

## 생석회 처리가 토양 세균의 생존과 군집구조에 미치는 영향

조 영 군\*

경성대학교 이과대학 생물학과 및 기초과학연구소

## Effects of Quicklime Treatment on Survival of Bacteria and Structure of Bacterial Community in Soil

Young-Gun Zo\*

Department of Biology and Institute for Basic Science, Kyung Sung University

## ABSTRACT

When quicklime is added into soil for various purposes, abrupt changes in soil chemistry may affect essential ecological functions played by indigenous bacterial communities in soil. The magnitude of influence was estimated by observing changes in abundance and diversity of soil bacteria after quicklime treatment. When several soil samples were treated up to 20% (w/w) quicklime, plate count of viable cells ranged  $10^2 \sim 10^3$  CFU  $g^{-1}$ , showing a reduction of more than  $10^4$  times from viable counts of the untreated sample. Diversity of the bacterial isolates that survived after quicklime treatment was analyzed by conducting GTG<sub>5</sub> rep-PCR fingerprinting. There were only two types of fingerprints common to both 5% and 20% quicklime samples, implying that bacteria surviving at different strength of quicklime treatment differed depending on their tolerance to quicklime-treated condition. Isolates surviving the quicklime treatments were further characterized by Gram staining and endospore staining. All isolates were found to be Gram positive bacteria, and 85.4% of them displayed endospores state. In conclusion, most bacteria surviving quicklime treatment appear to be endospores. This finding suggests that most of ecological functions of bacteria in soil are lost with quicklime treatment.

**Key words :** Alkalotolerant bacteria, Endospore, Landfill, Soil pH, Quicklime

## 1. 서 론

농업, 제철, 건설, 수산, 폐수처리 등의 분야에서 다용도 자재로 많이 쓰이고 있는 생석회의 주 성분은 산화칼슘(CaO)이다(한국석회석가공업협동조합, 2006). 물에 용해되면, 생석회가 물과 반응하여 소석회  $Ca(OH)_2$ 가 생성되고, 이어서 이온화되면서 용액이 pH 12 이상의 강 염기성을 띤다. 생석회가 지리적으로 가장 광범위하게 사용되는 용도는 농업 분야인데, 생석회의 염기성화 성질을 이용하여, 산성화 된 농지를 중화시키는 데 생석회를 널리 사용한다. 또한, 축산농가의 방역이나 병원균에 감염된 가축의 매몰 시에도 사용이 되는데, 이는 강 염기성 수용액 형성에 의한 병원체의 생장 저해 효과 뿐만 아니라, 매몰지 내의 생석회가 수분과 반응하여 수산화칼슘( $Ca(OH)_2$ )을 생성할

때 나오는 열이 200°C 이상까지 이르며, 병원체를 죽이는 등의 열소독 작용을 병행하기 때문에 여겨진다(노정엽·이의평, 2011).

토양 1 gram 속에는 수백에서 수백만 종의 미생물이 군집을 이루면서 상호관계를 이루고 살고 있다(Maier et al., 2009; Fierer et al., 2007; 서장선 외, 1998). 토양의 극단적인 염기화는 병원균의 사멸뿐만 아니라 일반적인 토양 세균의 생존에도 영향을 주어, 토양 내 생물다양성에 영향을 주게 된다. 높은 pH 조건에서 세포의 RNA, 단백질과 지질은 변성되는 데, 세포 내부의 pH는 다양한 내성 유전자의 발현으로 어느 정도 중성에 가깝게 유지될 수 있지만, 세포막과 세포벽에 위치한 지질과 효소들은 불가피하게 구조적으로 변성된다(Raven et al., 2010; Sampathkumar et al., 2003; Hall et al., 1995). 세포막

\*Corresponding author : zoyful@gmail.com

원고접수일 : 2012. 1. 27 심사일 : 2012. 2. 17 게재승인일 : 2012. 2. 21  
질의 및 토의 : 2012. 4. 30 까지

의 양성자 농도 구배에 의한 ATP 합성 동력 또한 외부의 높은 염기도에 의해 감소되어, 높은 pH 환경의 세균은 물질대사와 에너지대사를 원활히 하지 못하거나(Madigan et al., 2009), 세포막 지질변성의 정도가 과도하여 세포막이 붕괴되어 사멸하게 된다(Sampathkumar et al., 2003). 토양 세균은 토양 구조의 형성과 질소고정, 탄소고정 등으로 토양에 영양물질을 공급하고, 토양의 유기물질을 분해하고 재순환하는 물질대사과정을 통하여 토양을 비옥하게 만드는 역할을 한다(Maier et al., 2009; 신영오, 1992). 따라서 높은 pH로 인한 토양세균의 사멸은 토양 생태계의 기능이 제대로 작동하지 못하는 결과를 초래한다.

