

지표종을 이용한 생태계 위해성평가

장진수 · 김경웅*

광주과학기술원 환경공학과 지질환경 비소제어 연구실

Ecosystem Risk Assessment Using the Indicator Species

Jin-Soo Chang · Kyoung-Woong Kim*

*Arsenic Geoenvironment Laboratory (NRL), Department of Environment Science and Engineering,
Gwangju Institute of Science and Technology (GIST)*

ABSTRACT

Risk assessment by living indicator species provides the information about the ecosystem disturbance, disappearance of symbiosis and change of living group. In the initial stage of this kind research, the degree of contamination was reported using the level of simple number, but simple number may not represent the risk itself which can be caused in the living organisms. Risk assessment using various indicator species overcomes these limitations and can be expanded to the DNA level. In many developed countries, the government has supervised the researches about the indicator species for the monitoring and its application to ecosystem restoration. Several living indicator species found in the vicinity of the abandoned Au mines such as fern, earthworm, bacteria, rhizosphere-rhizoplane, salamander and DNA change of these species are described in this paper.

Key words : Arsenic indicator species, Arsenic-induced teratogenesis, Ecosystem risk assessment, Animal test, Rhizosphere-rhizoplan, Ars-Bacteria, Fern, Earthworm, Salamander

요 약 문

생태계 위해성평가는 유해물질의 노출로 인한 생태계 교란, 생물 공생의 파괴 및 부적합한 서식조건에 의한 생물집단구조의 문제를 적절히 평가할 수 있어야 한다. 초기의 위해성 평가는 오염의 수준을 숫자로 표기하여 단일된 공식으로 평가하였으나, 현재 이러한 평가는 실제로 생태계에 미치는 위해성을 평가하는데는 부적합하다. 따라서 지표종을 이용한 생태계 위해성평가는 이러한 단점을 극복하며 육안적 지표의 변화 뿐만 아니라 유전자 수준에서의 변화까지도 감지함으로써 위해성 평가의 폭을 넓힐 수 있게 한다. 국외의 경우 오염의 평가 및 오염 지역 복원의 평가기준으로 여러 지표종을 이용하고 있으며, 여러 지표종을 국가 차원에서 종합적으로 관리하며 오염으로 인한 변화를 유전자 돌연변이 및 암발생 수준까지 연구함으로써 생태계 위해성 평가를 하는 추세이다. 국내의 경우에도 점차 지표종을 이용한 위해성 평가 연구가 진행되고 있으며, 오염물질의 인체에서의 발암 메커니즘, 동물실험을 통한 발암 메커니즘에까지 그 영역이 확대되고 있다. 본 논문에서는 현재까지 이용되는 여러 지표종을 개략적으로 살펴보고, 중금속으로 오염된 폐광산에서 발견된 생지표종인 고사리, 지렁이, 미생물 및 도롱뇽의 변화를 생태계 위해성 평가에 활용되어진 다양한 예가 소개되어 질 것이다.

주제어 : 지표종, 비소오염, 생태계 위해성평가, 비소로 인한 기형, 동물실험, 근권-근면, 비소내성시스템 미생물, 고사리, 지렁이, 도롱뇽

*Corresponding author : kwkim@gist.ac.kr

원고접수일 : 2006. 12. 29 게재승인일 : 2007. 1. 5
질의 및 토의 : 2007. 4. 30 까지

1. 서 론

지표종 · 지표생물이란 특정지역의 환경생태를 측정하는 척도로 이용하는 미생물이나 식물을 말한다. 예를 들면, 이끼류가 있는 곳은 산성 토양임을 알 수 있고, 그리스우드(greasewood)가 있는 곳은 염기성 토양임을 알 수 있다. 고여 있는 물에 실지렁이가 있다면 이는 산소가 부족함을 나타내는 지표이므로 마시기에 부적합함을 의미한다. 지표식물이란 입지의 영양상태도, 산성도, 건조도 등과 같은 환경조건을 알아내는데 도움이 되는 식물을 일컫는다. 이렇게 환경의 상태나 변화를 대표하는 생물종을 지표종 · 지표생물이라 한다(환경부; www.me.go.kr). 이러한 지표종 또는 지표생물은 그 종류가 매우 다양하며, 특히 오염원에 따라 다르므로 전체를 고찰하기는 어렵기에 본 논문에서는 중금속을 대상으로, 특히 비소 오염지역에서의 지표생물에 대해 고찰하고자 한다.

휴 · 폐금속광산은 개발 이후 갱도가 제대로 메워지지 않은 상태에서 광산폐수가 갱도안에 고이고 여러 중금속 물질을 포함한 광산배수가 유출되어 폐광산 주변 지역을 오염시킨다. 광산배수는 주변의 농경지를 오염시키고, 주변 생태계에 영향을 미친다. 철과 알루미늄 산화물들은 주변 토양과 지하수의 pH를 낮추고 물을 탁하게 하며, 하류의 하천바닥에 콜로이드 물질이 쌓이게 한다. 이러한 환경은 광산생태계의 생물종 다양성을 감소시킨다(Xia et al., 2002; 홍선기, 2005; 우보명, 2000, 국립산림과학원, 2004). pH 0.2~2.0 조건에서 특수한 생물종의 서식은 주변 생태계 공생을 깨뜨리며, pH 4.0~5.0에서는 생태계 생물종의 극소수만 살게 되고, 대부분의 물고기는 죽는다. 비소오염지역의 생태환경중 농작물의 생태계 공생자인 질지 동물은 pH 6.0에도 대부분 살아 남지 못한다(홍선기, 2005; 우보명, 2000, 국립산림과학원, 2004). 생태학적 복원의 필수 자료로써 오염광산의 지표종 파악이 선행되어야 하고, 광산생태계의 정확한 조사 및 평가가 이루어져야 된다. 이를 바탕으로 생 지표 종에 근거한 복원이 수행될 수 있을 것이다.

환형동물인 지렁이는 땅속에서 토양구성분을 혼합하고 옮기는 역할을 하며, 폐광산 농경지 주변에서 비소의 생태학적 생지표종으로 중요한 생명체이다. 오염된 토양을 비옥하게 만들고 주변 생태계의 먹이사슬에서 중요한 중간자 역할을 담당하고 있다. 특히, 생태계의 척추동물인 도롱뇽, 새, 두더지, 황조롱, 매, 올빼미와 같은 지표종인 중간자에게 오염물질을 옮기는 역할을 담당하고 있다(최훈근, 2001; Langdon et al., 2003). 비소에 저항을 갖는

다양한 종의 지렁이가 연구되고 있으며, *Elisenia fetida*, *Lumbricus terrestris*, *L. rubellus*는 높은 비소독성에서도 존재하여 폐광산 잔재물에서도 존재하고 있다(Langdon et al., 1999 & 2001; Pearce et al., 2002). 이러한 지렁이 체내 비소화합물의 축적은 비소오염물질의 이동경로를 만들고 있다. 지렁이는 비소를 체내에 축적하나 생체내 농축은 하지 않는 것으로 알려져 있고, 그 정도는 지렁이 종(species) 및 비소화합물의 종류에 따라 다르게 나타난다. Langdon et al.(1999, 2001, 2002 & 2003)의 연구에서는 비소화합물을 arsenate 보다 독성이 낮은 형태로 격리시켜 체내에 장기간 축적하는 경향을 잘 나타내어 주고 있다.

도롱뇽 역시 생태계 중간자이자 환경 지표종으로써 그 가치가 매우 높다. 비소로 오염된 낙동광산의 생태 위해성조사에서 비정상적인 기형형태의 도롱뇽이 발견되었고, 이런 기형 도롱뇽의 체내 비소농도가 높았으며, 기형이 있는 신체 부위에 대한 분자생물학적 연구결과 다양한 돌연변이를 볼 수 있었다(Chang et al., 2005 & 2006). 실험실에서 낮은 농도의 비소에 만성으로 노출시킨 도롱뇽에서도 등뼈휘어짐과 다리의 기형이 발생하여 환경지표종으로서의 가치를 보여주었고, 이러한 유전자 변이는 인간을 포함한 다른 많은 동물실험에서도 확인되고 있다(Links et al., 1995).

폐광산 주변의 식물을 관찰하면 여러 식물의 공생이 사라지고 고사리만이 폐광도와 그 주변에서 발견됨을 알 수 있다. 여러 식물중 고사리는 광산오염을 기증하는 지표종으로 다양한 비소종을 과축적(hyperaccumulation) 할 수 있음이 보고되고 있다(Ma et al., 2001). Brooks(1998)에 의하면 Brake ferns(*Pteris vittata*, 고사리)는 토양에서 흡수한 비소를 식물체내에 1,442~7,526 mg kg⁻¹까지 축적하였고, 비소농도 29.4~15,861 ppm을 농축하기에는 2주의 기간이 소요되었다고 한다. 또한 근권 · 근면 미생물과 공생하면서 뿌리 · 줄기 · 잎을 통하여 배출(pumping) 및 액포(vacuole strage)에 저장하는 결과를 보여, 비소로 오염된 토양에서 생지표종으로서의 가치 뿐만 아니라 오염 제거 가능성까지 보여주었다(Sparks, 2003; Chang and Kim, 2006). 최근 비소로 오염된 폐광산에서 비소의 지구 화학적 이동을 잘 설명할수 있는 것은 비소내성시스템(*ars*; arsenic resistance system)이며, 이와 관련하여 생태 위해성평가에 활용 가능한 생물 지표로서의 타당성을 평가할 수 있을 것이다(Chang et al., 2005 & 2006).

