fig. 4. IAA concentration variation according to soil depth in site 1.

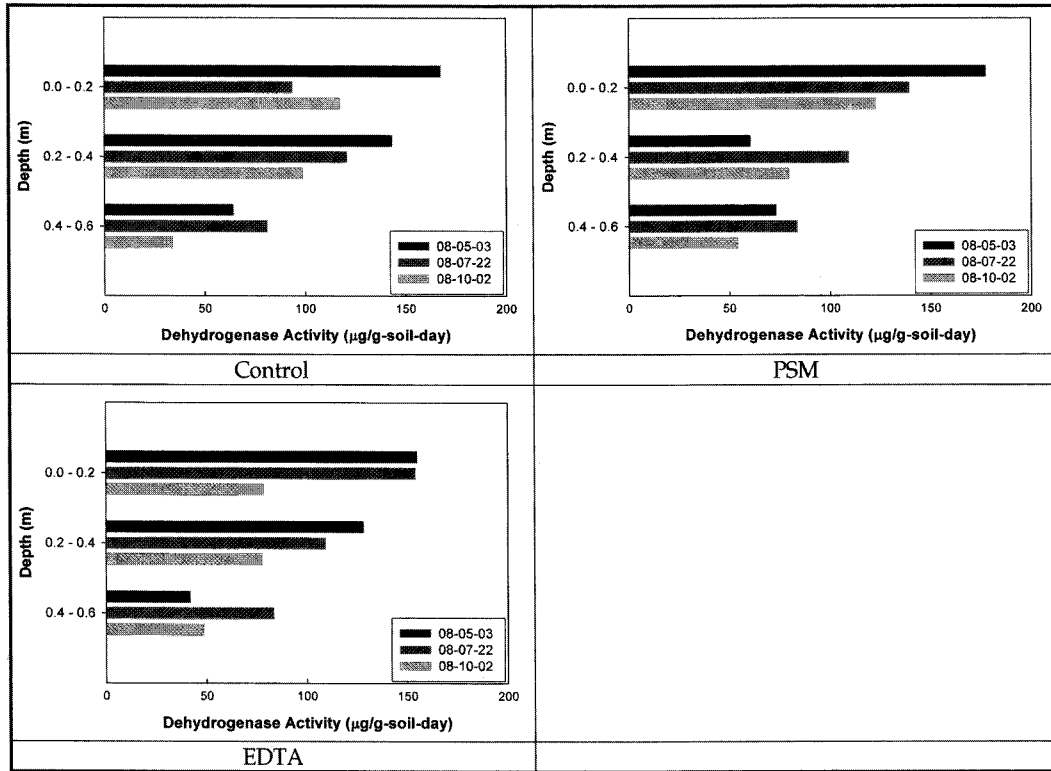


Fig. 5. DHA variation according to soil depth in site 2.