토양 내 세균을 비롯한 생물 종들의 군집이 크고 다양할수록 토양 속 물질 전환과정들이 다양해지고, 토양 생태계는 안정된다(Hartman et al., 2008; Beare et al., 1995). 따라서, 토양의 pH를 높이는 생석회 처리는 토양 생태계에서 세균 군집의 생물지구화학적 기능을 감소시켜, 토양생태계의 안정성을 깨뜨린다고 사료된다. 산성화된 토양의 pH를 높이기 위해 생석회를 사용할 때, 토양 세균의 물질 순환 기능을 잃지 않는 적절한 조건에서 생석회 첨가가 이루어져야 건전한 토양 상태를 회복하는 데 최대 효과를 기할 수 있다. 하지만, 농업 현장에서 생석회 처리를 정량적으로 조절하는 것은 용이하지 않다. 또한, 최근 국내에 조류인플루엔자와 구제역 등의 가축 전염병이 대단위로 발생하여, 생석회가 소독용으로 국토의 넓은 범위에 걸쳐 사용되면서, 축사 및 가축 사체 매몰지 내외와 그 인근에 보관 또는 방치된 사용 후 생석회와 고농도로 환경으로 노출되고 있어서(노정엽 · 이의평, 2011), 생석회 처리량의 인위적 조절이 불가능한 상황들이 초래되고 있다.

본 연구는 생석회 처리시 토양 세균의 생태적 기능에 생길 수 있는 문제점에 대해 정량적으로 이해하려는 목적으로, 생석회가 처리된 후 토양에 생존하는 세균의 수와 종류 및 그들의 다양성의 규모를 파악하였다. 토양에 생석회를 처리했을 때 토양 속의 세균이 얼마나 감소하는지 측정하고, 생존하는 세균의 종류와 특성을 분석하여, 여러 농도의 생석회 처리가 토양 속 세균의 기능에 어떤 크기와 종류의 영향을 미치는가를 알아보았다. 다양한 토양에 생석회를 농도 별로 처리하고, 생존하는 세균 수를 계수하여 그 감소량을 측정하였으며, 세균의 유전체 지문 분석법인 GTG<sub>5</sub>-rep polymerase chain reaction (PCR)법을 사용해 생존하는 세균의 특징을 조사하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 2.1. 시료의 채취 및 생석회 처리

토양은 부산시 황령산의 경성대학교 인근 지점(MH1)과 경상북도 영천시 삼매지구(OT2), 안동시 임고면(OT4), 풍산시(OT5) 등의 구제역 가축사체 매몰지로부터 3~10 m 떨어진 지점에서 10~30 cm 깊이에서 채취한 사질양토 및 점토질 양토였다. 채취한 토양과 생석회 5, 10, 15, 20%(w/w)의 농도로 혼합한 뒤 50 ml 시험관에 넣고 7일 동안 상온 암실에 방치하여, 생석회 처리의 효과가 발생하도록 충분한 시간을 둔 후, 세균군집을 분석하였다. 분석은 3배수의 시료를 대상으로 시행되었다.

### 2.2. 생균수 측정

생석회와 토양의 혼합물 0.3 g을 0.85% NaCl(w/v) 1.2 ml에 넣은 뒤 vortex 교반기에서 5분간 최고 속도로 교반하고, 1분간 방치하였다. 상등액을 0.85% NaCl에 여러 농도로 희석한 뒤, 희석액 1 ml를 배양접시에 넣고 plate count agar(PCA)배지와 혼합하였다. 평판배지를 37°C 36 시간 배양 후, 형성된 집락(colony)을 계수하였다. 임의로 집락 50개를 PCA배지에서 순수분리하여 생균의 특성을 분석하였다.

### 2.3. 그람 및 포자염색

세균 세포벽의 화학적 특성과 세균세포의 모양을 그람 염색법으로 세균을 염색한 후  $\times 1,000$  배율에서 현미경 검경하여 결정하였다(Moyes et al., 2009). 순수분리된 세균의 집락을 슬라이드 글라스에 도말한 후 열고정하고 5% crystal violet 용액을 가한 후 1분간 염색하고 증류수로 세척하였다. 그 후 Gram의 iodine 용액을 가하고 1분간 매염처리 한 후 증류수로 세척하고 95% ethanol을 20초간 가하여 탈색시키고 증류수로 세척하였다. 5% safranin 용액을 가하여 30초간 염색을 한 후 증류수로 세척하고 현미경으로 그람 양성균인지, 그람 음성균인지 관찰하였다.

순수분리된 세균의 내성포자 생성 여부를 알기 위해, Schaeffer-Fulton method에 의한 포자염색을 실시하였다(Mormak and Casida, 1985). 포자염색을 위하여 순수분리된 세균의 colony를 슬라이드 글라스에 도말한 후 열고정하고, 5% malachite green 용액을 가한 후 5분간 끓는 물 위에서 증기를 쐬었다. 그 후 증류수로 세척을 하고 대용염색으로 5% safranin을 가하여 30초간 염색한 후 증류수로 세척하고 현미경으로 포자의 유무를 관찰하였다.