본 논문은 비소로 오염된 광산 생태계 평가시 활용 가능한 생태 위해성 지표종(indicator species)의 결정 및 분자 지표(molecule index) 개발에 필요한 기초연구결과로

오염환경에서 서식하는 생물종이 비소에 노출됨으로써 발생하는 광산 생태독성평가의 연구와 관련자료를 요약한 것이다. 본 논문의 내용은 (1) 비소로 오염된 광산을 평가하기 위한 인체 비소 위해성평가, (2) 실험동물의 비소 노출에 의한 결과, (3) 고사리 및 고사리의 근권-근면 미생물을 이용한 비소 독성저감 메커니즘, (4) 지렁이를 이용한 비소독성 평가, (5) 비소로 오염된 환경에서 생태학적 평가를 위한 도롱뇽 지표종의 가능성 조사, (6) 여섯번째로는 비소내성시스템에 관련된 내용등이다. 이러한 결과들은 비소로 오염된 광산생태에 대한 분자지표 수준에서의 기형평가, 다양한 생태학적 지표특성을 이용한 위해성평가 및 비소독성저감 메커니즘 평가에 활용되어 최종적으로 생태계 모델 생지표 종으로서의 사용 가능성을 평가할 수 있게 할 것이다.

2. 본 론

2.1. 인체 위해성평가(Human body risk assessment)

현재까지 인체는 가장 중요한 지표종으로 알려져 왔으며, 특히 비소화합물의 인체 독성은 고대로부터 알려져 왔는데 비소 만성 노출은 신체 유전자 체계를 변화시켜 발암물질로도 작용함이 밝혀져 있다(이병무, 1999; Gary, 2003; Huang et al., 2004; Rossman, 2003). 이런 만성 노출의 위험성 때문에 EPA(US EPA, 2001) 보고서에서는 음용수중 비소 오염 기준치를 50 µg/L에서 더 낮은 10 µg/L로 할 것을 주장하였고 현재 시행중이다. 대대양이라고까지 불리는 사례로는 벵갈분지에 위치한 방글라데시 지역주민들이 지하수에 존재하는 비소오염에 만성노출되어 매해 3,000 여명이 사망하고 있다고 한다(Harvey et al., 2002). 그밖에도 인체에 대한 비소 오염 사례는 대만(Bates et al., 1992), 베트남(Berg et al., 2001), 중국(Wang, 1984) 등 여러 나라에서 보고 되고 있다(Tchounwou et al., 2004; 이무열, 2002). 비소는 3가 및 5가의 무기화합물 형태로 소화기를 통해 흡수되며, 신체내부로 들어온 비소는 주로 피부, 비장, 신장, 간, 근육에서 대사를 하는데 산화와 환원은 주로 간과 혈장에서 일어나며, 수일내로 소변을 통해 체외로 배출된다. 또한, 비소는 주로 머리카락(평균 0.02 µg/g)과 피부조직에 분포되어 있는 것으로 알려져 있다(Yu et al., 2006; Aposhian, 1997; Nguyen, 2006). 비소에 만성적으로 노출되면 정상세포의 방어가 무력화되어 세포가 사멸(cell death)되고, DNA 손상시 복구 시킬수 있도록 명령하는 housekeeping gene을 억제시켜 DNA 복구가 안되어 암(cancer)으로 발전한다.

Cheng et al.(2004)은 비소가 JAK-STAT pathway에 작용하여 암유발에 관여할 수 있을 가능성을 보고하였으며, 다른 연구자들도 비소가 telomerase transcription을 억제하여 유전자 변이를 일으킨다고 보고하였다(Chou et al., 2001; 정해원 등, 1996). 텔로머라제(Telomerase)는 염색체 말단에 위치한 인간의 성장을 담당하는 유전자인데, 비소에 의한 텔로머라제 손상(telomerase damage)은 염색체 말단 유전자 'TTAGGG'의 발현을 방해하여 염색체 돌연변이(chromosome mutation)를 만든다. 이러한 염색체 변이는 비소로 인한 인체 위해성평가의 생지표로서의 활용 가능성을 시사한다. 만성 비소 노출로 인한 피부암에 관한 많은 역학 보고들이 있다. 비소가 세포의 활성을 무력화 시킴으로 인한 ATP의 감소는 세포의 많은 기능을 손상시킨다. Fig. 1은 포유동물 비소 메커니즘을 보여주는데(배옥남 등, 2006), 비소 5가는 arsenate reductase 효소에 의해 인체에 3가로 종(species)전환되며, S-adenosylmethion compound의 존재하에 monomethylarsonous acid(MMA^V)로 전환된다. MMA^V는 환원효소에 의해 glutathione(GSH) 효소를 이용하여 monomethylarsonous acid(MMA^{III})로 전환되며, 최종 대사는 dimethylarsinic(DMA^V)와 dimethylarsinous acid(DMA^{III})로 되는 것이다(배옥남 등, 2006; Filippova et al., 2003).

2.2. 동물 위해성평가 (Animal risk assessment)

동물 위해성평가란 인간과 유사한 성상을 가진 동물을 이용하여 인간에게 직접 시행할 수 없는 기전연구의 형태나 인간에게 어떠한 약물을 적용하기 이전에 그 독성이나 용법등을 알기 위해 진행되는 연구를 일컫는다. 실험동물을 사용하여 수행되는 연구에서는 실험처치로 인해 동물이 나타내는 반응을 관찰하고, 그 반응결과를 통하여 사람이나 기타 다른 동물중에 어떠한 효과를 주는 가를 평가한다. 비소 독성실험 역시 급성실험(acute test)과 만성실험(chronic test)으로 나누어 지는데 급성 실험은 비소가

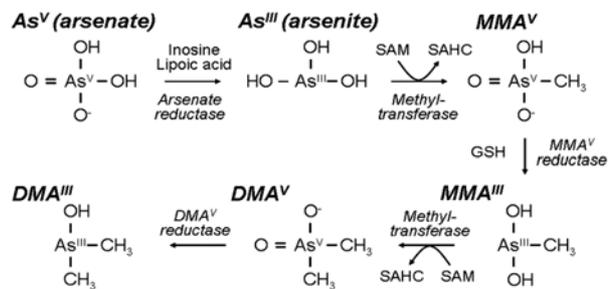


Fig. 1. Biotransformation of inorganic arsenic in mammalian systems (Bae, 2006).

급작스럽게 피부나 눈, 인후등에 접촉시 발생하는 독성의 형태로 피부가 헐거나 눈이 아프면서 결막염과 같은 염증이 일어나며 식도가 따갑고 화끈거리고 침을 삼킬 수 없으며 배가 심하게 아프며 토하거나 설사를 하게 된다. 비소에 대한 실험동물의 최저 치사량(LDL₀, lowest published lethal dose)의 결과는 rats(muscle) LDL₀: 25 mg/kg, hare(hypodermic injection) LDL₀: 300 mg/kg, molmot (abdominal cavity) LDL₀: 10 mg/kg, molmot(hypodermic injection) LDL₀: 300 mg/kg로 알려져 있다.

비소의 만성 실험은 저농도의 비소에 장기간 노출시키는 경우를 말한다. 무기 비소에 노출된 실험동물 대부분에서 식욕이 떨어지고 활동이 둔해지며서 설사 및 구역질이 나타났다. 또한, 혈관계 및 신경계 그리고 말초신경계에도 독성이 있었으며, 발암물질로도 작용하여 삼산화 비소를 hamsters의 기도내 투입시킨 경우 폐암발생이 증가하였다(Ishinishi et al., 1983; Pershagen et al., 1984). 비소는 인간에서와 같이 동물에서도 염색체 돌연변이를 만드는데, 피부종양을 증가시킨 마우스(rats)에서는 v-Ha-ras 암유전자(oncogene)의 발현이 증가되었고(Germolec et al., 1998), 특히 p53(암억제유전자)의 변이를 촉진시켜 간암, 피부암, 폐암 및 수술 후 위암을 유발하였다(Popovicova et al., 2000; Katselson et al., 1986; Wanibuchi et al., 2004). 암의 종류는 다르지만 비소가 tumor promo-

ter로 작용할 수 있으며, 실험동물의 수명을 단축시킨다는 사실도 확인되었다(Table 1). 특히, 쥐에 대하여 유기비소인 Dimethylarsinic acid(DMA)와 monomethylarsonic acid(MMA)를 사용한 실험결과에서는 p53 gene 변이의 촉진으로 방광암, 간암, 피부암, 폐암의 발생가능성이 보고되고 있으며, 이 때 비소 노출의 기간은 18일부터 2년까지로 다양하였다(Yamamoto et al., 1995; Wanibuchi et al., 2004; Cheu et al., 2000; Kitchin, 2001; Salim et al., 1999).

