

## 유전자변형 까마중이 자연생태계 미생물 군집에 미치는 환경영향<sup>1)</sup>

김 용 호<sup>2)</sup>

농업기술실용화재단

### 서 론

토양미생물은 식물과 상호 긴밀한 영향을 주고 받으며 하나의 생태계를 이루고 있다. 식물의 뿌리에 의해 영향을 받는 토양으로 정의되는 근권(Rhizosphere)에서 미생물들은 질소고정과 같은 공생관계를 형성하고, 영양물질의 흐름을 조절하며 유·무기 물질을 전환함으로써 토양 내 오염물질을 해독한다. 근권 미생물 개체군은 식물에 의해 크게 영향을 받고 식물의 성장 또한 마찬가지로이다. 식물 식재 토양의 미생물 군집구조는 식물뿌리에서 배출하는 탄소원의 양과 질에 의해 결정되기 때문에 식재된 식물의 종류와 유전형질에 따라 근권 미생물 군집이 영향을 받는다는 연구결과는 많이 보고되어 있다.

기존에 알려진 토양미생물의 역할 중 하나는 토양 내 수은 정화이다. 수은은 화석연료의 사용, 산업활동 그리고 농약의 사용과 같은 인간의 생산활동 때문에 토양 환경에서 주로 발견된다. 최근 강력한 규제로 수은의 산업적 사용이 감소하고 있지만 여전히 높은 농도의 수은이 환경에 존재하고 있다. 수은은 원소이기 때문에 분해되지 않고 환

경에서 완전히 제거할 수 없다. 수은 정화의 전통적인 방법은 굴삭하여 매몰하거나 화학킬레이트를 첨가하여 고정화시키는 방법이지만 많은 비용이 요구되며 효율적이지도 않다. 생물정화는 중금속이나 유기화합물로 오염된 토양을 미생물이나 식물을 이용하여 정화하는 방법으로 저렴한 비용과 환경 친화적이기 때문에 최근 주목을 받고 있다. 그러나 수은이 토양에 유기화합물과 함께 심하게 오염되었을 때 수은의 높은 독성 때문에 생물정화가 손상될 수 있다(Foster 1987).

동반오염된 토양의 생물학적 정화를 최적화하기 위한 한 가지 방법으로 수은이온(Hg(II))을 보다 무독한 원소수은(Hg(0))으로 전환 할 수 있는 박테리아의 투입을 통한 미생물 컨소시움을 사용할 수 있다. 그러나 미생물이 영향을 미치는 영역이 한정되어 있어 규모가 넓은 지역의 처리를 위해서는 집중 밀도가 높아야 하기 때문에 재정적으로 실행하기 어렵다(Rugh 등, 1998; Heaton 등, 1998). 그리고 미생물에 의한 정화는 오염환경으로부터 수은을 제거하는 것이 아닌 독성이 약한 물질로의 전환과 복합체 형성을 통한 고정화이기 때문에 오염물질은 현장에

1) Natural Environmental Effects of Genetically Modified (GM) *Solanum nigrum* L. for Soil Microorganisms Protection

2) KIM, Yongho, Foundation of Agriculture Technology Commercialization & Transfer, 441-857, Korea;

E-mail: gaegury71@efact.or.kr

남아있는 문제가 존재한다. 보통 수은의 오염은 토양 표층의 넓은 지역으로 번지기 때문에 수은의 생물정화의 대부분은 식물의 근권여과 휘발 전략에 더 중심이 맞추어져 왔다. 식물은 자가영양성이고 뿌리시스템을 가지고 있기 때문에 수은과 같이 지표면에 퍼지는 중금속을 정화하는데 세균보다 더 적합할 수 있다.