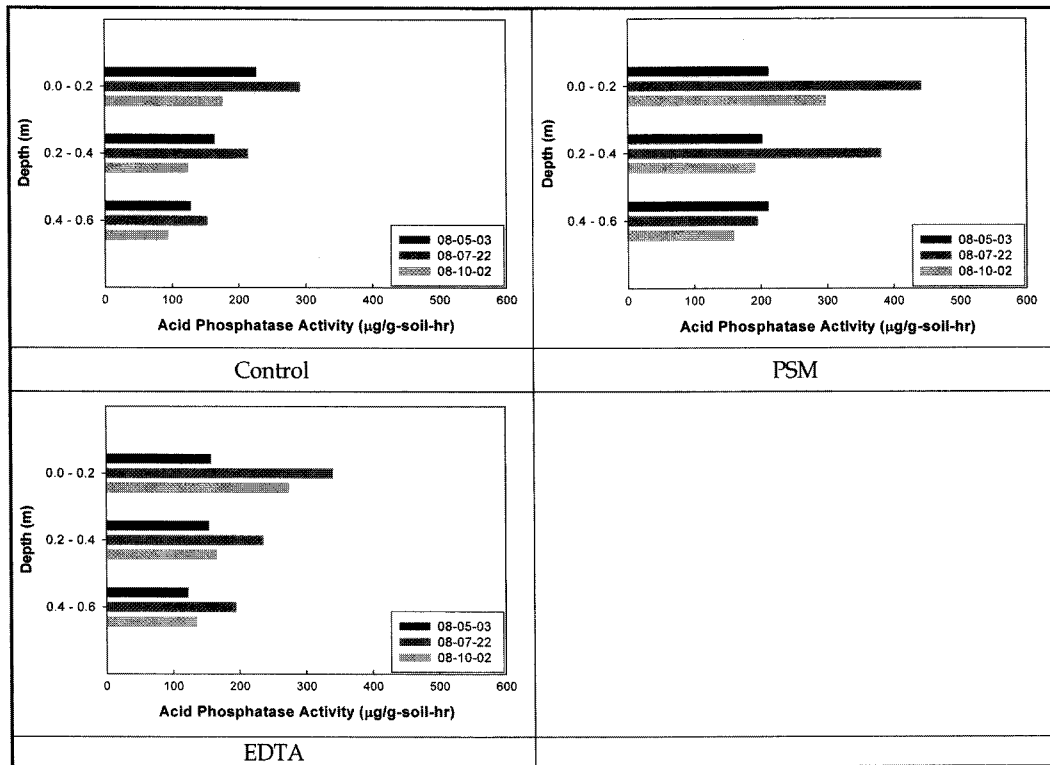


Fig. 6. APA variation according to soil depth in site 2.

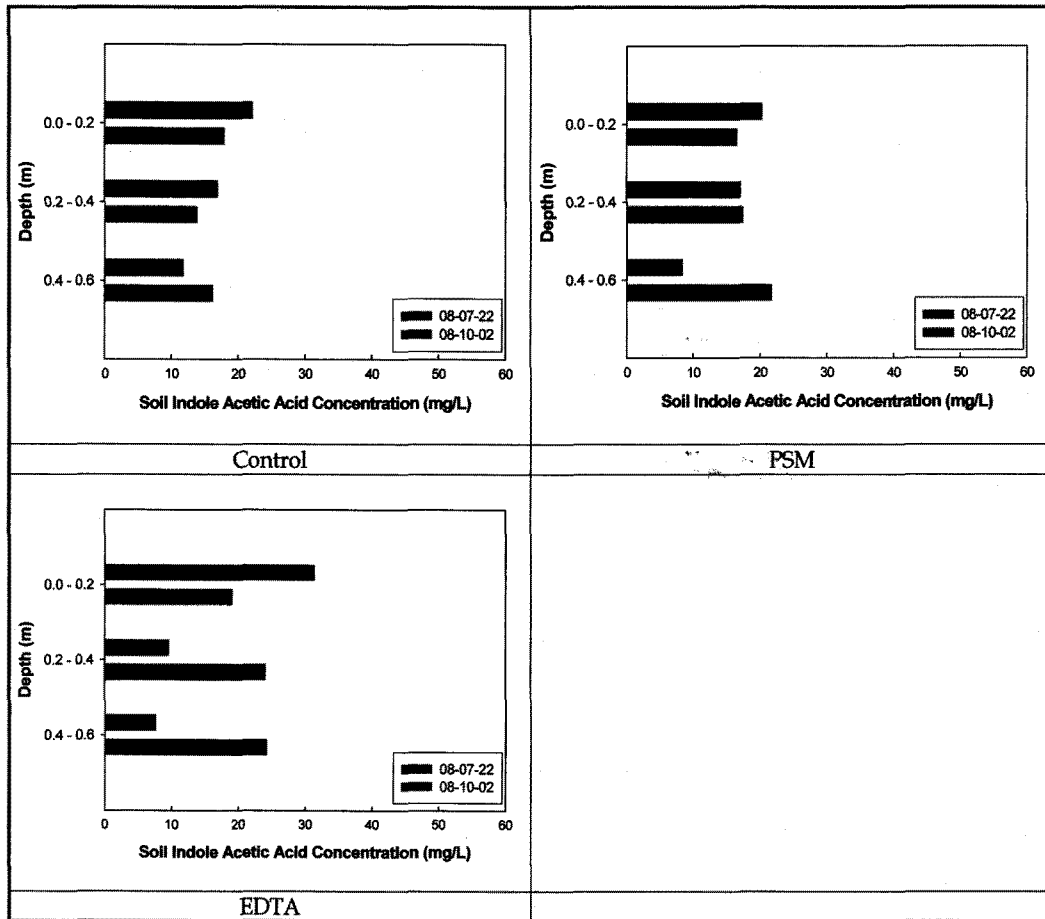


Fig. 7. IAA concentration variation according to soil depth in site 2.