2.3. 고사리 지표종 및 공생미생물 평가(Fern indicator species and rhizosphere-rhizoplane assessment)

일반적으로 폐광산지역에서는 주로 고사리 집단이 발견되는데, 고사리는 여러해살이 식물로 특히, 비소로 오염된 광산의 광미에 단일종으로 서식하고 있으며 잎자루 길이는 20~90 cm, 잎몸 길이는 20~110 cm까지 자란다. 보성에 소재한 명봉광산의 갱구에는 고사리만이 자생하는데 갱구의 천장 및 옆 벽면에 단일종으로 서식하며, 나주에 소재한 덕음광산지역의 고사리 집단은 검은 지하경뿌리로 각각의 고사리가 연결되어 있으며 갱구앞의 광미더미에서 발견된 고사리에는 높은 비소농도를 보여준다(Chang, 2003). 강원도의 낙동광산과 송천광산의 갱구 입구에도 단일종의 고사리가 무리를 이루고 있으며, 경상도의 고령광산에서도 고사리 무리가 관찰된다. 광산마다 고사리의 외

Table 1. Arsenic-damage in various animal carcinogenicity models

Arsenical	Animal	Dose	Exposure	Risk assessment	Role	Reference
As (III), As (V)	Hamaster	5.25 mg or 3.75 mg	week	Lung adenomas	Lung tumor	Ishinishi et al.(1983)
As (III)	Rats	48 mg/kg/day	4 weeks	v-Ha-ras oncogene transgenic/Skin cancer	Carcinogen	Germolec et al., (1998)
As (III)	Male mice	50 ppm	26 weeks	p53 ^{+/−} gene/bladder tumor	Cocarcinogen	Popovicova et al.(2000)
As (V)	Female mice	500 µg/L	26 months	Multiple tumor	Carcinogen	Ng et al.(1998)
As ₂ O ₃	Hamasters	3 mg/kg	15 weeks	Respiratory tract tumor	Carcinogen	Pershagen et al.(1984)
As (III)	Rats	8 mg/kg		Surgical implantation in stomach	Stomach adenocarcinomas	Katselson et al.(1986)
As (III)	Mice	0, 42.5, 85 ppm	8 to 18 day	Liver tumor	Carcinogenesis	Waalkes et al.(2004)
As (III)	Male mice	10 ppm	5 months	Skin tumor	Carcinogen	Chen et al.(2000)
As (III)	mice	40 mg/kg	9 day	Fetal weight,	Teratogenesis	Hood et al.(1972)
DMA	White rats	50, 100, 200, 400 ppm	18 day ~ 30 day	Bladder, kidney, liver	Promoter	Yamamoto, et al.(1995)
DMA	Rats	50, 100, 200, 400 ppm	25 weeks	p53 ^{+/−}	Promoter	Wanibuchi et al.(2004)
DMA, MMA	Rats	50, 100, 200, 400 ppm	2 year	p53 ^{+/−} gene, bladder, liver, skin, lung	Cancer	Wanibuchi et al.(2004)
DMA	Male mice	10 or 100 ppm	5 months	Skin tumor	Carcinogen	Chen et al.(2000)
DMA	Female rats	100 ppm	24 months	Bladder tumor	Carcinogen	Kitchin(2001)
DMA	Male mice	50 or 200 ppm	80 weeks	Tumor increase	Promoter	Salim et al.(1999)

DMA: Dimethylarsinic acid, MMA: Monomethylarsonic acid

Table 2. Arsenic concentrations in brake fern (Ma, 2001)

Treatments	Soil arsenic (ppm.)	Plant arsenic (ppm)	
		2 weeks	6 weeks
Control	6	755	438
As-contaminated soil *	400	3,525	6,805
Low As +	50	5,131	3,215
Medium As +	500	5,849	21,290
High As +	1,500	15,861	22,630

Brake fern plants, collected from several uncontaminated sites (they are not commercially available) were planted in 2.5-liter pots containing 1.5 kg of soil

(one plant per pot with four replicates) and grown for six weeks.

* : Arsenic-contaminated soil was collected from the site where brake fern was discovered.

+ : Artificially contaminated soil was spiked with three levels of water-soluble potassium arsenate.

형은 다르나 다른 식물이 모두 생존하지 못하는 상태에서 고사리류만이 생존하는 것으로 판단되기에 이러한 고사리가 오염 폐광산의 지표종임이 될수 있음을 나타낸다.

Ma et al.(2001)은 높은 농도의 다양한 비소종을 추적할 수 있는 고사리 Brake fern(*Pteris vittata*)를 조사하여 발표하였는데, 이 고사리를 1,500 ppm의 비소로 오염된 토양에서 키운 후에 고사리내 농도를 측정 한 결과 2주후에는 15,861 ppm, 6주후에는 22,630 ppm을 측정하였으며, 8주후에 뿌리축적 농도가 발견되지 않을 때 옆상체인 잎은 6,000 ppm의 축적을 보였다(Table 2). 비소 농축 고사리 종으로는 *Pteris vittata*(brake fern)과 *Pityrogramma calomelanos*이 발표되었다(Francesconi et al., 2002; Ma et al., 2001). 이 고사리는 As(III), As(V)을 뿌리에 서부터 잎으로 이동시켜 대기중에 As⁰으로 내보내는데 이 과정에서 비소내성시스템(*ars*: arsenic resistance system)이 작용한다(Brook, 1998; Sparks, 2003; Srivastava et al., 2005). 먼저 뿌리에서 비소를 빨아올린 후 줄기로 이동시키고 *arsC*이라는 유전자로 줄기에서부터 잎으로 이동시키며 pumping 하고 또는 3개의 RSH 효소와 결합하여 액포(cytosol)에 저장한다(Doucleff et al., 2002; Dhankher et al., 2002). 이러한 잎으로의 운반 및 농축은 생물학적 복원의 가능성을 보여준다. 식물을 이용한 오염 제거는 고도의 기술을 필요로하지 않으며 오염 제거 후 부지를 재공할 수 있고, 또한 오염물의 회수가 가능하다. 그리고 시각적으로 비파괴적이어서 지역주민의 동의를 얻기가 용이하며, 경제적인 잠재력이 뛰어나 오염된 토양의 생물학적 활성도와 물리적 구조를 더 좋게 유지할 수 있는 장점이 있다. 이런 면에서 볼 때 비소를 농축시킬 수 있는 고사리의 발견은 매우 흥미로운 일로 국내 몇몇 광산에 자생하고 있는 고사리에서 비소 농도를 측정해 본 결과 그 함량이 비교적 높지는 않으나 비소를 농축할 수 있는 능

력이 있음을 확인할 수 있었다(Table 2 & Fig. 2). 이제 국내에서도 고농도의 비소저감 능력을 보여주는 토착종 확보와 또 이런 식물들의 뿌리, 줄기, 잎에서의 비소 저장 메커니즘을 이해하기 위한 연구가 필요하겠다. 액포에 저장된 비소는 중요한 지표이므로 채취한 식물을 방치하여 식물 조직이 부패되거나 이물질로 인해 효소체계가 교란된다면 비소의 지표종으로서의 부적당 하므로 고사리 시료채취후 효소가 교란하지 않도록 보관하는 것도 반드시 고려되어야 할 것이다.

근권-근면 미생물평가란 식물근이 토양중에 신장하여 그의 영향이 미치는 영향을 근권(rhizosphere)이라 부르고, 뿌리 표면 속에서 공생하는 미생물은 근면(rhizoplane)이라 부르고 특정 유해중금속에 대해 독성 저감 또는 제거 목적으로 연구되는 것을 식물공생 위해성평가라 부른다. 근면미생물로서 동정된 미생물은 *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Clostridium*, *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Klebsiella* sp., 각 속에 걸쳐 알려져 있고, 비소로 오염된 국내 덕음 및 명봉광산에서 발견된 비소메카니즘에 관련된 근권/근면 미생물은 *Serratia* sp., *Citrobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Buttiauxella* sp., *Pantoea* sp., *Acintobacter* sp., 각 속으로 각각의 속은 유전자 은행(NCBI-National Center for Biotechnology Information: DQ539020~DQ539401)에 등록되어 있다(Chang et al., 2006). 유전학적으로 등록된 정보는 근권/근면 미생물을 이용한 위해성 평가로서 계통학적으로 유용하게 사용할 수 있을 것이다. 따라서, rhizobacteria 의 비소 독성 저감 메커니즘은 고사리에 공생하면서 작용하며 지표종으로서의 활용도 가능하다 하겠다(Fig. 2). 식물을 이용한 복원연구결과 식물과 박테리아의 생태학적 공생 능력은 탁월하며, 두가지 역할로는 스트레스 ethylene 농도를 적당한 수준으로 낮추어 식물의 뿌리를 성장시키는 역할을 하며 다른 한편으로는 새싹이 토