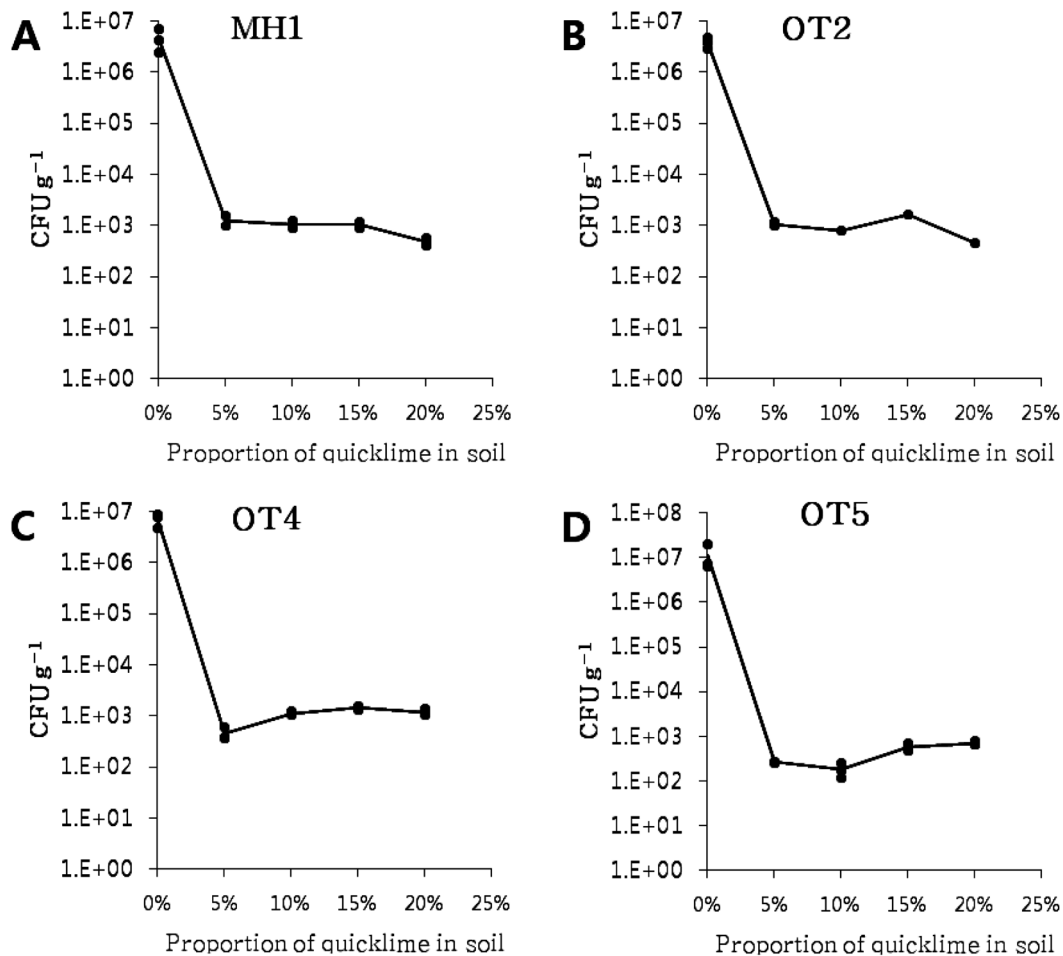
#### 2.4. GTG<sub>5</sub> rep-PCR

분리된 세균들이 동일한 군주, 즉 클론(clone)인지 구분하기 위하여 유전체 지문분석을 실시하였고, 그 방법으로 GTG<sub>5</sub> rep-PCR을 사용하였다. 단순한 염기서열이 반복된 primer를 이용하는 rep-PCR은 세균에서 고등생물까지 다양한 생물체들의 유전체 지문분석에 사용되는데(Epplen et al., 1991), 그 중 GTG<sub>5</sub> primer(5'-GTG GTG GTG GTG GTG-3')는 여러가지 생물 종을 대상으로 높은 분해능을 보여준 primer들 중 가장 대표적이다. 장내 세균종과 수생 세균을 위주로 한 그람 음성 세균종의 클론 일치성분석에서 가장 높은 분해능을 보였을 뿐만 아니라 (Mohapatra and Mazumder, 2008; Mohapatra et al., 2007; Rasschaert et al., 2005), 그람 양성균들에서도 높은 분해능으로 세균 유전체 지문을 생성할 수 있었다 (Samapundo et al., 2011; Coorevits et al., 2008; Švec et al., 2008; Švec et al., 2005; Gevers et al., 2001).

뿐만 아니라, 진균류와 곤충의 유전체 지문을 분석하는 데도 성공적으로 활용되어왔다(Andrade et al., 2006; Benken et al., 1998; Thanos et al., 1996). 본 연구에서는 다양한 토양세균 종에 대하여 클론 일치성을 분석하여야 하므로, 다른 primer 보다 범용성이 높은 GTG<sub>5</sub> primer를 사용하였다.

PCR을 위한 주형 DNA를 alkaline polyethylene glycol (PEG)방법을 이용하여 추출하였다(Chomczynski and Rymaszewski, 2006). Alkaline PEG용액은 PEG 200 (tetraethylene glycol; Sigma, USA) 60 g에 2 M KOH 0.93 ml와 증류수 39 ml를 넣고 섞은 후 pH 13.3-13.5 인지 확인하여 제조하였다. PCR tube에 순수분리한 세균의 집락과 PEG용액 0.1 ml를 넣고 90°C에서 10분간 가열한 후, vortexing 한 뒤, spin down한 후 상등액을 PCR의 주형으로 사용하였다.