시간적으로는 식물성장이 활발하고, PSM 미생물 주입이 시작되었던 7월 이후에 APA도 높게 검출되었다. 더불어 미생물 주입이 중단되고, 식물성장이 둔화된 10월에도 PSM 처리구에서 APA활성도가 높은 것은 주입한 미생물이 토양내에서 지속적으로 생존하였다는 점을 의미한다. IAA 측정결과는 의외로 EDTA 처리구가 가장 높게 나타났다(Fig. 7), 다음으로 PSM 처리구 및 Control 이었다. 그러나 95% 신뢰수준에서 유의적인 차이는 없었다.

### 3.3. 처리구별 피에 의한 아연제거

논 1과 2 모두에서 처리구 식물체내 아연 농도가 Control에 비해 유의적으로 증가하였는데 이를 도식하면 Fig. 8과 같다. 논 1의 PSM처리구 피내 Zn 농도는 Control에서 보다 뿌리에서는 1,188.8 mg/kg에서 1,530.8 mg/kg으로 1.3배, 줄기에서는 807.3 mg/kg에서 941.7 mg/kg으로 1.2배, 잎에서는 727.8 mg/kg에서 920.4 mg/kg으로 1.3배, 그리고 이삭에서는 65.3 mg/kg에서 115.7 mg/kg으로 1.8배 증가하였다. 논 2의 PSM 처리구에서는 피의

Zn 함량이 Control에서 보다 뿌리에서는 2,697.5 mg/kg에서 3,233.5 mg/kg으로 1.2배, 줄기에서는 797.1 mg/kg에서 1,468.0 mg/kg으로 1.8배, 잎에서는 719.9 mg/kg에서 1,025.6 mg/kg으로 1.4배, 그리고 이삭에서는 168.0 mg/kg에서 299.2 mg/kg으로 1.8배 증가하였다. Control에 비해 PSM 처리시 논 1 및 2에서의 아연 처리량의 증가는 PSM처리에 의한 피의 네 가지 부위의 건량의 증가와도 관련이 있는 것으로 판단된다. 또한 논 2의 EDTA 처리구에서는 control에 비해 뿌리에서는 3,495.2 mg/kg으로 1.3배, 줄기에서는 1,633.4 mg/kg으로 2.0배, 잎에서는 1,004.3 mg/kg으로 1.4배, 그리고 이삭에서는 316.3 mg/kg으로 1.9배 증가하였다.

논 1 및 2의 토양내 Zn을 연속추출법으로 분석한 결과를 Table 3과 4에 각각 나타내었다. 논 1의 경우 PSM 처리구의 F1 부분이 표토(0~20 cm)에서 1.3배 감소하였으나, 그 외의 지점에서는 유의적인 변화가 없었다. 논 2의 토양 아연 농도는, F3 부분에서 약간 높기는 하지만 F1에서 F5까지 비교적 고르게 분포한 편이었다. 7월은