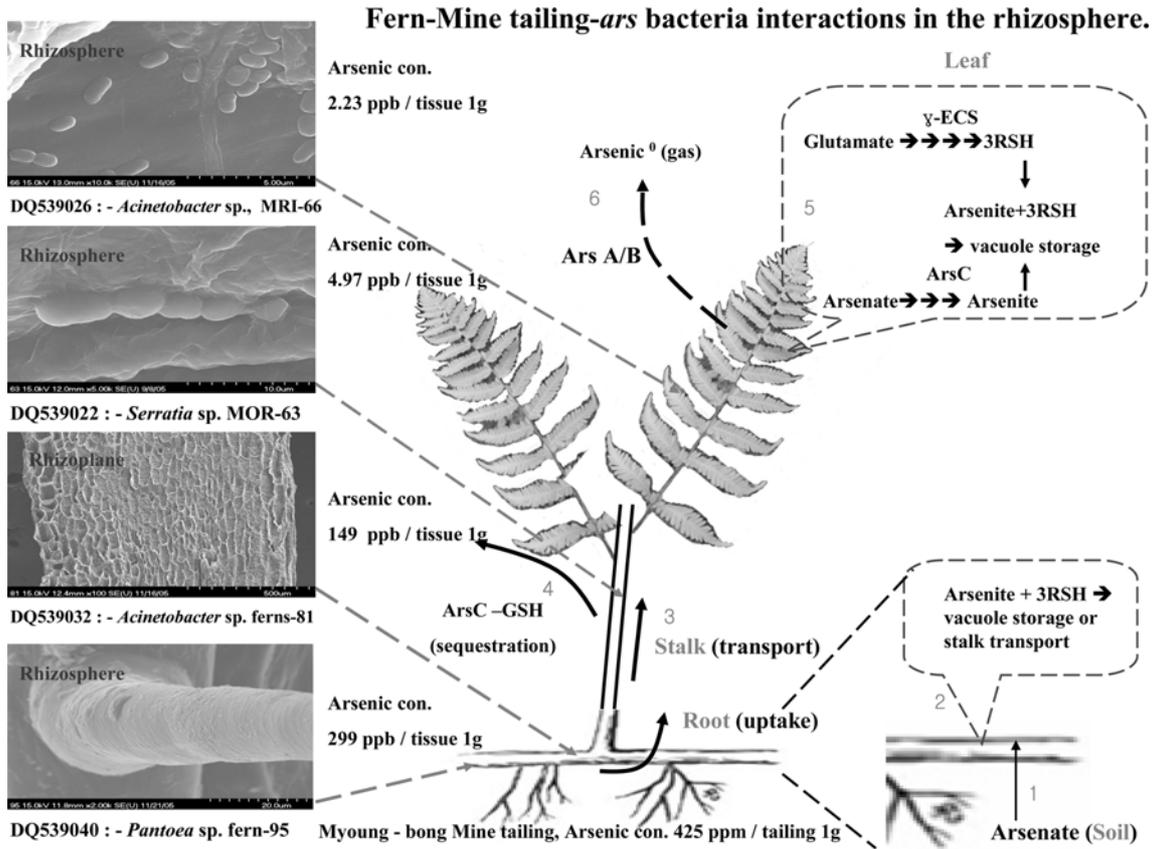


Fig. 2. Fern-mine tailing -ars bacteria interactions in the rhizosphere. Arsenic detoxifications and application to phytoremediation mechanism (Chang et al., 2006).

양에 굳게 뿌리를 내려 잘 성장하도록 한다(Glick, 2003). 식물의 대사과정에서 미생물의 효소 작용은 연구가 진행될수록 더 많은 유용한 결과를 기대하게 하는데 균근과 박테리아의 상호작용은 식물 성장을 촉진시킨다는 가능성이 발표되었다(Morikawa et al., 2003; Artursson et al., 2006; Silver et al., 1988). Chang et al.(2006)이 발표한 비소로 오염된 광산에서의 고사리와 근균류 미생물의 공생관계는 효과적인 생태독성저감을 보이는 지표라 하겠다. 그 결과는 고사리 곁뿌리에 공생하는 근면미생물 *Pantoea* sp. fern-95(DQ539040)는 안쪽 뿌리의 근면미생물 *Acidetobacter* sp. ferns-81(DQ539032)과 공생하며 비소를 뿌리로 pumping 하도록 도와준다(Fig. 2). 줄기로 이동한 비소는 ArsC-GSH의 효소에 의해서 잎으로 이동하며 여기에서 주도적인 역할을 하는 세균은 *Serratia* sp. MOR-63(DQ539022)이다. 비소는 ArsAB 시스템에 의해서 잎 전체로 이동하며 As⁰의 가스형태로 pumping 하고, 한편으로 Glutamat 과 협동한 γ-ECS 효소(enzyme)는 3개의 RSH와 결합하여 액포에(vacuole storage) 저장된다. 여기에 관여한 효소중 ArsC는 비소 5가를 3가로 중변화

시키는데, 이로써 비소로 오염된 광산에서 고사리와 협동한 근권-근면(Rhizosphere-rhizoplane)미생물은 생태학적 감시자로서의 역할 뿐 아니라 비소독성저감에 이용될 차세대 분자유전학적 생지표종(biomarker)으로서의 역할을 할 것으로 생각된다(Galloway et al., 2004).

2.4. 지렁이 위해성평가(Earthworms risk assessment)

지렁이는 땅속에서 토양구성분을 혼합하고 옮기는 역할을 하며, 폐광산 농경지 주변에서 오염된 토양을 비옥하게 만들고 주변 생태계의 먹이사슬에서 중요한 중간자 역할을 담당하고 있다. 이러한 중간자로서의 위치 때문에 생태계의 척추동물인 도롱뇽, 새, 두더지, 황초롱, 매, 올빼미등에게 오염물질을 옮기는 역할을 하기도 한다(최훈근, 2001; Langdon et al., 2003). Fig. 3은 비소화합물이 지렁이의 이동경로를 통해 어떻게 축적 및 비소 중변화를 일으키는 지를 보여주는 도식화한 그림이다. 지렁이는 몸의 앞과 뒤부분에 있는 화학수용체(chemoreceptor)가 있어 화학물질에 대단히 민감한데 오염된 토양에 노출될 경우 격렬하게 움직인다. 비소로 오염된 토양에서 지렁이 앞

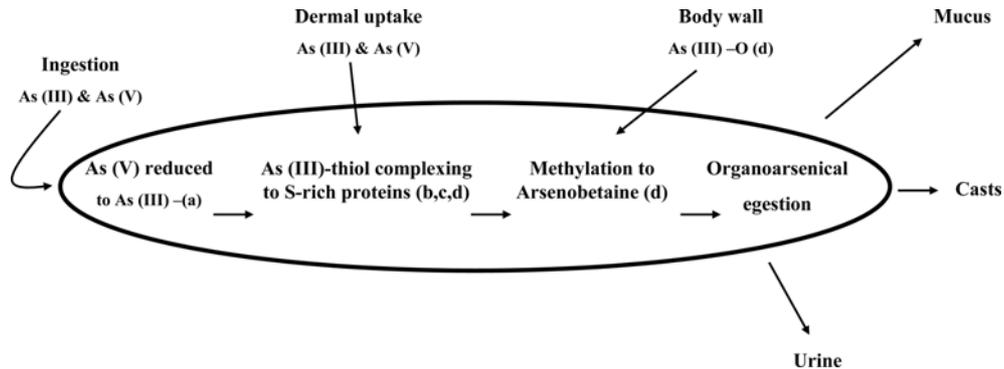


Fig. 3. Proposed metabolic pathway for arsenic through an earthworm. Solid lines used for known pathways: (a) Irgolic (1986), (b) Morgan et al.(1994), (c) Yeates et al.(1994), (d) Langdon et al.(2002).

과 뒷부분의 격렬한 움직임은 육안으로도 식별이 가능하다는 점에서 지렁이도 지표종이라 하겠다. Stephenson et al.(1997)는 오염지역의 독성 평가에 지렁이를 이용할 수 있음을 발표하였고, 또 다른 연구자들은 비소와 구리 농도가 높은 폐광산 잔재물에서도 생존하는 지렁이를 보고 하였다. 비소나트륨염에 내성을 가진 이 지렁이 종은 *Elisenia fetida*, *Lumbricus terrestris*, *L. rubellus*였으며 (Langdon et al., 1999 & 2001; Pearce et al., 2002), 지렁이의 metallothionein에서 immunoperoxidase를 발견 하였다. 지렁이의 metallothionein은 간과 같은 조직에 축적시킨후 세포내의 구리, 카드뮴, 아연, 비소의 단백질과 결합시킨 다음 배설시킨다(Stürzenbaum et al., 1998; Langdon et al., 2005; Spurgeon et al., 2004; Procházková et al., 2006). 비소 (As(III) 및 As(V))는 음식물 섭취와 피부를 통하여 지렁이 체내로 들어오는데, 체내의 환원효소에 의해서 As(V)는 As(III)로 변환된다. 한편, As(III)는 -RSH 혼합물과 결합하며 축적하고, 메틸기 (methylation), 아세노베타인(arsenobetaine)과 아세노슈가(arsenosugar) 같은 유기 비소의 형태로 존재하며 오줌 (Urine)과 같은 배설물을 통해서 체외로 배출한다. 비소 화합물은 지렁이 체내에 장기간에 걸쳐 arsenate 형태보다 독성이 낮은 형태로 격리시켜 축적된다. 유전학적으로 이런 지렁이 종(*Elisenia fetida*)의 존재 여부를 파악하는 것은 분자유전학 생지표(molecular genetic biomarker)로 이용할 수 있을 것이다.

지렁이(*Lumbricus rubellus*)가 구리나 카드뮴에 노출된 경우 미토콘드리아(mitochondria)와 리소좀(lysosomal)의 유전자(I-rRNA, mt-2, Igp)가 과발현된다(Spurgeon et al., 2004). 미토콘드리아는 시토크롬 산화효소(cytochrome-c oxidase)등으로 세포호흡에 관여하는데(Arillo et al., 1992) 리소좀내 효소의 작용은 pH 5.0에서만 가능하고

만약 pH 7.2의 환경이 되면 이 효소들은 거의 작용을 하지 않는다. Langdon et al.(2005)은 비소로 오염된 토양에서 면역과산화효소(immunoperoxidase) 탐지실험 및 비소혼합물의 수용체(Ligand) 실험에서 지렁이(*Lumbricus rubellus*)의 As⁺³-thiol(MT: metallothionein)이 발현됨을 연구하였다. 이러한 연구는 지렁이가 비소로 오염된 환경에서 먹이사슬의 중간자로서 역할을 통하여 건강한 환경을 지켜내는 지표종이 될 수 있음을 보여준다.