그러나 식물은 자연적으로 수은을 무독화시킬 수 없고 수은에 대한 내성도 일반적으로 낮다. 따라서 수은에 대해 미생물의 내성을 부여하는 *mer* 오페론 유전자를 발현하도록 유전적으로 변형된 식물이 개발되었다. 식물 휘발 시스템에서 사용된 두 *mer* 유전자는 *merA*와 *merB* 유전자이다(Heaton 등 1998). *merA*는 이온상태의 수은을 대기 중으로 휘발되는 Hg(O)으로 전환시키는 수은 이온 환원효소를 암호화 하고 *merB* 유전자는 메틸수은을 메탄과 독성이 약한 Hg<sup>2+</sup>로 분해시키는 organomercurial lyase를 암호화한다(최 등 2008). *merA*를 발현하는 형질전환 포플러는 야생형 포플러에 독성을 주는 수은이온농도에 내성을 가지고 수은 이온이 포함된 배지에서는 원소수은을 방출한다(Rugh 등 1998). *merB*를 발현하는 식물은 비변형 식물이 자랄 수 없는 농도의 메틸수은이 포함된 환경에서 발아하고 잘 성장하였다(Bizily 등 1999). 본 연구에서도 식물 정화용 모델식물로서 *merB*를 도입한 수은 저항성 까마중을 개발하여 환경영향평가를 수행하고 있다.

형질전환 식물을 재배할 경우 재배지역의 환경에 미칠 수 있는 영향에 대한 정보와 위해성 평가가 요구된다. 토양생태계의 경우 식물과 토양의 관계에 대한 중요성에도 불구하고 GM 식물에 대한 미생물의 반응에 대해서는 연구가 제한적인 것이 사실이다. 주로 형질전환 식물의 마커 유전자로 쓰이

는 항생제 저항성 유전자의 영향으로 인한 내성 증가와 도입유전자의 수평이동에 대한 잠재적 위해성이 주로 거론되고 있으나 현장에서 과학적인 증거를 확보하기 어려운 것이 현실이다. 유전자 조작 기술로 개발된 식물은 전통적인 육종 개량방법으로 개발된 식물과 비교하여 변형의 목적이 확실하기 때문에 관련된 미생물에게 어떤 제한된 영향을 미칠 가능성이 있다.

토양미생물의 군집 다양성을 분석하기 위한 방법으로는 과거에는 배양방법이 주로 이용되었지만 현대 분자 분류 및 동정 방법에 의하면 16S rRNA 및 DNA-DNA 교잡(hybridization) 방법 및 기타 가능한 유전적 정보를 최대한 이용하여 종(species)을 정의한다. 순수배양법은 다양한 선택배지에서 생존하여 콜로니를 형성하는 미생물을 분리하여 동정하는 방법으로 미생물의 유전자 연구를 위해서 순수 분리와 배양이 가능해야 하기 때문에 아직도 널리 사용되고 있다. 그러나 순수배양법으로 분리한 수 있는 미생물의 종류가 아주 제한적이기 때문에 토양 시료에서 직접 미생물의 활성을 측정하거나 유전자를 분석하는 방법이 주로 사용되고 있다. 토양 시료에서 지질층(lipid)을 추출하여 FAME(Fatty Acid Methyl Ester)의 분석을 통해 미생물 군집의 지방산의 변화를 보는 방법, 탄소원 이용도를 이용한 CLPP(Community-Level Physiological Profiling), DNA 분석을 통한 군집분석으로 16s RNA-DNA 분석방법인 DGGE, T-RFLP 방법 등이 대표적이다(Ramsey 등 2006). 보다 구체적인 토양 미생물의 변화를 보기 위해 최근에는 토양의 메타게놈을 분석하는 방법도 있지만 아직까지는 널리 적용되지 못하고 있다(김 등 2009).

본 연구에서는 대표적인 토양 오염 중금속 중 하나인 수은을 정화하기 위해 개발된 GM 까마중이 재배토양의 미생물 생태계에

미치는 영향을 조사하였다. 온실의 혼합 토양에서 재배한 야생형 까마중과 GM 까마중의 미생물 군집변화를 평판희석법으로 조사하였다. 난배양 토양미생물의 군집분석을 위해 16S RNA 암호화 DNA의 염기서열 분석 방법을 이용하여 종분류를 하였다. 그리고 수은에 단시간 노출된 토양의 미생물 군집 구조를 알아보기 위해 야생형 까마중과 GM 까마중을 식재한 토양에 메틸수은을 처리한 후 16S rDNA 염기서열 분석을 수행하였다.

