

갯메꽃 뿌리로부터 분리된 내생진균의 식물생장촉진활성

유영현¹ · 윤혁준¹ · 우주리¹ · 서영교¹ · 신재호² · 추연식³ · 이인중² · 김종국^{1*}
¹경북대학교 생명공학부, ²경북대학교 응용생명과학부, ³경북대학교 생물학과

Received : September 19, 2011 / Revised : November 2, 2011 / Accepted : November 9, 2011

Plant Growth Promotion Activity of Endophytic Fungi Isolated from the Roots of *Calystegia soldanella*. You, Young-Hyun¹, Hyeokjun Yoon¹, Ju-Ri Woo¹, Yeonggyo Seo¹, Jae-Ho Shin², Yeon-Sik Choo³, In-Jung Lee², and Jong-Guk Kim^{1*}. ¹Department of Life Sciences and Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea, ²School of Applied Biosciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea, ³Department of Biology, College of National Sciences, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea – Eight endophytic fungal strains were isolated from the roots of *Calystegia soldanella* from the western coast of South Korea. The culture filtrate of the eight endophytic fungi were applied to waito-c rice seedlings in order to verify potential plant growth promotion activities. The results of bioassay indicated that the Cs-9-7 fungal strain possessed the highest plant growth promotion activity. Fungal culture filtrates were analyzed to verify secondary metabolites using gas chromatography and mass spectroscopy with selected ion monitoring (GC/MS-SIM). The culture filtrate of the Cs-9-7 fungal strain was confirmed to contain gibberellins GA3 (1.229 ng/mL), GA4 (3.535 ng/mL), GA7 (1.408 ng/mL) and GA12 (0.378 ng/mL). Polymerase chain reactions (PCR) were performed so as to determine the internal transcribed spacer (ITS) regions for the identification of isolated strains with universal primers ITS-1 and ITS-4. The Cs-9-7 fungal strain, isolated from the root of *C. soldanella*, has been named *Aspergillus tubingensis* Cs-9-7.

Keywords: *Aspergillus tubingensis*, *Calystegia soldanella*, endophytic fungi, gibberellin, plant growth promotion

서 론

해안사구(coastal sand dune)는 해류와 연안류에 의해서 해안선을 따라 쌓인 모래언덕으로, 물 부족, 빠른 지형변화, 강한 바람, 강한일조량, 염도 등으로 인해 매우 열악한 환경조건을 가지고 있어 식물들의 생육에 부적합하다. 그러나 특이적인 환경지역에 자생하는 식물들이 있으며, 생태적 자원 및 관광자원으로서 상당히 중요시되고 있다. 최근에는 환경보전 등으로 인하여 점차적으로 세계적인 주목을 받고 있으며, 사구지역의 난개발과 오염, 훼손 등이 심하게 발생하고 있어서 사구식물들을 이용한 사구의 보호가 필요하게 되었다[16, 21]. 특히 해안지역의 특성과 육상지역의 지리적 생태적 특성이 공통적으로 나타나고 있으며, 두 지역의 전이적인 특성을 나타내고 있는 차별적인 생태계로서 해안사구에서만 볼 수 있는 식물 종들이 서식하고 있기 때문에 생태학적인 관점뿐 아니라, 자원보존에서의 관점 및 여러 측면에서 연구와 관심이 집중되고 있다[3, 5]. 최근에는 사구식

물들의 보호와 환경 보존을 위하여 사구식물의 발아, 개화 및 성장에 대한 연구와 식물과 공생, 공존하는 미생물들에 대한 연구가 진행되고 있으며[9, 11, 12, 13], 내생진균의 이차대사산물 규명 및 새로운 균주의 개발 등으로 사구식물의 증식과 생장이 사구환경의 보호를 위해서 상당히 중요하다는 것이 알려졌다[9, 13]. 그러나 해안미생물에 관한 연구는 토양으로부터 분리된 균집 분석 등이 다소 이루어져 있지만, 해안사구에 자생하는 해안사구식물과 상호관계에 있는 내생진균(endophytic fungi)의 연구는 거의 이루어져 있지 않다.