GTG<sub>5</sub> rep-PCR은 Chokesajjawatee et al.(2008)의 rep-



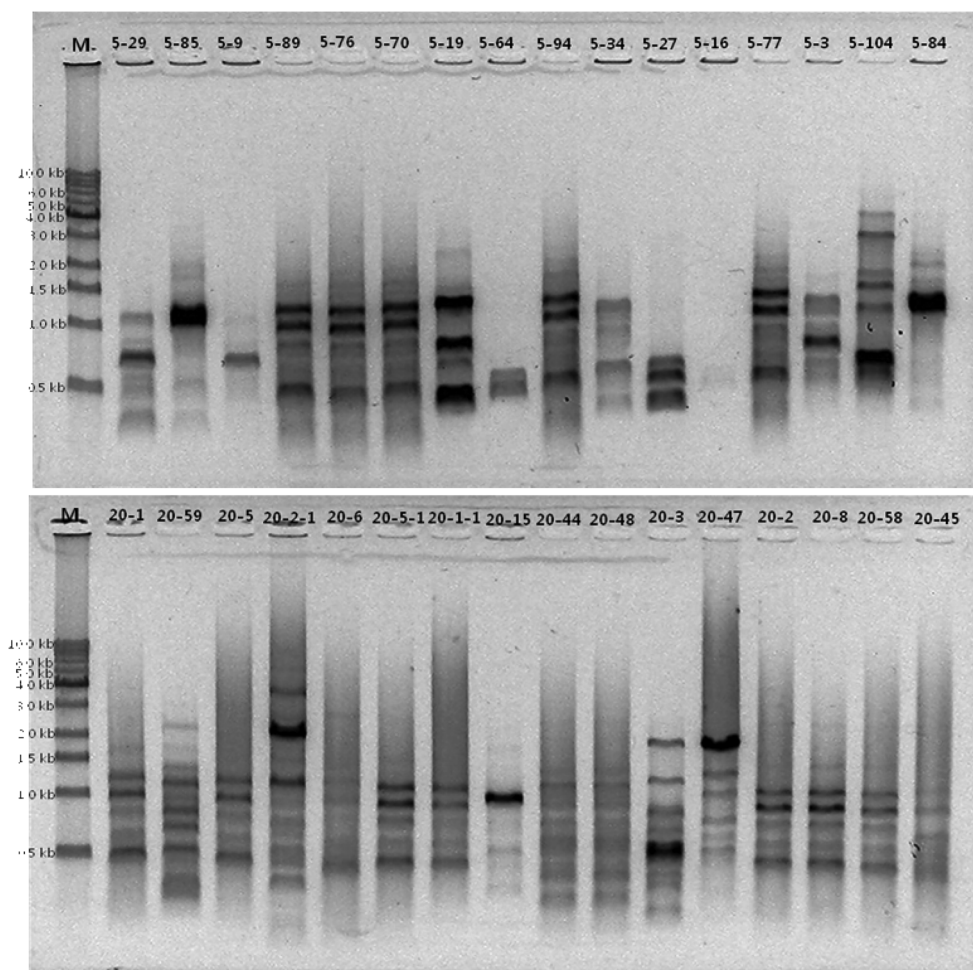
**Fig. 1.** Abundance of viable bacteria in soils treated with quicklime for 7 days (CFU g<sup>-1</sup> = colony forming units per gram of wet soil included in the soil-quicklime mixture).

PCR 조건으로 진행하였다. Dr.Taq DNA polymerase(마 이오알앤디, 한국)를 사용하였고, PCR 반응 용액은, 최종 농도로,  $1 \times$  Dr.Taq buffer,  $200 \mu\text{M}$  dNTP,  $800 \text{ nM}$  GTG5 primer, 1.25 unit Taq DNA polymerase로 만들어 졌고, 주형 DNA로, 총  $25 \mu\text{l}$ 의 반응액 중 alkaline PEG 추출액  $5 \mu\text{l}$ 가 구성되게 처리하였다. 핵산 증폭을 위해  $95^\circ\text{C}$ 에서 5분 동안 변성처리한 후  $94^\circ\text{C}$ 에서 45초,  $52^\circ\text{C}$ 에서 1분  $65^\circ\text{C}$ 에서 10분씩 35회 반복하고  $65^\circ\text{C}$ 에서 20 분간 반응하였다. rep-PCR 증폭 산물은  $0.85\%$  agarose gel에 전기영동하여 증폭여부를 확인하고, 각 시료 별 패턴을 시각적으로 비교하여 밴드의 상동성을 확인하였다.

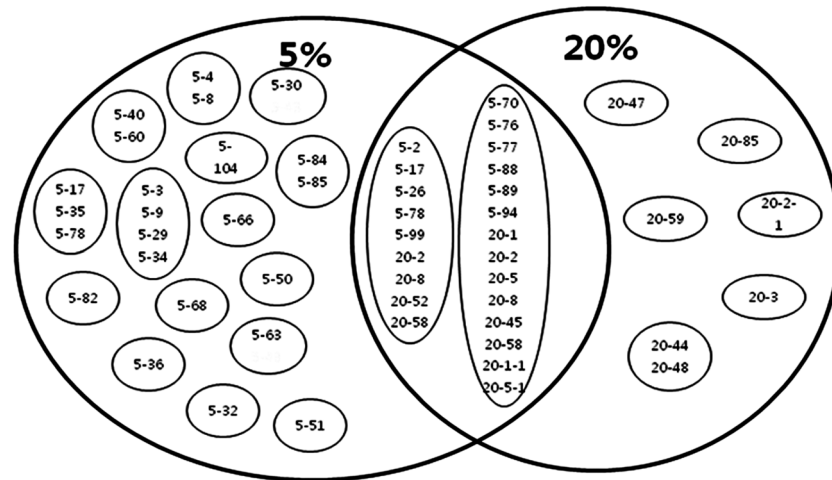
### 3. 결 과

생석회를 처리 하지 않은 토양 속의 생균수는  $10^6 \sim 10^7$  CFU  $\text{g}^{-1}$ 의 범위였으며(Fig. 1), 생석회를 처리한 토양에서