### 토양시료채취

토양 채취는 오차를 줄이기 위해 소독한 시료채취도구를 사용하였다. 토양 시료는 두 종류로 준비되었다. 평판희석법을 위한 토양 시료로 상토와 일반 토양을 1:1로 섞은 토양에 복합비료를 첨가한 온실에 식재한 까마중의 생육 1개월, 2개월, 3개월 후 토양을 채취하였다. 동일한 포장이라도 부위에 따라 비옥도가 균일하지 않을 수 있기 때문에 대표할 수 있는 시료를 채취하기 위해 2-3개 소 토양을 채취하여 한 시료봉투에 담았다. 토양시료는 삽으로 식물체포기 전체를 뿌리 부분 약 15 cm 정도 깊이에서 떠낸 후 폴리에틸렌필름 봉지에 넣고 아이스박스에 담아 실험실로 운반한 후 2 mm체로 걸러 사용하였다. 16S rDNA 분석을 위한 토양시료로는 상토를 사용하였다. 지름 10 cm의 화분에 상토를 넣어 까마중을 재배하였으며 화분 한 개의 토양을 모두 폴리에틸렌필름 봉지에 넣어 균일하게 섞었으며 수분을 제거하기 위해 풍건한 후 4°C 냉장고에 보관하였다.

### 토양미생물 계수

토양미생물 계수는 희석평판법을 사용하였다. 위에서 채취한 풍건 토양 3 g을 27 ml 멸균수에 넣고 10분간 진탕하여 10배 희석액을 만든 후 멸균된 피펫으로 희석액 10 ml

을 취하여 90 ml의 멸균수에 주입한 후 균일하게 섞었다. 이와 같은 조작을 반복하여  $10^{-6}$ 배 희석액을 만들어 토양미생물 선발배지에 200  $\mu$ l를 도말하였다. 이 선발배지를 30°C 항온기에 배양하여 나타나는 콜로니수를 계수하였으며 3개의 배양접시에 나타난 콜로니수의 평균값을 이용하여 생균 수(colony forming unit: cfu  $g^{-1}$ 건토)를 산출하였다.

### 야생형과 GM 까마중 생육 토양 내 메틸수은 처리

종자 발아용 배지에서 발아시킨 야생형과 GM 까마중을 육모판에 옮겨 2-3엽기(약 7일)가 될 때까지 기른다. 두 종류의 까마중을 상토 150 g이 채워진 직경 10 cm 포트에 옮겨 심고 4-5엽기가 될 때까지 생장시켰다. Methylmercury chloride(Sigma, Germany)를 dimethyl sulfoxide(DMSO)와 Ethanol 1:2 혼합용매에 녹여 100 g/l의 stock 용액을 제조하였다. 이 stock 용액을 증류수로 희석하여 40 mg/l의 농도로 제조하였다. 까마중이 식재된 포트에 80 ml의 methylmercury chloride 용액을 처리하였다. 토양 중 methylmercury chloride의 함유량은 21.3  $\mu$ g/g soil 수준이 된다. 수은 처리시 수은이 주변환경에 노출되는 것을 방지하기 위해 식물 생장 포트를 사각 배양 용기에 담아 사용하였다. 수은 처리 3일 후 토양 시료를 채취하여 토양 내 총 DNA를 추출하였다.

### 16S rDNA 염기서열 분석

토양시료의 총 microcosm DNA는 Fast DNAsPINKit(BIO101Systems, XXX)을 사용하여 추출하였다. 추출한 총 DNA를 주형으로 세균 16S rDNA universal primer를 이용하여 16S rDNA를 증폭하였다. 각각의 프라이머는 27F(5'-GAG TTT GAT CMT GGC TCA G -3')와 1492R(5'-GGY TAC CTT