2.5. 도롱뇽 위해성평가(Salamander risk assessment)

천연생태계를 상징하는 도롱뇽은 청정지역에만 서식하는 먹이사슬의 중간자이면서 환경파괴의 경고를 제일 먼저 알려준다고 하겠다. 도롱뇽의 조상인 양서류는 수억년 전 민물고기에서 진화되었으며 물고기조상으로부터 페로몬(pheromone)을 물려받았고, 육상에서 살아갈 수 있는 휘발성 페로몬(volatile pheromone)을 만들어 생태계내 4종의 22 kDa의 단백질 isoform을 만들어 그 맥을 이어왔다. 한국에 서식하는 양서류강(Class Amphibia)은 2목 6과 7속 17종인데, 도롱뇽목은 도롱뇽(*Hynobius leechii*), 고리도롱뇽(*Hynobius sp.*), 제주 도롱뇽(*Hynobius quel-partensis*), 꼬리치레 도롱뇽(*Onychodactylus fischeri*), 그리고 이끼 도롱뇽(*Karsenia koreana*)이 있다(양서영, 2001; Min et al., 2006; 이해영, 1997; 차선호, 1995). (Table 3). 도롱뇽(*Hynobius sp.*)속은 한국을 포함한 만주, 중국, 대만, 타이키에 주로 있으며, 일본에서 제일 많은 종이 보고되었다. 아시아를 벗어난 지역에서는 그 크기가 보통의 1,000(새끼 돼지)-10,000(악어) 배에 이르고 색깔도 다양하며 서식처도 다르다. 도롱뇽은 청정지역에 서식하는 먹이사슬의 중간자로 환경 변화에 민감하다. 도롱뇽은 피부와 구개인두강(Buccopharyngealcavity)을 사용하여 호흡을 하는데 폐가 없어서 낙엽이나 이끼류에서 생활하

다가 몸이 마르게 되면 물속으로 들어가는 생활을 한다. 이런 이유로 토양오염과 수중의 오염을 동시에 감지 할 수 있는 지표종으로 생각되어 진다. Chang et al.(2005 & 2006)은 폐광산인 낙동광산주변에서 뒷다리가 없는 기형 도롱뇽을 발견하였는데 기형 부분의 유전학적 검사상 발암억제 유전자인 p53등의 돌연변이가 관찰되었다. 이를 토대로 정상 도롱뇽에 장기간 비소를 노출시킨 결과 몸이 틀어지고 다리발생이 안되는 기형이 생기는 것을 확인하였다. 이러한 결과는 비소오염으로 인한 생태계 위험성을 경고하는 한편 도롱뇽이 비소로 오염된 광산의 지표종이 될 수 있음을 시사한다고 하였다. 외형적인 모습 뿐 아니라 분자유전학적으로도 비소오염 검증이 가능하였는데 (Karim et al., 2001), 특히, 명봉광산에서 서식하는 도롱뇽은 지표종으로서 활용이 가능하였으며(Chang et al., 2005 & 2006) 이들 도롱뇽종은 유전자은행(NCBI Gen-Bank; DQ388472, DQ388473)에 등록되어 향후 토착종을 이용한 분자계통학적인 연구에 도움이 될 것으로 생각된다(Table 3). 이러한 결과들은 비소 및 중금속으로 오염된 폐광산을 복원하는데 도롱뇽의 생태학적 모니터링이 필수적이며, 먹이사슬의 중간자 역할을 담당하는 이유로 복

원의 성공여부를 판별할 수 있다고 하였다(Davic et al., 2004; Chang et al., 2005 & 2006; Cairns et al., 1996).

2.6. 비소내성 시스템 위해성평가(Arsenic resistance system assessment)

비소내성 시스템 평가는 비소로 오염된 생태계에 공생하는 토착미생물 지표종의 유전학적 기능을 이용한 내성 시스템으로 *arsR*, -D, -A, -B, -AB, -C, H와 *arrAB*, -A, -B이며, *aoxA*, -B, -C, D 및 *aroA*, -B이다. 비소내성시스템(*ars*)이 비소로 오염된 생태계에 미생물학적 기능들을 독성저감에 적절하게 관여하고 분자계통학적 위치를 결정한다면 지표종으로 활용할 수 있을 것이다. 환경친화적인 내성 시스템은 비소의 거동을 예측할 수도 있으며 생물학적 복원에 가장 적절한 토착미생물 탐색으로 비소로 오염된 생태평가에 지표종으로 관리될 수도 있다. *arsR*은 관리 유전자(gene)로 *arsD*, -A, -B, -AB, -C의 지도자 역할(leader gene)을 한다(Silver et al., 1996). 비소에 대한 종(species) 변화에 관여하는 산화 유전자는 *aoxA*, -B, -C, -D와 *aroA*, -B 효소가 관여하며, 환원 유전자에 관여하는 유전자는 *arsC*, *arrA*, -B가 있다. 토착미생물의 세포로

Table 3. Arsenic-contaminated environmental ecosystem of biomarker with the salamander indicator species

Amphibians	Accession no.	Experiment exposure ^a -sampling site condition	Environmental or Mine	Results	Reference
<i>Hynobius</i> sp.	AF218705*	ND	Sorak Mountain	ND	양서영 (2001)
<i>Hynobius leechii</i>	AF218703*	ND	Sorak Mountain	ND	양서영 (2001)
<i>Hynobius leechii</i> NK12-1	DQ366352	As (III); 4070ppb ^b	Nackdong Mine	Teratogenesis	Chang et al.(2005)
<i>Hynobius leechii</i> GhnNP16S-Co	DQ888042	ND	Gangchensan county Park	Teratogenesis	Chang et al.(2006)
<i>Hynobius leechii</i> GhnNP16S-A2	DQ888052	As (III); 2mM ^a	Gangchensan county Park	p53 mutation	Chang et al.(2006)
<i>Hynobius leechii</i> NK16--5	DQ388473	As (III); 1.223 ppb ^b	Myoung-Bong Mine	ND	Chang et al.(2005)
<i>Hynobius leechii</i> GhnNP16S-Acute2	DQ888046	As (III); 2mM ^a	Gangchensan county Park	Malformed	Chang et al.(2006)
<i>Hynobius leechii</i> GhnNP16S-A4	DQ888056	As (III); 0.25mM ^a	Gangchensan county Park	p53 mutation	Chang et al.(2006)
<i>Hynobius leechii</i> GhnNP16S-C4	DQ888076	As (III); 1.5mM ^a	Gangchensan county Park	p53 mutation	Chang et al.(2006)
<i>Hynobius leechii</i> GhnNP16S-D4	DQ888086	As (III); 2.0mM ^a	Gangchensan county Park	p53 mutation	Chang et al.(2006)
<i>Hynobius leechii</i> GhnNP16S-C2	DQ888072	As (III); 1.5mM ^a	Gangchensan county Park	p53 mutation	Chang et al.(2006)
<i>Hynobius leechii</i> GhnNP16S-B2	DQ888062	As (III); 1.0mM ^a	Gangchensan county Park	p53 mutation	Chang et al.(2006)
<i>Hynobius quelpartensis</i>	AF218704*	ND	Cheju Natural Environmental	ND	양서영(2001)
<i>Onychodactylus fisher</i>	AF218706*	ND	Yongmun Environmental	ND	양서영(2001)
<i>Onychodactylus fisher</i> NK16-9	DQ417190	Head (0.0093) ^b	Nackdong Mine	p53 mutation	Chang et al.(2005)
<i>Onychodactylus fisher</i> NK16-10	DQ417192	Head (0.208) ^b	Nackdong Mine	p53 mutation	Chang et al.(2005)
<i>Salamandrella keyserlingii</i>	DQ333814	ND	North Korea	ND	Berman et al.(2005)
<i>Karsenia koreana</i>	AY887135*	ND	Jangtaesan Environmental	ND	Min et al.(2005)

* : Salamanders live in the uncontaminated environmental, and may be used as a biomarker of arsenic contamination. (No treatment) ND: not detected

^a : Concentration of test exposure.

^b : Concentration of sampling site.