는  $10^2 \sim 10^3$  CFU  $\text{g}^{-1}$ 으로 세균의 수가 10,000배 이상 감소하였다. MH1의 생균수는 5%~15%의 생석회 농도에서 차이가 없었으나(Bonferroni-adjusted *t*-test;  $p \geq 0.13$ ), 20% 농도에서 다소 낮아진 것으로 평가되어( $p = 0.02$ ), 생석회 농도가 증가할수록 생존하는 세균의 수는 줄어들어는 양상을 보였다(Fig. 1). 그러나, OT4와 OT5의 시료가 20%의 생석회로 처리되었을 때 생존하는 세균 수는 10% 또는 15%로 처리된 시료의 생균수와 차이가 없었다( $p > 0.9$ ). 오히려 20%생석회 처리시 생균수가 0.5%의 생석회 농도에서의 생균수 보다 다소 높게 나타나서( $p < 0.02$ ), 5% 이상의 범위에서 생석회 농도 증가로 인한 생균수 감소는 관찰되지 않았다. OT2의 경우, 일부 평판 배지에서 세균수 반복 측정값이 존재하지 않아 통계적 검정은 불가하였으나, 20% 생석회 조건의 생균수가 5%~15% 생석회 처리시 보다 확연히 줄어든 양상은 관찰되지 않았다. 따라서, 5% 이상의 생석회 농도에 비례하여 생균



**Fig. 2.** Examples of GTG, rep-PCR electrotypes of 5%-quicklime isolates (upper panel) and 20%-quicklime isolates (lower panel) (lanes: M = size marker for 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, and 10.0 kb, from bottom to top; all other lanes = isolates from soil samples).



**Fig. 3.** Venn diagram representation of GTG<sub>5</sub> rep-PCR electrotypes observed among isolates of MH1 soils mixed with 5% or 20% quicklime (Labels: designations for isolates; Ellipses: thin line = identical electrophoretic type, thick line = soil-quicklime mixture at different concentrations).

수가 감소하는 현상은 조사된 4개의 토양시료에서 일관되게 나타나지는 않았고, MH1 하나의 시료에서만 관찰되었다.

생석회 농도 구배에 따른 생균수의 감소를 보인 MH1 토양 시료를 대상으로, 생석회 농도 5%의 시료에서 생존하는 세균집단과 생석회 농도 20%의 시료에서 생존하는 세균집단의 구조를 비교분석하였다. 각 시료에서 생균을 순수분리 한 후 무작위적으로 선정된 55개의 세균들을 대상으로 유전체지문을 분석하여 동일한 밴드 패턴을 하나의 electrophoretic type (ET)으로 분류하였을 때 (Fig. 2), 55개 균주의 밴드 패턴은 23가지 ET로 분류되었다 (Fig. 3). 시료 별로 나누면, 생석회 농도 5%에서 분리한 세균 36개 중 ET가 17가지였고, 생석회 농도 20%에서 분리한 세균 19개 중 ET는 8가지였다. 하나의 ET에 해당하는 분리균주의 수는 평균 2.25개 였는데, 생석회 농도 5%에서 2.1개, 농도 20%에서 2.4개였다. 생석회 농도 5%와 20%에서 공통적으로 보이는 ET는 2개에 불과하였다 (Fig. 3). 생석회 농도 5%에서 분리한 세균의 다양성 지수 (Shannon-Wiener index)는 1.13 이었고, 20%에서 분리한 세균의 다양성 지수는 0.74 이었다. 5%에서 분리한 세균이 20%에서 분리한 세균보다 다양성 지수가 매우 높았다.

전체 38개의 ET가 단 2개의 공통 ET와 36개의 군집 특이적 ET로 나타났기 때문에, 생석회 처리 농도에 따라 구분된 두 세균 군집은 서로 상이한 군집으로 해석되었다. 그러나, 55개의 선발된 균주에서 관찰된 군집구조의 차이가 두 시료의 군집구조의 차이로 통계적으로 유의하게 연결될 수 있는지는 검증되어야 한다. 이를 위해, 두 집단에

서 세균 집락을 무작위적으로 순수분리하는 과정을 Monte Carlo simulation하여, 2개 이하의 공통 ET를 보이는 관찰결과와 통계적 유의성을 분석하였다. 생석회 농도 5%에서 총 479개의 집락이 형성되었고, 생석회 농도 20%에서 총 234개의 집락이 얻어졌다. 이들 두 집단에서 각각 36개와 19개의 집락이 ET분석에 사용된 과정을, 두 집단이 동일한 집단이라는 가정하에 10<sup>6</sup>회에 걸쳐 simulation 하였을 때, 공통 ET가 2개 이하로 나타날 확률은 0.04로 측정되었다. 5%를 통계적 유의수준으로 정할 때, 이 확률 값은 생석회 농도 5%와 20%에서 생성되는 세균 집락 군집은 서로 상이한 군집이라는 점을 뒷받침 하였다.