GTT ACG ACT T-3')로 약 1.5 kb 크기의 PCR product를 합성한다. PCR 조성은 10 pmol primer, 2.5 mM dNTP, 10 unit의 Taq DNA polymerase를 사용하였으며 35 cycle 동안 94°C 30초 denaturation 55°C 30초 annealing, 72°C 90초 extension 조건으로 증폭하였다. 증폭한 PCR product는 0.5 ug/ml ethidium bromide로 염색한 1% agarose (Agarose LE) gel에 로딩하여 확인하였다. 각각 세균의 16S rRNA 암호화 유전자를 클론으로 만들기 위해 이 band를 잘라 Gel Extraction kit(Qiagen CA, USA)를 이용하여 정제 분리하였다. 분리한 PCR 산물을 pGEM T-Easy 벡터(Promega, USA)에 클로닝 하였다. X-gal 분석을 통해 흰색 콜로니를 선발한 후 plasmid DNA를 추출하여 16S rDNA 유전자가 삽입된 최종클론을 선발하였다. 선발된 클론을 제한효소 MspAII을 처리하여 band pattern을 확인하였다. pGEM T-Easy 벡터 내에 있는 M13 Forward 염기서열에 특이적인 프라이머를 이용하여 염기서열을 분석하였다. 여기서 얻어진 염기서열 정보는 Chromas Pro프로그램(Technelysium Pty. Ltd)으로 확인하였다.

## 결과 및 고찰

### GM 까마중 재배 토양내 토양미생물 계수 분석

*Staphylococcus*에서 유래한 수는 무독화 유전자 중 하나인 *merB* 도입한 GM 까마중이 토양 미생물상에 미치는 영향을 알아보기 위해 근권 토양의 세균, 방선균, 형광성 *Pseudomonas* 속, *Bacillus* 속 미생물 수를 평판희석법으로 조사하였다. 항생제 첨가 선발 배지에서 선발된 유묘를 상토에서 4일간 적응시킨 뒤 온실에 옮겨 심었다. 토양 식재 후 1달 간격으로 3달 동안 까마중의 생육

시기에 맞춰 토양 미생물을 계수하였다.

1 g의 토양에서 생성되는 콜로니수를 표시하였을 때 그람음성균 수는 야생형과 GM 까마중을 식재한 토양에서 이식 1달 후 각각  $24 \times 10^5$ ,  $28 \times 10^5$ , 이식 2달 후  $47 \times 10^4$ ,  $45 \times 10^4$ , 이식 3달 후  $95 \times 10^4$ ,  $90 \times 10^4$ 으로 시간이 지나면서 세균의 수는 증가하였으나 야생형과 GM 까마중 사이에 관찰된 그람음성균 수에는 차이가 없었다. 포자생성세균인 *Bacillus* 속의 경우 이식 1달 후  $52 \times 10^4$ ,  $60 \times 10^4$ , 이식 2달 후  $16 \times 10^5$ ,  $12 \times 10^5$ , 이식 3달 후  $15 \times 10^5$ ,  $19 \times 10^5$ 로 2달 후 세균의 수가 증가하였으나 야생형 까마중과 GM 까마중 사이에 세균수의 유의한 차이가 없었다. 형광성 *Pseudomonas*는 이식 1달 후  $20 \times 10^3$ ,  $38 \times 10^3$ , 이식 2달 후  $52 \times 10^3$ ,  $23 \times 10^3$ , 이식 3달 후  $42 \times 10^3$ ,  $50 \times 10^3$ 으로 두 식물의 생육기간 동안 세균 수에 큰 변화를 관찰하지 못했다. 방선균은 이식 1달 후  $57 \times 10^4$ ,  $37 \times 10^4$ , 이식 2달 후  $40 \times 10^4$ ,  $55 \times 10^4$ , 이식 3달 후  $11 \times 10^5$ ,  $10 \times 10^5$ 으로 2달에서 3달 사이 방선균의 수가 증가하였으나 식물 사이에서의 차이는 없었다. 사상균류의 균수는 이식 1달 후  $25 \times 10^4$ ,  $25 \times 10^4$ , 이식 2달 후  $33 \times 10^4$ ,  $27 \times 10^4$ , 이식 3달 후  $78 \times 10^4$ ,  $86 \times 10^4$ 으로 역시 야생형과 GM 까마중을 식재한 토양 사이에 유의성 있는 차이는 관찰할 수 없었다.

야생형 까마중과 GM 까마중의 근권 토양내 미생물 수를 조사한 결과를 종합할 때 GM 까마중에 도입한 *merB* 유전자 및 *hpt* 유전자의 발현이 토양 중 주요 미생물의 개체군 수에 특별한 영향을 미치지 않은 것으로 보인다. 생육 시기별로 균수에 차이가 나타나는 것은 각 기간마다 토양 온도, 일조량, 식물의 영양상태, 토양 수분 함유량 등 환경에 따른 근권 미생물 생태계의 변화로 인한 것으로 판단된다.