내생진균은 식물과 공생하며 식물생장에 중요한 역할을 한다고 보고되고 있으며, GA(gibberellin), IAA(auxin), ABA(abscisic acid) 등의 식물호르몬을 생산하는 균주 및 이를 이용한 생물학적 제제에 대한 연구도 증가 하고 있다[13, 14]. 그리고 GA는 식물생장호르몬으로서 diterpenoid 복합체로서, 식물의 성장, 개화촉진, 종자의 발아, 줄기신장, 과육의 성숙 등을 조절한다고 보고되었다[4, 8, 13, 19]. 1920년대에 bakanae 병의 원인균인 *Gibberella fujikuroi*를 일본의 식물병리학자 Kurosawa가 최초로 발견 하였으며, 1935년에 Yabuta와 Sumiki에 의하여 식물생장물질이 분리되었다[17]. GA는 *G. fujikuroi* 외에도 *Phaeosphaeria* sp. L487, *Neurospora crassa*, *Pseudomonas* sp., *Paceloma manihoticola*,

*Corresponding author

Tel: +82-53-950-5379, Fax: +82-53-955-5379

E-mail: kimjg@knu.ac.kr

Penicillium sp. 등에서 생산된다고 알려져 있으며, 원핵미생물과 식물뿐 아니라 진핵미생물에서도 생산 되어지고 있다 [1, 8-10, 18, 19]. GA는 현재까지 136 종류가 알려져 있으며, 이들 중에서 GA₁, GA₃, GA₄ 와 GA₇이 식물생장촉진활성을 가짐이 밝혀졌으며, 미생물이 생산하는 이차대사산물로 알려져 있다[2, 3, 11].

본 연구에서는 갯메꽃(*C. soldanella*)의 뿌리내부에 서식하는 진균류를 분리하고, 이들 균주의 배양여액을 이용하여 식물생장촉진활성을 확인하고, 내생진균의 배양여액을 분석하였으며, 마지막으로 분리된 균주들을 동정하였다.

재료 및 방법

실험 균주 및 식물시료

서해안에 자생하는 해안식물인 갯메꽃을 이용하였다. 그리고 미생물 샘플은 갯메꽃의 뿌리로부터 순수 분리한 내생진균들을 사용하였고, *G. fujikuroi*(KCCM 12329) 균주는 한국미생물보존센터(KCCM)로부터 분양받아서 대조구(positive control)로 사용하였으며[13, 18], 식물생장 촉진활성 검정을 위하여 난장이벼(waito-c rice)를 사용하였다.

내생진균의 분리 및 배양조건

해안식물의 뿌리로부터 토양을 모두 제거하고, 계면활성제인 Tween 80을 가하고 10분간 교반한 후에 증류수로 세척하였다. 그리고 표백제인 Perchloric acid 1%에 10분간 2회 교반 후에 증류수로 세척하고, 수분을 제거한 후에 2~3 cm 길이로 절단하여 실험재료로 사용하였다. 그리고 갯메꽃에서 내생진균들을 분리하기 위하여 내생균들을 분리하기 위하여 스트렙토마이신(streptomycin) 80 ppm이 포함된 Hagem minimal medium을 사용하여 25°C에서 배양하였으며[20, 22], potato dextrose agar(PDA) plate에 계대배양하여 순수 분리하였다. 식물생장촉진활성 검정을 위하여 분리된 내생진균들은 glucose와 peptone이 1% 포함된 Czapek broth medium(CBM) 50 mL에 접종하여 25°C에서 180 rpm의 조건으로 진탕배양하여 실험재료로 준비하였다[4, 13, 19].

내생진균은 DNeasy Plant mini kit(QIAGEN)를 이용하여 genomic DNA를 추출하였다[11, 12, 20]. 추출된 genomic DNA는 universal primer인 ITS1(5'-TCC GTA GGT GAA CCT GCG G-3')과 ITS4(5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3')를 사용하여 rDNA-ITS 영역을 증폭하였다. PCR 조건은 최종농도 10 mM Tris-HCl(pH 8.5), 40 mM KCl, 1.5 mM MgCl₂, 200 nM dNTPs, 10 pmol의 primer 그리고 0.1 unit의 Ex-Taq DNA polymerase(Takara)를 사용하였다. 반응조건은 pre-denaturation(95°C, 2 min), denaturation(95°C, 30 sec), annealing(54.5°C, 1 min), extension(72°C, 1 min), total cycles(35 cycles) 그리고 final extension(72°C, 7 min)으로 수행하였으며, 증폭된 PCR 산물은

1.5% Agarose gel에서 전기영동 후, Ethidium bromide (EtBr)로 15분 염색하여 UV transilluminator에서 밴드를 확인하였다[13, 17]. 그리고 증폭된 단편들은 QIAquick PCR purification kit(Qiagen Inc., Germany)를 사용하여 정제하였으며, ABI PRISM BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit(PE Biosystems, USA)를 사용하였고, DNA 단편들은 ABI 310 DNA sequencer(Perkin Elmer, New Jersey, USA)를 사용하여 염기서열을 결정하였다[14]. 그리고 ClustalX로 다중정렬을 수행하였고, Lasergene 7과 BioEdit 프로그램을 사용하여 염기서열을 정리하였다. 그리고 내생진균 계통분석은 MEGA 4.1프로그램 Neighbor-Joining(NJ) 방법으로 분석하였다[13, 15].