MH1의 생석회 농도 5%와 20%에서 순수분리 한 세균을 각 ET별로 선별하고, 밴드의 수가 3개 이하로 나타난 ET에 대하여는 균주를 중복 선별하여 (Fig. 2), 총 41개의 세균에 대해 비교집단을 만들고, 그람염색과 포자염색을 실시하였다. 모든 세균이 그람 양성균이었으며, 그 중 35개가 포자를 형성하는 세균이었다. 생석회의 농도가 5%에서 분리한 세균 18개 중 15개가 포자를 형성했으며, 생석회 농도 20%에서 분리한 세균에서는 23개 중 20개가 포자를 형성하였다.

#### 4. 토 론

토양의 특성에 따라 달라지지만, 일반적인 토양 중 세균 군집의 조성에서 그람음성 세균이 차지하는 비중은 그리 낮지 않고 (Ge et al., 2010; Fierer et al., 2007), 경우에 따라 75%를 넘어서는 예도 있다 (Polyanskaya et

al., 2008). 국내에서도, 유기물이 많은 야산의 표토층에서 그람 양성균이 34.8%, 그람 음성균이 65.2%로 우점하는 경우가 조사된 예가 있다(성치남 외, 1998). 그러나, 본 연구에서 조사된 생석회 처리 후 생존한 세균들은 모두 그람 양성임이 확인되었다. 이런 현상은 그람 음성과 양성균의 세포벽 구조의 차이 때문에 생석회 처리에 대한 세균 생존력의 차이가 발생한 것으로 해석될 수도 있다. 하지만, 본 연구의 또 다른 결과로, 생석회 처리 후 생존한 그람 양성 세균의 대부분(85.4%)에서 내성포자를 관찰할 수 있었다는 점을 고려하면, 세포벽의 구조보다, 내성포자의 유무가 생석회 처리 후 생존을 결정하는 주요 요인인 것으로 생각할 수 있다. 국내 야산의 표토층 토양에서 관찰된 내성포자 형성세균의 비율이 22% 정도에 불과한 예에서 볼 수 있듯이(성치남 외, 1998), 생석회 처리 후 생존하는 세균은 일반적인 토양의 세균분포에 비하여, 내성포자 형성균의 비율이 현저히 높았다. 이 결과와 함께 생석회 처리 후 세균수가 10,000배 이상 감소하여 99.99% 사멸하였다는 점을 고려하면, 생석회 처리로 인해 생리적 활성을 가진 세균들은 모두 사멸하고, 생석회 처리 이전에 이미 형성되어 있던 내성포자가 생존한 것으로 생각된다. 내성포자는 일반적으로 자외선, 고온 등의 유해 환경에 대한 저항성을 보이는 데, 흥미롭게도, 생석회 처리시와 같이 알칼리성의 고농도 칼슘 토양환경이 *Bacillus* 내성 포자의 생존에 적합한 조건으로 조사된 바 있어 (Hugh-Jones and Blackburn, 2009; Dragon and Rennie, 1995), 내성포자는 생석회가 처리된 토양환경에서도 잘 생존할 것으로 사료된다. 반면, 본 연구의 결과에 따르면, 포자 형태가 아닌 세균 형태의 세균은 5% 이상의 생석회가 처리된 토양환경에서 생존하지 못하는 것으로 나타났다. 결과적으로, 생석회 처리가 토양생태계에 미치는 효과는, 토양세균이 생태계에 하는 순기능인 물질순환과 토양의 형성작용을 심각히 저해한다는 점, 세균 생장이 가능한 환경이 복원될 때 생존 가능한 세균의 군집 조성을 내성포자를 형성하는 그람 양성균이 우점하는 비정상적인 상태로 만든다는 점으로 상정할 수 있다.

MH1 토양에 생석회 농도가 5%에서 분리한 세균과 20%에서 분리한 세균에서 공통적인 ET는 2가지로 적은 수에 그쳤는데, 이는 MH1 토양에 5% 생석회를 처리한 후 생존하는 세균의 종류와 20% 생석회를 처리하였을 때 생존하는 세균의 종류가 다름을 의미한다. MH1에서는 생석회의 농도가 5%인 시료에서는 생존하지만 생석회의 농도가 20%인 시료에서는 생존하지 못하는, 약한 정도의 알칼리 내성을 가진 세균들이 있고, 다른 시료에는 약한

내성의 세균이 존재하지 않아서, 생석회의 농도에 따른 세균수의 차이가 없이, 강한 내성의 세균들만이 생석회 농도에 상관없이 일정하게 생존한 것이라 해석될 수 있다. 앞서, 생석회 처리시 세균은 모두 사멸하고 내성포자들만이 생존한다는 결론을 이러한 군집구조의 차이에 대한 관찰에 적용하면, 5% 생석회 처리시 생존하는 내성포자와 20% 생석회 처리시 생존하는 내성포자의 종류가 다르게 나타날 수 있으며, 이는 내성포자의 생석회 처리에 대한 내성이, 세균종마다 다소 다르기 때문으로 해석될 수 있다.