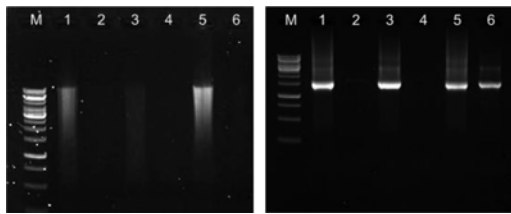
토양생태계에 나타나는 미생물 군집의 다

양성은 미생물 군집의 개체군 상호간 작용과 토양의 물리화학적 요인간의 상호작용에 따라 달라진다고 할 수 있다. 그러나 전통적인 미생물 군집의 분석방법이 샘플의 채취, 균 분리 및 배양에 근거하기 때문에 이들 과정에 따라 개체군수, 군집조성 및 분포가 달라질 수도 있으므로 전통적인 분석결과가 토양생태계 변화를 대변한다고 보기에는 한계가 있다고 할 수 있다(홍 등 1997). 이러한 한계를 보완하기 위하여 DNA를 직접 추출하여 분리한 후 16S rRNA 분석을 수행하였다.

### 16S rDNA 염기서열 분석을 이용한 토양미생물 군집 분석

표준 배양법으로 배양되지 않는 미생물이 전체 미생물의 99%를 차지하기 때문에 (Amann 등 1995; Head 등 1998) 토양에서 직접 DNA를 추출하였다. 추출한 total DNA를 주형으로 세균 16S rDNA universal primer 셋트인 27F와 1492R로 PCR 증폭을 하였다. Fig. 1에서와 같이 예상 크기인 1.5 kb에서 PCR band가 증폭이 된 것을 확인하였다.

증폭된 band에는 다양한 미생물의 16S rDNA가 섞여있기 때문에 band의 DNA를 정

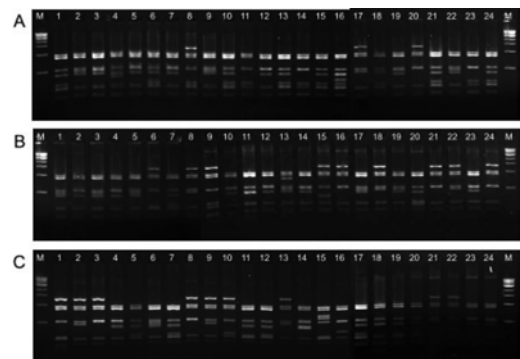


**Fig. 1.** Effect of methylmercury chloride on total DNA extraction (A; Left) and 16S rDNA amplification (B; Right) Lane 1; bed soil, Lane 2; bed soil + MeHg (Methylmercury chloride), Lane 3; wild-type nightshade grown soil, Lane 4; wild-type nightshade grown soil + MeHg, Lane 5; GM nightshade grown soil, Lane 6; GM nightshade grown soil + MeHg.

제하여 pGEM-T easy vector에 클로닝을 하여 각각의 클론을 분리하였다. colony PCR을 이용하여 클로닝된 클론을 토양별로 24개씩 따로 분리한 뒤 plasmid DNA를 추출하여 제한효소 HaeIII와 MspAII으로 자른 후 1.5% 아가로스 겔에서 전기영동으로 band pattern을 확인하였다. HaeIII를 처리한 band pattern을 확인하였을 때 약 4종류의 band pattern을 보였으며 이 결과로는 처리한 클론 각각에 대한 차별성을 관찰할 수 없었다. MspAII을 처리한 band pattern은 Fig. 2에서 보는 바와 같이 다양한 형태로 약 7개의 pattern이 관찰되었다.

식물을 재배하지 않은 토양, 야생형 까마중을 재배한 토양, 그리고 GM 까마중을 재배한 토양에서 분리한 클론을 제한효소로 처리한 band pattern에 있어서 특이한 band pattern의 우세는 보이지 않았다. 임의로 선정한 bacterial 16S rDNA를 restriction enzyme mapping으로 분석할 때 4 cut enzyme으로 HaeIII보다 MspAII이 더 적합한 것으로 보인다.