Table 4. Bacteria strain, their identification, Arsenic resistance system genotype and oxidation-reduction bacteria

Strain or isolate Species	Accession no.	Sampling	Redox.	Reference
<i>Pseudomonas putida</i> OS-5	AY952321	Myoung-bong Mine soil	Arsenite-oxidizing	Chang et al.(2005)
<i>Alcaligenes fecalis</i> (HLE)	AY027506	Gold Mining	Arsenite-oxidizing	Santini et al.(2002)
Arsenite-oxidizing bacterium NT-14	AY027497	Gold Mining	Arsenite-oxidizing	Santini et al.(2002)
<i>Pseudomonas putida</i> OS-1	DQ141540	Myoung-bong Mine soil	Arsenite-oxidizing	Chang et al.(2005)
<i>Pseudomonas putida</i> OS-3	AY952322	Myoung-bong Mine soil	Arsenite-oxidizing	Chang et al.(2006)
<i>Alcaligenes faecalis</i> RS-19	AY866407	Duck-um Mine soil	Arsenite-oxidizing	Chang et al.(2005)
<i>Pseudomonas putida</i> OW-16	DQ112328	Duck-um Mine sediment	Arsenite-oxidizing	Chang et al.(2005)
<i>Thermus</i> HR13	AF384168	Growler Hot Spring	Arsenite-oxidizing and arsenate respiration	Gihring et al.(2001)
Arsenite-oxidizing bacterium MLHE-1	AF406554	Mono Lake Water	Arsenite-oxidizing	Oremland et al.(2002)
<i>Chrysiogens arsenatis</i> gen. nov., sp. nov.,	X81319	Gold Mine Wastewater	Arsenate-reduction	Macy et al.(1996)
<i>Serratia marcescens</i> RS-1	DQ182332	Myoung-bong Mine soil	Arsenate-reduction	Chang et al.(2005)
<i>Pseudomonas rhizosphaerae</i> OW-3	AY866408	Myoung-bong Mine sediment	Arsenate-reduction	Chang et al.(2005)
<i>Shewanella</i> str. ANA-3	AY271310	As-treated wooden	Arsenate-reduction	Saltikov et al.(2003)
Delta proteobacterium MLMS-1	AY459365	Mono Lake Water	Arsenate-reduction	Hoefl et al.(2004)
<i>Bacillus macyae</i> sp. nov., JMM-4	AY032601	Gold Mine	Arsenate-reduction	Santniri et al.(2004)

들어와서 종 변화를 거쳐 다시 내보내는 유전자는 *arsA*, -B, -C이다(Oremland et al., 2002 & 2003; Saltiov et al., 2003; Santini et al., 2002 & 2004). 이외에도 *arsH*는 유전학적으로 기능이 알려지지 않았지만 *Yersinia* sp., *Pseudomonas* sp.의 산화 및 환원에 관여한다고 한다(Neyt et al., 1997; Chang et al., 2005). 종변화에 깊이 관여하는 미생물들은 생태학적 *ars*규칙이 있고 이 규칙들은 세계의 여러 학자들에서 보고 되고 있다(Alexander, 1964; Summers, 1978; Jernelov et al., 1975; Danielle et al., 2005; Stolz et al., 2006; Chang et al., 2006; Gihring, 2003; Macy et al., 1996; Oremland et al., 2003; Stolz et al., 2006; Cohen et al., 2006). Santini et al.(2002 & 2003)의 NT-26 미생물은 α -protein 세균의 공통조상으로부터 물려받은 분기점 균으로 유기물을 이용하여 종속영양으로 산화하고 As(III) 산화에 의하여 성장한다. Table 4에 설명되어진 국내 토착 미생물은 이미 분자 계통학적으로 위치가 결정되었으며, 비소내성균주의 산화-환원능력은 월등하고 비소로 오염된 폐광산의 비소내성시스템의 homologues는 낮다(Chang et al., 2005 & 2006).

자연계에서 비소는 어디에나 존재한다. 광산지역에서 토양내 비소의 농도는 10~100 ppm이며, 바닷물에서는 0.003 ppm이 포함되었으며 자연수에서는 1~5 ppb 정도 존재한다. 특히, 늪지대의 비소 세계평균값은 0.75 ppb이고, 뜨거운 물이 주된 황화산 지역의 평균 비소농도는 47

ppm이나 된다. 생태계 어디에나 있는 비소는 해당 지역의 토착 미생물과 공생하면서 비소의 거동 및 종(species) 변화에 역동적으로 관여한다. 비소내성 미생물을 이용한 분자지표 연구를 수행함으로써, 다양한 비소내성시스템 목록이 기호화되고 있으며, 단백질의 유전정보는 비소의 지구화학적거동 지표로서 해답을 줄 수 있을 것이다.

3. 결론 및 제언

지표종을 이용한 생체지표의 관찰은 오염정도를 예측할 뿐 아니라 오염물질이 생태계에 미치는 영향을 알아볼 수 있는 좋은 방법이며, 또한 동식물의 변화를 통해 인간에 미치는 영향을 연구하는데 좋은 자료가 된다. 본 논문에서는 비소등으로 오염된 폐광산 주변의 다양한 지표종이 설명되어졌으며, 지표종은 오염물질에 대한 내성을 가지면서 효소를 이용하여 대사할 수도 있어 이를 이용한 생물학적 복원 가능성도 있다. 이러한 분야의 응용을 위해서는 국내 오염지역에 생존하는 동물, 식물, 미생물의 database가 우선적으로 구축되어야 할 것으로 생각한다.

사 사

이 논문은 한국과학재단의 국가지정연구실 사업(과제번호: No.M1030000298-06J0000-29810) 지원으로 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- 국립산림과학원, 2004, 폐광지 오염물질 정화 및 식생복원, 학술 심포지엄자료집, 108.
- 배옥남, 이무열, 정승민, 하지혜, 정진호, 2006, 환경 오염물질 비소의 체내 대사 및 인체 위해성, *J. Environ. Toxicol.*, **21**, 1-11.
- 양서영, 김종범, 민미숙, 서재화, 강영진, 2001, Monograph of Korean amphibian (한국의 양서류), 아카데미서적.
- 우보명, 2000, 폐탄광지의 산림훼손지복구 및 폐석유실방지대책에 관한 연구, *한국환경복원녹화기술학회지*, **3**(2), 24-34.
- 이무열, 정진호, 2002, 음용수를 통한 비소 노출의 인체 안전성 평가, *J. Toxicol. Pub. Health*, **18**(2), 107-116.
- 이병무, 1999, 발암물질 노출량 산출 및 암 위해성 평가에 있어서 Biomarker의 활용, *Environ. Mut. Carcino.*, **19**(2), 95-101.
- 이혜영, 박옥이, 진정화, 오세조, 양서영, 1997, 한국산 꼬리치레 도롱뇽 *Onychodactylus fischeri*의 핵형 분석, *Kor. J. Gene.*, **19**(2), 137-142.
- 정해원, 기혜성, 박영철, 한정호, 유일재, 1996, CHO 세포에서 비소의 세포독성기전, *Environ. Mut. Carcino.*, **16**(2), 117-123.
- 차선호, 이혜영, 1995, 한국산 도롱뇽(*Hynobius leechii*) 염색체의 인형성부위(NORs)다양성에 관하여, *Kor. J. Gene.*, **17**(2), 87-98.
- 최훈근, 류재근, 2001, 토양생물 지령이를 이용한 폐기물 활용, 신광문화사.
- 홍선기, 강호정, 김은식, 김재근, 김창희, 이은주, 이재천, 이점숙, 임병선, 정연숙, 정홍학, 조학용, 2005, 생태복원공학, 라이프사이언스.
- Aposhian, H.V., 1997, Enzymatic methylation of arsenic species and other new approaches to arsenic toxicity, *Annu. Rev. Pharmacol.*, **37**, 397-419.
- Arillo, A., Melodia, F., and Marsano, B., 1992, Nitrite biotransformation by mitochondria from the earthworm *eisenia foetida* (Savigny), *Comp. Biochem. Physiol B.*, **102**(2), 209-211.
- Artursson, V., Finlay, R.D., and Jansson, J.K., 2006, Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria and their potential for stimulating plant growth, *Environ. Microbial.*, **8**(1), 1-10.
- Bates, M.N., Smith, A.H., and Hopenhayn-Rich, C., 1992, Arsenic ingestion and internal cancers: a review, *Am. J. Epidemiol.*, **135**, 462-476.
- Berg, M., Tran, H.C., Nuyen, T.C., Pham, H.V., Schertenleib, R., and Giger, W., 2001, Arsenic contamination of groundwater and drinking water in Vietnam: a human health threat, *Environ. Sci. Technol.*, **35**, 2621-2626.
- Berman, D.I., Derenko, M.V., Maliarchuk, B.A., Grzybowski, T., Kriukov, A.P., and Miscicka-Sliwka, D., 2005, Genetic polymorphism of Siberian newt (*Salamandrella keyseilingii*, Caudata, Amphibia) in its range and the cryptic species of the newt *S. schrenckii* from Primorie, *Dokl. Biol. Sci.*, **403**, 275-278.
- Brooks, R.R., 1988, Plants that hyperaccumulate heavy metals: Their role in phytoremediation, microbiology, archaeology, mineral exploration and phytomining. CAB International, Cambridge Univ. Press., Cambridge.
- Cairns, Jr., J. and Heckman, J.R., 1996, Restoration ecology: the state of an emerging field, *Annu. Rev. Ene. Environ.*, **21**, 167-189.
- Chang, P.C., 2003, Migration of Uranium in a triggered phytoextraction system, GIST, Master's degree.
- Chang, J.S., 2005, Identification and characteristics of indigenous bacteria in arsenic-contaminated soil using *ars* gene and 16S rDNA, GIST, Master's degree.
- Chang, J.S., Gu, M.B., and Kim, K.W., 2006, Arsenic effects on Salamander in arsenic-contaminated abandoned mine: Ecological assessment analysis of relationships between As-exposure and p53-biomarker, (in preparation).
- Chang, J.S. and Kim, K.W., 2006, Isolation and detoxification of a novel efflux pump of *arsB* system of arsenite oxidation, Korean Soc. Biochem. Mol. Biol., spring presentation, 226.
- Chang, J.S. and Kim, K.W., 2006, Isolation and identification of rhizosphere / rhizoplane and interactions of ferns-microbe of arsenic-contaminated abandoned mine. UNU and GIST workshop. 109.
- Chang, J.S., Lee, K.Y., Lee, J.H., and Kim, K.W., 2006, Ecological risk assessment p53-biomarker of salamander in arsenic-contaminated abandoned mine, Korean Soc. Med. Biochem. Mol. Biol. autumn presentation, 207.
- Chang, J.S., Yoon, I.H., Choe, E.Y., and Kim, K.W., 2005, Korean lungless salamander p53 gene as novel biomarker for genotoxins in arsenic-contaminated Nackdong mine areas, Korean Soc. Eco. Env. Geo., 189.
- Chang, L.W., Hisa, S.M.T., Chan, P., and Hsieh, L., 1994, Macromolecular adducts: Biomarkers for toxicity and carcinogenesis, *Annu. Rev. Pharmacol.*, **34**, 41-67.
- Chee, Y.E., 2004, An ecological perspective on the valuation of ecosystem services, *Biol. Conserv.*, **120**, 549-565.
- Chen, C.J., Hsu, L.I., Wang, C.H., Shih, W.L., Hsu, Y.H., Tseng, M.P., Lin, Y.C., Chou, W.L., Chen, C.Y., Lee, C.Y., Wang, L.H., Cheng, Y.C., Chen, C.L., Chen, S.Y., Wang, Y.H., Hsueh, Y.M., Chiou, H.Y., and Wu, M.M., 2005, Biomarkers of exposure, effect, and susceptibility of arsenic-induced health hazards in Taiwan. *Toxicol., Appl. Pharmacol.* **206**, 198-206.
- Chen, Y., Lousis, C.M., Susan, K.G., Sawicki, J.A., and O'Brien, T.G., 2000, K6/ODC transgenic mice as a sensitive model for