본 연구의 결과, 토양의 종류에 따라서 생존하는 세균의 수에 차이가 있었는데(Fig. 1), MH1의 경우는 생석회의 농도가 증가할수록 생존하는 세균의 수는 감소하였지만, OT4, OT5의 경우는 생석회의 농도가 증가하더라도 생존하는 세균의 수가 감소하는 경향은 없었다. 이 관찰에 기초하여, 생석회 처리 전 토양 속의 세균의 군집조성에 따라 생석회가 처리된 환경에서 생존할 수 세균의 종류가 달라질 수 있다는 가설을 제시할 수 있다. 앞서 생석회 농도 5%와 20%의 세균 군집의 구조의 차이의 해석에서 적용된 바와 같이, 세균 별로 내성포자의 생석회 환경에 대한 내성이 다양하게 다를 수 있다는 점을 이 가설의 해석에 적용하면, MH1과 달리 OT4, OT5 토양에서만 생존세균 수가 생석회 농도에 관계없이 일정한 이유가 설명될 수 있다. MH1 이외의 시료는 구역역 매몰지의 토양이라는 점이 MH1과의 두드러진 차이점이다. 가축사체를 매몰하면서 생석회를 처리할 때, 주변 토양에 생석회가 흩어지거나, 주변 정화를 위해 의도적으로 생석회가 뿌려진다. 따라서, 매몰지 시료들은 저농도의 생석회에 이미 노출되었을 가능성이 높다. 이들 매몰지 토양에는 저농도의 생석회에만 내성을 지니는 세균포자가 이미 사멸하였으므로, 토양 환경이 자연 강우와 확산 등의 작용으로 복원되면서 세균 군집이 복원되어도, 고농도 생석회 처리 환경에서 생존하는 강한 내성을 지닌 세균 포자가 전체 세균포자 군집에서 여전히 다수를 이룰 것이다. 따라서, 매몰지 토양들의 경우 저농도 생석회에 사전에 노출되어, 해당 토양 내에 생석회 처리에 대한 내성 정도가 높은 세균포자들이 우점하는 포자 군집이 형성되었고, 이번 실험에서 생석회 농도별로 생존하는 세균 포자의 수를 조사하였을 때 5% 이상의 생석회 농도에서 큰 차이를 나타내지 않은 것으로 해석될 수 있다.

## 5. 결 론

생석회를 5%이상의 농도로 토양에 처리시 토양 속의

세균이 10,000배 감소하였다. 생존하는 균은 그람 양성균이고, 포자를 형성하는 세균만 주로 생존하였으며, 생석회의 농도에 따라서 생존하는 세균의 종류는 달라졌다. 따라서, 생석회의 처리는 토양 속의 세균 군집이 토양생태계에 제공하는 물질순환 기능을 거의 상실하게 하는 것으로 사료된다. 나아가, 추후 토양의 pH가 회복되고 세균의 생장이 가능한 조건이 형성될 때, 내성포자를 형성하는 집단이 주요 토양 기능을 복구하는데 우선 참여하는 것으로 예상할 수 있다. 토양 산성화 저감을 위해 생석회를 토양에 처리할 때 토양 세균의 생태적 기능이 저해 받는 것은 일종의 부작용으로 생각할 수 있으므로, 세균 생장의 저해를 최소화하는 적정량의 생석회 농도를 토양 별로 찾아 적용해야 할 것이다.

## 사 사

이 논문은 2011학년도 경성대학교 학술연구비지원에 의하여 연구되었습니다. 실험과논문 작성을 도와주신 김진남님께 감사드립니다.