기술의 발달로 염기서열 분석방법이 용이해지면서 미생물 동정은 16S rRNA 유전자 분석에 크게 의존하게 되었다. 이 16S rDNA



**Fig. 2.** Restriction enzyme MspAII mapping profiles of 16S rDNA clones, (A) bed soil (B) wild-type nightshade growing soil (C) GM nightshade growing soil.

분석에 기반한 세균의 다양성 분석은 배양되지 않는 미생물 군집의 동정을 통해 복잡한 미생물 생태계를 이해할 수 있는 방법을 제공한다. 또한 세균의 경우 많은 균주에 대해 16S rDNA 유전자의 염기서열이 분석되어 데이터화 되어 있기 때문에 이를 비교하면 종 수준의 동정이 가능하다. 보통 16S rDNA의 지문영역의 염기서열 유사도가 97% 이상일 때 동종으로 간주할 수 있다. 3종류의 토양에서 각각 임의로 선별한 24개의 클론에 대한 부분 염기서열을 분석하고 NCBI, RDP의 데이터베이스에 등록된 염기서열과 비교하여 가장 유사한 클론을 동정하였다. NCBI에서 환경시료(environmental sample)로 분류한 클론은 RDP에서 검색하여 계통을 결정하였다.

재배 안한 토양, 야생형 까마중 재배토양, GM 까마중 재배토양에서 분리한 24개 클론의 계통학적 특성을 비교하면 식물을 재배하지 않은 토양에서는 Firmicutes류가 우세하였다. Firmicutes는 대부분 그람양성균으로 구균 또는 간상균의 형태를 지니고 있다. 많은 속의 세균이 포자를 형성하기 때문에 건조에 강해 환경스트레스가 많은 곳에서도 살아남는다. 274개의 속이 보고되고 있는데 본 실험에서 분리된 Firmicutes의 대부분은 Bacillales 목(order)의 Bacillus 속(genus)이었다. 식물을 재배하지 않은 토양에서 미생물의 다양성이 낮은 이유는 실험에 사용한 토양이 원예용 상토로 토성이 균일하고 화분에 옮겨지기 전에 건조한 상태로 보관되어 있어 다양한 미생물이 존재하기 어려운 환경이었기 때문으로 보인다. 또한 수분과 영양물질이 순환되는 자연환경의 토양과 비교하여 온실 환경이 비교적 균일하기 때문에 미생물의 종 다양성이 떨어지는 것으로 보인다. 식물을 재배한 토양은 재배하지 않은 토양에서 분리한 16S rDNA의 염기서열과

비교하였을 때 식물에서 분비하는 다양한 영양물질로 인해 세균 종은 비교적 다양하게 나타났지만 GM 식물을 재배한 토양에서 Actinobacteria가 좀 더 우세했던 점 외에 야생형 까마중과 GM 까마중을 재배한 토양간의 차이는 없었다. 분포율은 다소 변동을 보였으나 특정 세균의 특이한 군집변동은 보이지 않았다.

16S rDNA 유전자 서열을 기반으로 분석하는 방법은 배양 비의존적 방법 중에서도 가장 많이 사용되는 접근방법이다. 그러나 이 방법 또한 유전자의 일부를 통한 방법이며 실험과정에서 여러 변수에 의해 영향을 받을 수 있다. 소수로 분류되는 미생물의 경우 규모가 큰 군집을 형성하는 미생물 때문에 파악되지 않을 수 있다. 또한 이번 실험에서는 24개라는 비교적 적은 수의 클론은 분석하였기 때문에 차이가 나지 않는 것으로 판단 될 수 있다. 그러나 이제까지 보고된 연구 결과를 참고하였을 때 야생형 까마중과 GM 까마중을 재배한 토양 사이에 차이를 관찰하기는 어려울 것으로 판단된다. 본 실험에 사용된 수은정화용 GM 까마중의 경우에도 토양 미생물 군집의 다양성은 식재된 식물의 형질전환 여부가 아닌 식물의 존재여부 또는 식물이 자라고 있는 물리 화학적 환경에 의해 결정되는 것으로 보인다.