- carcinogen identification. *Toxicol. Lett.*, **116**, 26-35.
- Cheng, H.Y., Li, P., David, M., Smithgall, T.E., Feng, L., and Lieberman, M.W., 2004, Arsenic inhibition of the JAK-STAT pathway. *Oncogene*, **23**, 3603-3612.
- Chou, W.C., Hawkins, A.L., Barrett, J.F., Griffin, C.A., and Dang, C.V., 2001, Arsenic inhibition of telomerase transcription lead to genetic instability. *J. Clin. Invest.*, **108**, 1541-1547.
- Cohen, R.R.H., 2006, Use of microbes for cost reduction of metal removal from metals and mining industry waste streams, *J. Clean. Prod.*, **14**, 1146-1157.
- Danielle Rhine, E., Garcia-Dominguez, E., Phelps, C., and Young, L.Y., 2005, Environmental microbe can speciate and cycles arsenic, *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 9569-9573.
- Davic, R.D. and Welsh Jr, H.H., 2004, On the ecological roles of salamander, *Annu. Rev. Ecol. Evol. S.*, **35**, 405-434.
- Dhankher, O.P., Li, Y., Rosen, B.P., Shi, J., Salt, D., Senecoff, J.F., Sashti, N.A., and Meagher, R.B., 2002, Engineering tolerance and hyperaccumulation of arsenic in plants by combining arsenate reductase and γ -glutamylcystein synthetase expression, *Nat. Biotechnol.*, **20**, 1140-1145.
- Douclet, M. and Terry, N., 2002, Pumping out of arsenic, *Nat. Biotechnol.*, **20**, 1094-1095.
- Elizabeth, P.S., 2005, Phytoremediation, *Annu. Rev. Plant Biol.*, **56**, 15-39.
- Filippova, M. and Duerksen-Hughes, P.J., 2003, Inorganic and dimethylated arsenic species induce cellular p53, *Chem. Res. Toxicol.*, **16**, 423-431.
- Francesconi, K., Visoottiviset, P., Sridokchan, W., and Goessler, W., 2002, Arsenic species in an arsenic hyperaccumulating fern, *Pityrogramma calomelanos*: a potential phytoremediator of arsenic-contaminated soils, *Sci. Total Environ.*, **284**, 27-35.
- Galloway, T.S., Brown, R.J., Brown, M.A., Dissanayake, A., Lowe, D., Jones, M.B., and Depledge, M. H., 2004, A multi-biomarker approach to environmental assessment. *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 1723-1731.
- Gary, K., 2003, Arsenic, cancer, and thoughtless policy, *Ecotox. Environ. Safe.*, **55**, 139-142.
- Germole, D.R., Spalding, J., Yu, H.S., Chen, G.S., Simeonova, P.P., Humble, M.C., Bruccoleri, A., Boorman, G.A., Foley, J.F., Yoshida, T., and Luster, M.I., 1998, Arsenic enhancement of skin neoplasia by chronic stimulation of growth factors, *Am. J. Pathol.*, **153**(6), 1775-1785.
- Gihring, T.M. and Banfield, J.F., 2001, Arsenite oxidation and arsenate respiration by a new *Thermus* isolate, *FEMS Microbiol. Lett.*, **204**, 355-340.
- Glick, B.R., 2003, Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment, *Biotechnol. Adv.*, **21**, 383-393.
- Haddow, A., 1955, The biochemistry of cancer, *Annu. Rev. Biochem.*, **24**, 689-742.
- Harvey, C.F., Swartz, C.H., Badruzzaman, A.B.M., Keon-Blute, N., Yu, W., Ashraf Ali, M., Jay, J., Beckie, R., Niedan, V., Brand, D., Oates, P.M., Ashfaq, K.N., Islam, S., Hemond, H.F., and Ahmed, F., 2002, Arsenic mobility and groundwater extraction in Bangladesh, *Science*, **298**, 1602-1606.
- Hoelt, S.E., Kulp, T.R., Stolz, J.F., Hollibaugh, J.T., and Oremland, R.S., 2004, Dissimilatory arsenate reduction with sulfide as electron donor: experiments with Mono Lake water and isolation of strain MLMS-1, a chemoautotrophic arsenate respirer, *Appl. Env. Microbiol.*, **70**(5), 2741-2747.
- Hood, R.D. and Pike, C.T., 1972, BAL alleviation of arsenate-induced teratogenesis in mice, *Experimental Teratology*, **6**(2), 235-237.
- Huang, C., Ke, Q., Costa, M., and Shi, X., 2004, Molecular mechanisms of arsenic carcinogenesis. *Mol. Cell. Biochem.*, **255**, 57-66.
- Irgolic, K.J., 1986, Arsenic in environment. In: Xavier, A.V. (Ed.), *Frontiers in bioinorganic chemistry*. V.C.H. Verlagsgesellschaft, *Weinheim, Germany*, 308-399.
- Ishinishi, N., Yamamoto, A., Hisanaga, A., and Inamasu, T., 1983, Tumorigenicity of arsenic trioxide to the lung in syrian golden hamsters by intermittent instillations, *Cancer Lett.*, **21**(2), 141-147.
- Jernelov, A. and Martin, A.L., 1975, Ecological implications of metal metabolism by microorganisms, *Annu. Rev. Microbiol.*, **29**, 61-77.
- Kalman, D.A., Hughes, J., Belle, G.v., Burbacher, T., Bolgiano, D., Coble, K., Karle Mottet, N., and Karim, B., Dany, R., Soussi, T., 2001, Regulation of the cell cycle by p53 after DNA damage in an amphibian cell line, *Oncogene* **20**, 3766-3775.
- Katsnelson, B.A., Neizvestnova, Y.M., and Blokhin, V.A., 1986, Stomach carcinogenesis induction by chronic treatment with arsenic (Russ.) *Vopr. Onkol.* **32**, 68-73.
- Kitchin, K.T., 2001, Recent advances in arsenic carcinogenesis: modes of action, animal model systems, and methylated arsenic metabolites, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **172**, 671-679.
- Langdon, C.J., Meharg, A.A., Feldmann, J., Balgar, T., Charnock, J., Farquhar, M., Pearce, T.G., Semple, K.T., and Cotter-Howells, J., 2002, Arsenic-speciation in arsenate-resistant and non-resistant population of the earthworm, *Lumbricus rubells*, *J. Environ. Mon.*, **4**, 608-630.
- Langdon, C.J., Pearce, T.G., Meharg, A.A., and Semple, K.T., 2003, Interactions between earthworms and arsenic in the soil environmental: a review, *Environ. Poll.*, **124**, 361-373.