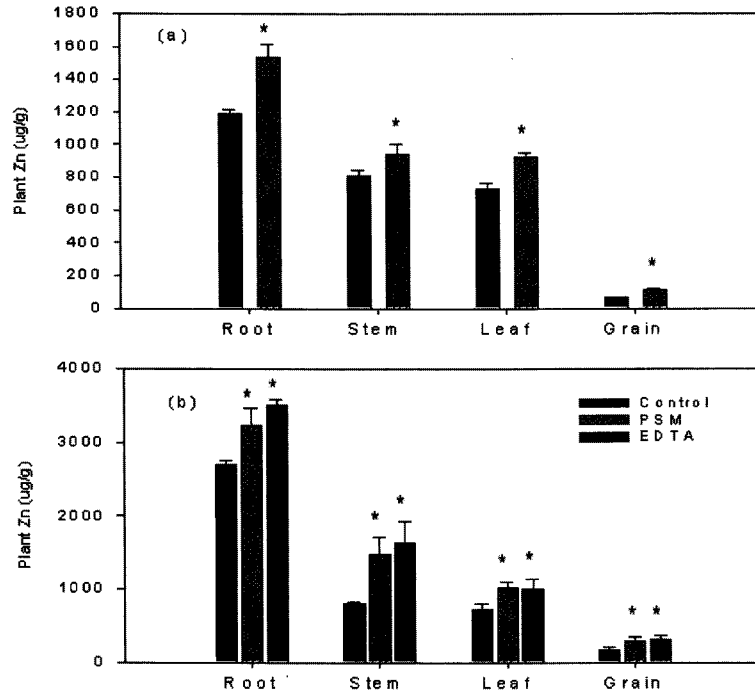


Fig. 8. Zinc concentration in each plant part of *Echinochloa frumentacea*/ at (a) site 1 and (b) site 2.

Table 3. Results of Zn sequential extraction in site 1 soil after harvest of *Echinochloa frumentacea* (unit: mg/kg)

	Depth (cm)	F1	F2	F3	F4	F5
Control	0~20	53.4	23.4	80.8	48.8	100.1
	20~40	48.7	30.1	86.5	43.5	101.9
	40~60	33.9	18.4	58.3	28.8	108.1
PSM	0~20	41.9*	22.9	76.5	49.6	109.3
	20~40	35.3	31.9	73.4	46.6	105.9
	40~60	37.2	20.8	63.2	34.8	98.1

\*p < 0.05

PSM 및 EDTA를 주입하기 직전이라서 파종 전인 5월과 비교시 유의적인 차이가 없었다. 하지만 PSM 주입 후인 10월에는 유의적인 차이가 나타났다. 5월과 비교하여 볼 때 Control 구 F1에서는 1.6배, F2에서는 1.6배가 감소하였고, PSM 처리구의 F1에서는 2.3배, F2에서는 1.6배, F3에서는 1.5배, F4에서는 1.4배가 감소하였으며, EDTA 처리구의 F2에서는 2.5배, F3에서는 1.4배, F4에서는 1.7배가 감소하였다.

논 1의 아연 축적량을 식물의 부위별로 살펴보면 Table 5에 나타난 바와 같이 control과 비교시 PSM 처리구의 줄기에서 3.1배, 잎에서 2.8배, 이삭에서 4.3배, 뿌리에서 2.3배가 각각 증가하였다. 논 2의 아연 축적량은 PSM 처리구의 줄기에서 1.2배 그리고 잎에서 1.1배가 증가하였다.

논 1에서 단 4개월간의 경작에 의하여 단위면적당 피에

의한 중금속의 처리량을 산정해 보면 Table 6과 같다. 피의 건량내 Zn의 평균함량은 Control과 PSM 처리구가 각각 665.11 mg/kg 및 1949.06 mg/kg로 2.93배 이상의 차이가 났다. 이로 말미암아 단위면적(1 m<sup>2</sup>)당 Control에서는 불과 475.6 mg이 제거되었지만, PSM 처리구에서는 약 3배가 넘는 1403.3 mg이 제거되었다.

논 2에서도 유의적인 결과가 산출되었다(Table 6). 논 2에서는 Control에 비하여 PSM 처리구에서 Zn 함량이 뿌리에서 1.2배, 줄기 1.8배, 잎 1.4배, 및 이삭 1.8배 증가하였는데, 평균함량으로 비교하면 Control 1,372.51 mg/kg에 비해 PSM 처리구에서 1,660.94 mg/kg로 1.2배 증가하였다. 또한 EDTA 처리구에서 피의 Zn 함량은 Control에 비해 뿌리 1.3배, 줄기 2.0배, 잎 1.4배, 및 이삭에서 1.9배 증가하였고, 평균함량으로는 비교하면 EDTA

**Table 4.** Results of Zn sequential extraction in site 1 soil before/after harvest of *Echinochloa frumentacea* (unit: mg/kg)