#### 수은처리 토양 내 토양미생물의 군집변화

수은을 처리한 토양에서 추출한 DNA를 아가로스 겔에 전기영동하여 EtBr 염색으로 확인하였을 때 DNA 추출 여부를 육안으로 확인할 수 없었다. GM 까마중이 식재된 수은처리 토양에서도 DNA 추출 여부가 육안으로 확인되지 않았다(Fig. 1(A)). 이 DNA를 주형으로 16S rDNA를 PCR 증폭하였다. 수은을 처리하지 않은 모든 토양 DNA에서는 16s rDNA 밴드가 증폭이 되었으며 수은

을 처리한 토양에서는 GM 까마중을 식재한 토양에서만 16s rDNA가 증폭되었다(Fig. 1(B)). 그림에서 보듯이 DNA의 양이 EtBr 염색으로 검출되지 않고 35 cycle의 PCR 반응에서 수은을 처리하지 않은 토양의 16S rDNA 밴드보다 적은 양이 증폭되었다.

위 band를 분리 정제하여 20개의 클론에 대한 염기서열을 분석한 후 NCBI와 RDP database의 염기서열과 비교하여 가장 유사한 세균종을 동정하였다. 20개의 클론 중 19개가 미생물의 16s rDNA을 암호화 하였으며 이중 16개가 *Bacillus*를 주축으로 하는 Firmicutes 류가 우점균으로 나타났다. 3개의 클론은 uncultured bacterium clone으로 environmental samples로 분류되었다. *Bacillus*는 자연계에 널리 존재하며 환경이 열악해지면 타원형의 휴면포자(endospore)를 형성하여 장기간 동안 휴면상태를 유지한다. 수은처리라는 가혹한 환경에서 대부분의 세균이 군집을 형성할 충분한 시간을 갖지 못한 상태였기 때문에 미생물의 수도 매우 적었다. GM 까마중이 토양 내 수은을 충분히 정화하기에 시간이 부족했기 때문에 근권 주변 수은이 일부 정화된 토양에서 제한적으로 환경에 적응한 토양 세균이 검출된 것으로 보인다.

## 참고문헌

- 김정명, 송새미, 전체옥, 2009. 난배양성 미생물의 기능분석 방법. 미생물학회지 45: 1-9.
- 최경화, 김용호, 정현미, 최영임, 노은운, 김현순, 전재홍, 2008. Organomercurial lyase 유전자를 도입한 환경정화용 형질전환 까마중 (*Solanum nigrum*) 선발. 식물생명공학회지 35: 291-298.
- 홍선희, 변명섭, 안태석, 1997. 16S와 23S rDNA에 결합하는 probe를 이용한 겨울철 소양호 세균 군집 구조의 분석. 미생물학회지 33: 257-261.
- Amann, R. I., Ludwig, W. and Schleifer, K. H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiological Reviews. 59: 143-169.
- Bizily, S. P., Rugh, C. L., Summers, A. O. and Meagher, R. B., 1999. Phytoremediation of methylmercury pollution: *merB* expression in *Arabidopsis thaliana* confers resistance to organomercurials. PNAS. USA. 96: 6808-6813.
- Foster, T. J., 1987. The genetics and biochemistry of mercury resistance. Crit. Rev. Microbiol. 62: 2970-2977.
- Head, I. M., Saunders, J. R. and Pickup, R. W., 1998. Microbial evolution, diversity, and ecology: a decade of ribosomal RNA analysis of uncultivated microorganisms. Microbial Ecology. 35: 1-21.
- Heaton, A. C. P., Rugh, C. L., Wang, N. J. and Meagher, R. B., 1998. Phytoremediation of mercury and methylmercury polluted soils using genetically engineered plants. Journal of Soil Contamination. 7: 497-509.
- Ramsey, P. W., Rillg, M. C., Feris, K. P., Holben, W. E. and Gannon, J. E., 2006. Choice of methods for microbial community analysis: PLFA maximizes power compared to CLPP and PCR-based approaches. Pedobiologia. 50: 275-280.
- Rugh, C. L., Senecoff, J. F., Meagher, R. B. and Merkle, S. A., 1998. Development of transgenic yellow poplar for mercury phytoremediation. Nature Biotechnology. 16: 925-928.