## 참 고 문 헌

- 노정엽, 이의평, 2011, 생석회에 의한 발화 가능성 연구, 한국화재조사학회 2011년도 제21회 춘계학술대회, 한국화재조사학회, 전주, pp. 102-116.
- 서장선, 정병간, 권장식, 1998, 우리나라 중부지방 시설재배지 토양 미생물의 다양성에 관한 연구, 한국토양비료학회지, **31**(2), 197-203.
- 성치남, 백근식, 전영문, 김정근, 김종훈, 1998, 남산 주요 식생의 토양 미생물의 분포 및 생리적 특성, 한국생태학회지, **21**(5-3), 703-712.
- 신영오, 1992, 토양생태계와 토양자원, 한림지널사.
- 한국석회석가공업협동조합, 2006, 석회의 성질, 기능 및 용도, 석회, **11**(2), 16-35.
- Andrade, M.J., Rodríguez, M., Sánchez, B., Aranda, E., and Córdoba, J.J., 2006, DNA typing methods for differentiation of yeasts related to dry-cured meat products, *Int. J. Food Microbiol.*, **107**(1), 48-58.
- Beare, M., Coleman, D., Crossley, D., Hendrix, P., and Odum, E., 1995, A hierarchical approach to evaluating the significance of soil biodiversity to biogeochemical cycling, *Plant Soil*, **170**(1), 5-22.
- Benken, T., Muller, J.K., and Peschke, K., 1998, Oligonucleotide DNA fingerprinting optimized to determine parentage in three beetle species, *Electrophoresis*, **19**(2), 158-163.
- Chokesajjawatee, N., Zo, Y.-G., and Colwell, R.R., 2008, Determination of clonality and relatedness of *Vibrio cholerae* isolates by genomic fingerprinting, using long-range repetitive element sequence-based PCR, *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 5392-5401.
- Chomczynski, P. and Rymaszewski, M., 2006, Alkaline polyethylene glycol-based method for direct PCR from bacteria, eukaryotic tissue samples, and whole blood, *BioTechniques* **40**, 454-458.
- Coorevits, A., de Jonghe, V., Vandroemme, J., Reekmans, R., Heyrman, J., Messens, W., de Vos, P., and Heyndrickx, M., 2008, Comparative analysis of the diversity of aerobic spore-forming bacteria in raw milk from organic and conventional dairy farms, *Syst. Appl. Microbiol.*, **31**(2), 126-140.
- Dragon, D.C. and Rennie, R.P., 1995, The ecology of anthrax spores: tough but not invincible, *Can. Vet. J.*, **36**(5), 295-301.
- Epplen, J.T., Ammer, H., Epplen, C. & other authors, 1991, Oligonucleotide fingerprinting using simple repeat motifs: a convenient, ubiquitously applicable method to detect hypervariability for multiple purposes, *EXS*, **58**, 50-69.
- Fierer, N., Bradford, M.A., and Jackson, R.B., 2007, Toward an ecological classification of soil bacteria, *Ecology*, **88**(6), 1354-1364.
- Ge, Y., Chen, C., Xu, Z., Eldridge, S., Chan, K., He, Y., and He, J.-Z., 2010, Carbon/nitrogen ratio as a major factor for predicting the effects of organic wastes on soil bacterial communities assessed by DNA-based molecular techniques, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, **17**(3), 807-815.
- Gevers, D., Huys, G., and Swings, J., 2001, Applicability of rep-PCR fingerprinting for identification of *Lactobacillus* species, *FEMS Microbiol. Lett.*, **205**(1), 31-36.
- Hall, H.K., Karem, K.L., and Foster, J.W., 1995, Molecular responses of microbes to environmental pH stress, In: Edited by R. K. Poole, *Advances in Microbial Physiology*, Academic Press, London, U.K., pp. 229-272.
- Hartman, W.H., Richardson, C.J., Vilgalys, R., and Bruland, G.L., 2008, Environmental and anthropogenic controls over bacterial communities in wetland soils, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **105**(46), 17842-17847.
- Hugh-Jones, M. and Blackburn, J., 2009, The ecology of *Bacillus anthracis*, *Mol. Aspects Med.*, **30**(6), 356-367.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Dunlap, P.V., and Clark, D.P., 2009, Brock Biology of Microorganisms, Pearson Benjamin Cummings, San Francisco, CA.
- Maier, R.M., Pepper, I.L., and Gerba, C.P., 2009, Environmental Microbiology, 2 edn, Academic Press, Burlington, MA.
- Mohapatra, B., R. and Mazumder, A., 2008, Comparative efficacy of five different rep-PCR methods to discriminate *Escherichia coli* populations in aquatic environments, *Water Sci.*

*Technol.*, **58**(3), 537-547.

Mohapatra, B.R., Broersma, K., and Mazumder, A., 2007, Comparison of five rep-PCR genomic fingerprinting methods for differentiation of fecal *Escherichia coli* from humans, poultry and wild birds, *FEMS Microbiol. Lett.*, **277**(1), 98-106.

Mormak, D.A. and Casida, L.E., 1985, Study of *Bacillus subtilis* endospores in soil by use of a modified endospore stain, *Appl. Environ. Microbiol.*, **49**(6), 1356-1360.

Moyes, R.B., Reynolds, J., and Breakwell, D.P., 2009, Differential staining of bacteria: Gram stain, *Curr. Protoc. Microbiol.*, **15**, A.3C.1-A.3C.8.

Polyanskaya, L., Ivanov, K., Guzev, V., and Zvyagintsev, D., 2008, Estimation of abundance dynamics of gram-negative bacteria in soil, *Mikrobiologiya*, **77**(6), 760-764.

Rasschaert, G., Houf, K., Imberechts, H., Grijspeerdt, K., De Zutter, L., and Heyndrickx, M., 2005, Comparison of five repetitive-sequence-based PCR typing methods for molecular discrimination of *Salmonella enterica* isolates, *J. Clin. Microbiol.*, **43**(8), 3615-3623.

Raven, P.H., Johnson, G.B., Mason, K.A., Losos, J.B., and Singer, S.R., 2010, *Biology*, 9 edn, McGraw-Hill, New York,

NY.

Samapundo, S., Heyndrickx, M., Xhaferi, R., and Devlieghere, F., 2011, Incidence, diversity and toxin gene characteristics of *Bacillus cereus* group strains isolated from food products marketed in Belgium, *Int. J. Food Microbiol.*, **150**(1), 34-41.

Sampathkumar, B., Khachatourians, G.G., and Korber, D.R., 2003, High pH during trisodium phosphate treatment causes membrane damage and destruction of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis, *Appl. Environ. Microbiol.*, **69**(1), 122-129.

Švec, P., Nováková, D., Žáčková, L., Kukletová, M., and Sedláček, I., 2008, Evaluation of (GTG)5-PCR for rapid identification of *Streptococcus mutans*, *Antonie van Leeuwenhoek*, **94**(4), 573-579.

Švec, P., Vancanneyt, M., Seman, M., Snauwaert, C., Lefebvre, K., Sedláček, I., and Swings, J., 2005, Evaluation of (GTG)5-PCR for identification of *Enterococcus* spp., *FEMS Microbiol. Lett.*, **247**(1), 59-63.

Thanos, M., Schonian, G., Meyer, W., Schweynoch, C., Graser, Y., Mitchell, T.G., Presber, W., and Tietz, H.J., 1996, Rapid identification of *Candida* species by DNA fingerprinting with PCR, *J. Clin. Microbiol.*, **34**(3), 615-621.