Month		Depth (cm)	F1	F2	F3	F4	F5	
May (before sowing)	Control	0~20	259.1	137.2	406.4	111.6	115.8	
		20~40	147.3	132.7	362.8	102.8	107.6	
		40~60	120.0	80.0	191.0	81.8	96.0	
	PSM	0~20	258.1	129.5	453.5	121.3	119.2	
		20~40	198.9*	125.4	295.2	95.7	118.7	
		40~60	120.1	85.7	190.5	83.6	101.8	
	EDTA	0~20	223.6	157.3	418.2	137.4	125.3	
		20~40	186.9	134.8	354.4	120.1	119.3	
		40~60	134.6	79.1	181.1	82.0	98.2	
	July	Control	0~20	182.2	122.5	408.1	105.3	114.8
			20~40	131.7	109.4	345.2	139.1	116.3
			40~60	91.5	71.5	176.5	76.1	108.5
PSM		0~20	170.4	112.7	401.3	128.1	113.1	
		20~40	151.5	112.0	277.1	71.3*	105.2	
		40~60	123.6	74.3	193.9	76.1	115.4	
EDTA		0~20	209.1	109.2	386.6	124.1	110.0	
		20~40	162.6	117.3	314.2	124.4	122.0	
		40~60	112.0	83.6	202.9	94.0	110.7	
October		Control	0~20	161.5*	85.5*	359.4	108.5	111.9
			20~40	114.1	90.5*	267.6	125.1	103.4
			40~60	100.6	65.5	165.6	60.7	100.9
	PSM	0~20	112.5*	78.5*	312.1*	87.7*	118.4	
		20~40	130.4*	75.4*	205.8*	95.5	117.3	
		40~60	104.5	55.7*	204.6	91.5	110.9	
	EDTA	0~20	181.9	64.0*	298.4*	80.6*	111.2	
		20~40	154.9	80.8*	230.0*	108.1	122.1	
		40~60	116.3	64.1	164.0	85.1	112.9	

\*p &lt; 0.05 (compared with control)

**Table 5.** The amount of Zinc removal per unit area by *Echinochloa frumentacea* at site 1 soil

		Weight percent of plant part	Zn concentration in plant part (mg/kg)	Total removed Zn (mg/kg)	Dry mass (kg/m <sup>2</sup> )	Zn removal per unit area(mg/m <sup>2</sup> )
Control	Stem	0.35	931.6 ± 228.9	665.1	0.72	475.6
	Leaf	0.35	906.9 ± 47.5			
	Grain	0.30	72.1 ± 15.4			
PSM	Stem	0.36	2,888.8 ± 661.0	1,949.1	0.72	1403.3
	Leaf	0.32	2,533.7 ± 616.3			
	Grain	0.32	307.2 ± 17.0			

처리구 2,669.9 mg/kg로 Control 대비 1.95배 증가하였다. 논 2의 Control 구에서 피 건량내 Zn의 평균함량은 Control(1,372.5 mg/kg) < PSM(1,660.9 mg/kg) < EDTA (2669.9 mg/kg) 처리군으로 나타났는데, 평균함량이 높은 것은 토양 내 Zn의 초기 농도가 약 800~1,000 mg/kg

이었기 때문에 판단된다. 논 2에서의 단위면적(1 m<sup>2</sup>)당 피에 의한 Zn 제거량을 살펴보면 역시 Control 군에서 864.7 mg으로 가장 낮고, 다음으로 PSM 처리군에서 980.0 mg이며, EDTA 처리군에서는 Control에 비하여 1.76배 높은 1521.9 mg이 제거되는 것으로 산정되었다.