- Langdon, C.J., Pearce, T.G., Meharg, A.A., and Semple, K.T., 1999, Resistance to arsenic-toxicity in a population of the earthworm *Lumbricus rubellus*, *Soil Biol. Biochem.*, **31**, 1963-1967.
- Langdon, C.J., Pearce, T.G., Meharg, A.A., and Semple, K.T., 2001, Survival and behaviour of the earthworms *Lumbricus rubellus* and *Dendrodrilus rubidus* from arsenate-contaminated and non-contaminated sites, *Soil Biol. Biochem.*, **33**, 1239-1244.
- Langdon, C.J., Winters, C., Stürzenbaum, S.R., Morgan, A.J., Charnock, J.M., Meharg, A.A., Pearce, T.G., Lee, P.H., and Semple, K.T., 2005, Ligand arsenic complexation and immunoperoxidase detection of metallothionein in the earthworm *Lumbricus rubellus* inhabiting arsenic-rich soil, *Environ. Sci. Technol.*, **39**, 2042-2048.
- Links, J.M. and Kensler, T.W., Groopman, J.D., 1995, Biomarkers and mechanistic approaches in environmental epidemiology, *Annu. Rev. Publ. Health*, **16**, 83-103.
- Ma, L.Q., Komar, K.M., Tu, C., Zhang, W., Cai, Y., and Kenneley, E.D., 2001, A fern that hyperaccumulates arsenic, *Nature*, **409**, 579.
- Macy, J.M., Nunan, K., Hagen, K.D., Dixon, D.R., Harbour, P.J., Cahull, M., and Sly, L.I., 1996, *Chrysiogenes arsenatis* gen. nov., sp. nov., a new arsenate-respiring bacterium isolated from gold mine wastewater, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **46**(4), 1153-1157.
- Min, M.S., Yang, S.Y., Bonett, R.M., Vieites, D.R., Brandon, R.A., and Wake, D.B., 2005, Discovery of the first Asian plethodontid salamander, *Nature*, **435**, 87-90.
- Morikawa, H. and Erkin, O.C., 2003, Basic processes in phytoremediation and some applications to air pollution control, *Chemosphere*, **52**, 1553-1558.
- Morgan, A.J., Winters, C., and Yarwood, A., 1994, Speed-mapping of arsenic distribution in the tissues of earthworms inhabiting arsenious soil, *Cell Biol. Inter.*, **18**, 911-914.
- Ng, J.C., Seawright, A.A., Qi, L., Garnett, C.M., Moore, M.M., and Chriswell, B., 1998, Tumors in mice induced by chronic exposure of high arsenic concentration in drinking water: in Book of abstracts of the third international conference on arsenic exposure and health effects, July 12-15, San Diego, CA., **28**.
- Nguyen, V.A., 2006, Arsenic contamination in groundwater of Vietnam, GIST, Master's degree.
- Niemi, G.J. and McDonald, M.E., 2004, Application of ecological indicators, *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.* **35**, 89-111.
- Oremland, R.S., Hoefft, S.E., Santini, J.M., Bano, N., Hollibaugh, R.A., and Hollibaugh, J.T., 2002, Anaerobic oxidation of arsenite in Mono Lake water and by a facultative, arsenite-oxidizing chemoautotroph, strain MLHE-1, *Appl. Env. Microbiol.*, **68**(10), 4795-4802.
- Oremland, R.S. and Stolz, J.F., 2003, The ecology of arsenic, *Science*, **300**, 939-944.
- Pershagen, G., Nordberg, G., and Bjorklund, N.E., 1984, Carcinomas of the respiratory tract in hamsters given arsenic trioxide and/or benzo(a)pyrene by the pulmonary route, *Environ. Res.*, **34**, 227-241.
- Popovicova, J., Moser, G.J., Goldsworthy, T.L., and Tice, R.R., 2000, Carcinogenicity and co-carcinogenicity of sodium arsenite in p53^{+/−} male mice, *Toxicologist* **54**, 134.
- Pearce, T.G., Langdon, C.J., Meharg, A.A., and Semple, K.T., 2002, Yellow earthworms: distinctive pigmentation associated with arsenic-and copper-tolerance in *Lumbricus rubellus*, *Soil Biol. Biochem.*, **34**, 1833-1838.
- Procházková, P., Ceilerová, M., Felsberg, J., Josková, R., Beschin, A., Baetselier, P.D., and Bilej, J., 2006, Relationship between hemolytic molecules in Eisenia fetida earthworms, *Dev. Comp. Immunol.*, **30**, 381-392.
- Rossman, T.G., 2003, Mechanism of arsenic carcinogenesis: an integrated approach, *Mut. Res.*, **533**, 37-65.
- Salim, E.I., Wanibuchi, H., Yamamoto, S., Morimura, K., and Fukushima, S., 1999, Carcinogenicity of dimethylarsinic acid (DMAA) in p53 knockout and wild type C57BL/6T mice, *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.*, **40**, 2335.
- Saltikov, C.W. and Newman, D.K., 2003, Genetic identification of a respiratory arsenate reductase, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **100**(19), 10983-10988.
- Santini, J.M., Sly, L.I., Wen, A., Comrie, D., Wulf-Durand, P.D., and Macy, J.M., 2002, New arsenite-oxidizing bacteria isolated from Australian gold mining environments-phylogenetic relationships, *Geomicrob. J.*, **19**, 67-76.
- Santini, J.M., Steinmann, Iii C.A., and Vanden Hoven, R.N., 2004, *Bacillus macyae* sp. nov., an arsenate-respiring bacterium isolated from an Australian gold mine, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **54**, 2241-2244.
- Silver, S. and Misra, T.K., 1988, Plasmid-mediated heavy metal resistances, *Annu. Rev. Microbiol.*, **42**, 717-743.
- Silver, S., 1996, Bacterial heavy metal resistance: new surprises. *Annu. Rev. Microbiol.* **50**, 753-789.
- Sparks, D.L., 2003, Environmental soil chemistry, Academic press, Chapter 1, 1-41.
- Spiegelman, S. and Landman, O.E., 1954, Genetics of microorganisms, *Annu. Rev. Microbiol.*, **8**, 181-236.
- Spurgeon, D.J., Stürzenbaum, S.R., Svendsen, C., Hankard, P.K., Morgan, A.J., Weeks, J.M., and Kille, P., 2004, Toxicological, cellular and gene expression responses in earthworms exposed to copper and cadmium, *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.*, **138**, 11-21.

- Srivastava, M., Ma, L.Q., Singh, N., and Singh, S., 2005, Antioxidant responses of hyper-accumulator and sensitive fern species to arsenic, *J. Exp. Bot.*, **56**(415), 1335-1342.
- Stephenson, G.L., Kaushik, A., Kaushil, N.K., Solmon, K.R., Steele, T., and Scroggins, R.P., 1997, Use of an avoidance-response test to assess the toxicity of contaminated soils to earthworms, In: Sheppard, S.C., Bembridge, J.D., Holmstrup, M., Posthuma, L., (Eds.), *Advances in Earthworm ecotoxicology*, SETAC technical publications series, Pensacola, Florida, USA, 67-81.
- Stolz, J.F., Basu, P., Santini, J.M., and Oremland, R.S., 2006, Arsenic and selenium in microbial metabolism, *Amu. Rev. Microbiol.*, **60**, 107-130.
- Stürzenbaum, S.R., Georgien, O., John Mogan, A., and Kille, P., 2004, Cadmium detoxification in earthworms: from genes to cells, *Environ. Sci. Technol.*, **38**, 6283-6289.
- Stürzenbaum, S.R., Kille, P., and Morgan, A.J., 1998, The identification, cloning and characterization of earthworm metallothionein, *FEBS Lett.*, **431**, 437-442.
- Summers, A.O. and Silver, S., 1978, Microbial transformations of metals, *Amu. Rev. Microbiol.*, **32**, 637-672.
- Tchounwou, P.B., Centeno, J.A., and Patlolla, A.K., 2004, Arsenic toxicity, mutagenesis, and carcinogenesis-a health risk assessment and management approach, *Mol. Cell. Biochem.*, **255**, 47-55.
- US EPA, 2001, 40CFR Parts 9, 141 and 142, national primary drinking water regulations, Arsenic and clarifications to compliance and new source contaminants monitoring, Final rule, Fed. Reg. **66**(14), 6975-7066.
- Waalkes, M., Liu, J., Ward, J.M., and Diwan, B.A., 2004, Animal models for arsenic carcinogenesis: inorganic arsenic is a transplacental carcinogen in mice, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **198**, 377-384.
- Wang, G., 1984, Arsenic poisoning from drinking water in Xinjiang, *Chin. J. Prevent. Med.*, **18**, 105-107.
- Wang, J.P., Qi, L., Moore, M.R., and Ng, J.C., 2002, A review of animal models for the study of arsenic carcinogenesis. *Toxicol. Lett.*, **133**, 17-31.
- Wanibuchi, H., Salim, E.I., Kinoshita, A., Shen, J., Wei, M., Morimura, K., Yoshida, K., Kuroda, K., Endo, G., and Shoji, F., 2004, Understanding arsenic carcinogenicity by the use of animal models. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **198**, 366-376.
- Xia, H. and Cai, X., 2002, Ecological restoration technologies for mined lands: a review, *Ying Yong Sheng Tai Xue Bao*, **13**(11), 1471-1417.
- Yamamoto, S., Konish, Y., Matsuda, T., Murai, T., Shibata, M.A., Matsui-Yuasa, I., Otani, S., Kuroda, K., Endo, G., and Fukushima, S., 1995, Cancer induction by an organic arsenic compound, dimethylarsinic acid (cacodylic acid), in F344/DuCrj rats after pretreatment with five carcinogens, *Cancer Res.*, **55**(6), 1271-1276.
- Yeates, G.W., Orchard, V.A., Speir, T.W., Hunt, J.L., and Hermans, M.C.C., 1994, Impact of pasture contamination by copper, chromium, arsenic timber preservative on soil biological activity, *Biol. Fertil. Soil.*, **18**, 200-208.
- Yu, H.S., Liao, W.T., and Chai, C.Y., 2006, Arsenic carcinogenesis in the skin, *J. Biochem. Sci.*, In press.