**Table 6.** The amount of Zinc removal per unit area by *Echinochloa frumentacea* at site 2 soil

		Weight percent of each part	Zn concentration in each part (mg/kg)	Total removed Zn (mg/kg)	Dry mass (kg/m <sup>2</sup> )	Zn removal per unit area(mg/m <sup>2</sup> )
Control	Stem	0.36	1,689.3 ± 448.7	1,372.5	0.63	864.7
	Leaf	0.26	2,525.8 ± 892.2			
	Grain	0.38	283.3 ± 177.4			
PSM	Stem	0.38	2,078.4 ± 408.6	1,660.9	0.59	980.0
	Leaf	0.28	2,696.2 ± 457.8			
	Grain	0.34	341.8 ± 100.4			
EDTA	Stem	0.43	3,805.3 ± 2187.0	2,669.9	0.57	1,521.9
	Leaf	0.30	3,149.6 ± 1308.5			
	Grain	0.27	328.8 ± 240.1			

#### 4. 결 론

본 연구에서는 Zn으로 오염된 농토양에 현장토양에서 분리한 식물성장증진미생물을 인위적으로 배양하여 주입함으로써, 정화식물로 적용한 식물체(피)에 의한 Zn 흡수 증가를 현장적용중심으로 실험하였다. 그 결과, 오염된 토양 특성 및 Zn 농도가 상이한 두 지역의 농토양에 피를 재배하여 다음과 같은 결론을 얻을 수 있었다.

1) 논 1에서는 피의 단위면적당 수확한 건량이 두 처리구에서 각각 0.72 및 0.72 kg/m<sup>2</sup>로 동일하였으나, 피의 Zn 평균함량이 Control 665.1 mg/kg에 비해 PSM 처리구에서는 1,949.1 mg/m<sup>2</sup>로 2.93배 증가하였다. 이로 인하여 PSM 처리구에서 제거되는 아연 총량은 1,403.3 mg/m<sup>2</sup>로 Control에 비해 2.95배 증가하였다.

2) 논 2에서도 피의 단위면적당 수확건량이 Control구 0.63 kg/m<sup>2</sup>, PSM처리구 0.59 kg/m<sup>2</sup>, EDTA 처리구 0.57 kg/m<sup>2</sup>으로 유의적 차이가 없었다. 그러나 평균함량으로는 Control구 1,372.5 mg/kg에 비해 PSM 처리구에서는 1,660.9 mg/kg로 1.2배 증가하고, EDTA 처리구에서는 2669.9 mg/kg으로 1.95배 증가하였다. PSM 처리구의 1 m<sup>2</sup> 당 제거되는 아연의 총량은 980.0 mg/m<sup>2</sup>이며, EDTA 처리구의 1 m<sup>2</sup>당 제거되는 아연의 총량은 1,521.9 mg/m<sup>2</sup>로 Control에 비해 유의적 증가가 관측되었다.

3) 삼보광산의 아연이 오염된 현장부지에 실증규모로 식물상복원증진공법을 적용한 결과, 피에 의한 아연흡수가 미생물 사용할 경우, Control 구에 비해 약 3배의 효과를 나타내었다.

4) 본 연구의 결과는 실험실에서 실험한 식물상방법이 아닌 현장에서 직접 피를 식재 후 얻어진 결론이어서 그 의의가 크다고 할 수 있다. 향후 대규모 현장에 아연을 포함한 중금속 오염토양을 정화할 때 피를 사용한 식물상

증진방법의 적용 시 본 연구와 같은 방법으로 식물성장증진 미생물을 투여하면 식물 성장에 도움을 주며 중금속 제거에도 큰 효과가 있음을 확인하였다.

#### 사 사

본 연구는 환경부의 “토양지하수복원관리 환경기술교육 혁신지원사업단”과 “유해중금속오염부지정화기술개발연구단”, 한국광해관리공단의 “광해방지기술개발사업”의 연구비 지원, 경원대학교의 일부 연구 지원에 의하여 수행되었습니다.

#### 참 고 문 헌

- Ahmad, F., Ahmad, I., and Khan, M.S., 2008, Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities, *Microbiological Research*, **163**(2), 173-181.
- Baek, K.H., Kim, H.H., Bae, B., Chang, Y.Y., and Lee, I.S., 2005, EDTA-assisted phytoextraction of lead-contaminated soils by *Echinochloa crusgalli* var. *frumentacea*, *J. Environmen. Biol.*, **26**, 151-154.
- Demanou, J., Monkiedje, A., Njine, T., Foto, S.M., Nola, M., Togouet, S.H.Z., and Kemka, N., 2004, Changes in soil chemical properties and microbial activities in response to the fungicide Ridomil gold plus copper, *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **1**, 26-34.
- Floch, C., Alarcon-Gutierrez, E., and Criquet, S., 2007, ABTS assay of phenol oxidase activity in soil, *Journal of Microbiological Methods*, **71**, 319-324.
- Hoberg, E., Marschner, P., and Lieberei, R., 2005, Organic acid exudation and pH changes by *Gordonia* sp. and *Pseudomonas fluorescens* grown with P adsorbed to goethite, *Microbiological Research*, **160**(2), 177-187.

- Kim, K.Y., Jordan, D., and McDonald, A., 1998, *Enterobacter agglomerans*, phosphate solubilizing bacteria and microbial activity in soil: Effect of carbon sources, *Soil Biol. Biochem.*, **30**(8/9), 995-1003.
- Lasat, M.M., 2000, Phytoextraction of metals from contaminated soil: A review of plant/soil/metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues, *Hazardous Substance Research*, **2**, 1-25.
- Nautiyal, C.S., 1999, An efficient microbiological growth medium for screening phosphate solubilizing microorganisms, *FEMS Microbiology Letters* **170**(1), 265-270.
- Nevel, L.V., Mertens, J., Oorts, K., and Verheyen, K., 2007, Phytoextraction of metals from soils: How far from practice?, *Environmental Pollution*, **150**, 34-40.
- Reeves, R.D. and Baker, A.J.M., 2000, Metal-accumulating plants. In: *Phytoremediation of Toxic Metals: Using Plants to Clean Up the Environment*. Eds. by Raskin, I. and Ensley, B.D. John Wiley & Sons Inc., NY, USA, 193-229.
- Rodriguez, H. and Fraga, R., 1999, Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion, *Biotechnology Advances*, **17**, 319-339.
- RTDF, 1999, Phytoremediation Action Team Field Study Protocol.
- Saravanan, V.S., Kalaiarasan, P., Madhaiyan, M., and Thangaraju, M. 2007, Solubilization of insoluble zinc compounds by *Gluconacetobacter diazotrophicus* and the detrimental action of zinc ion ( $Zn^{2+}$ ) and zinc chelates on root knot nematode *Meloidogyne incognita*, *Letters in Applied Microbiology*, **44**(3), 235-241.
- Song, O.R., Lee, S.J., Lee, M.W, Choi, S.L., Chung, S.Y., Lee, Y.G and Choi, Y.L, 2001, Isolation and phosphate-solubilizing characteristics of PSM, *Aeromonas hydrophila* DA33, *J. Life science*, **11**, 69-73
- Tessier, A., Cambell, P.G.C., and Bisson, M., 1979, Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals, *Analytical Chemistry*, **51**, 844-851.
- Tlustoš, P., Pavlikova, D., Szakova, J., Fischerova, Z., and Balik, J., 2006, Exploitation of fast growing trees in metal remediation, In *Phytoremediation Rhizoremediation*, Eds. Martina Mackova, David N. Dowling, and Thomas Macek, 83-102, Springer.
- Trever, J.T., Mayfield, J., and Inniss, W.E., 1982, Measurement of electron transport system(ETS) activity in soil, *Microbiol., Ecol.*, **8**, 163-168.
- Wang, A., Chaney, R., Scott Angle, J., and McIntosh, M., 2006, Using hyperaccumulator plants to phytoextract soil Cd In *Phytoremediation and Rhizoremediation Theoretical Background*, Springer, 9A, 103-114.
- Zaidia., S, Usmania, S., Singha, B.R., and Musarra, J., 2006, Significance of *Bacillus subtilis* strain SJ-101 as a bioinoculant for concurrent plant growth promotion and nickel accumulation in *Brassica juncea*, *Chemosphere*, **64**(6), 991-997.
- Zhuang, X., Chen, J., Shim, H. and Bai, Z., 2007, New advances in plant growth-promoting rhizobacteria for bioremediation, *Environment International*, **33**, 406-413.
- 김성현, 홍선화, 강호정, 류희욱, 이상돈, 조경숙, 이인숙, 2006, 소나무(*Pinus densiflora*) 묘목의 생장에 미치는 납과 CO<sub>2</sub>의 영향, *한국생태학회지*, **29**(6), 559-563.