염생식물에서 분리한 내생진균의 분자적인 동정을 위하여 rDNA-ITS 영역의 염기서열을 blastn 프로그램을 이용하여 분석하였고, GenBank database에 저장되어있는 균류들의 배열과 균류들을 분석하였다[12, 13].

분리균주의 식물생장 촉진활성

식물생장촉진활성 검정에는 난장이벼를 사용하였고, uniconazol 20 ppm과 스포탁을 24시간 처리하여 발아한 난장이벼를 water agar(0.6%)에 파종하여 식물생장촉진실험 재료로 준비하였다. 그리고 CBM에 진탕배양한 *G. fujikuroi*와 내생진균들은 filter paper(Whatman)를 사용하여 내생진균 배양액을 여과하였고, 배양여액(CB: culture filtrate) 30 mL을 동결건조를 5~7일 수행하였으며, 완전히 동결건조된 배양여액은 1 mL의 멸균증류수를 처리하여, 30배 농축되게 만들어 실험재료로 준비하였다[6, 11, 12]. 그리고 CBM도 같은 조건으로 만들어 실험재료로 사용하였다.

식물시료인 난장이벼 유묘의 이엽기 엽액 부분에 내생진균의 배양여액(30배 농축) 10 µL를 처리하여 7일간 유묘의 생장을 확인하여 지상부길이(shoot length)와 식물전체길이(plant length)를 측정하였다[11-13, 19]. 통계처리는 실험으로부터 얻어진 결과를 SPSS version 18.0을 이용하여 일원 배치분산분석(ANOVA)을 통하여 기술통계 값을 확인하였고, 사후검정은 Duncan's multiple range test(DMRT)의 방법을 이용하여 유의확률 $p < 0.05$ 수준에서 비교 분석하였다.

High-performance liquid chromatography(HPLC)를 이용한 배양액의 분석

내생진균 배양여액을 membrane filter로 여과시킨 후, HCl을 사용하여 pH를 2.5로 조절하였고, 내부표준물질로는 20 ng의 [17, 17-²H₂] GAs를 추출하기 전 배양여액에 첨가하였다. 배양여액에 동일한 양의 ethyl acetate를 첨가하여 분획한 후 ethyl acetate를 휘발시키고 methanol 60%로 희석한 후, pH를 8.3으로 조정하였다. 시료는 C₁₈ column(90-130 µm, 60 pore size, Altech)과 Celite/SiO₂ column(용매 formic acid로 포화된 ethyl acetate:hexane = 95:5)을 이용하여 pH

8.5±0.5로 조정하고 인산원충용액을 이용하여 분획한 후, 여액(인산원충용액)에 PVPP를 처리하여 진탕하였다. 농축한 잔사를 methanol에 용해시켜 0.2 µm membrane filter로 여과한 후 분석시료로 사용하였다[7, 13, 16].

내생진균이 생산하는 이차대사산물의 분석을 확인하기 위하여 HPLC column은 µ Bondapak C₁₈ column(3.9×300 mm)을 사용하였으며 GAs는 acetic acid 1%, methanol 28%, methanol 100% 농도구배에 의하여 분리 하도록 하였고, 유속은 분당 1.5 mL로 총 50분획으로 나누었다. 그리고 liquid scintillation spectrometry를 이용하여 ³H-GA를 표준 물질로 사용하여 retention time을 확인하였다.

Gas Chromatography/Mass Spectrometer(GC/MS)에 의한 분석

진조한 각 GA의 분획을 100% methanol에 용해하여 동일한 GA들을 포함한 분획을 추가하여 1 mL의 reaction vial에 각각 분주하여 40°C 조건으로 질소가스로 고정화하였다. 각 GA분획 중에서 불순물이 많은 분획은 NH₂ PreSep extraction cartridge를 사용하여 불순물 제거 후에 각각 분주 하도록 하였다. GAs는 2회에 걸쳐 ethereal diazomethane으로 methyl ester로 유도한 후 질소가스로 고정화 하였다. Sample은 dichloromethane에 용해시켜서 1 µL를 30 m×0.25 mm (i.d.), 0.25 µm film thickness HP-1 capillary column이 설치된 GC/MS에 주입하였다[7, 13, 16].

GAs의 정량 분석

5973 Network Mass Selective Detector(Hewlett Packard)가 설치된 GC/MS를 사용하였으며 data는 HP5970C Chemstation(Hewlett Packard)을 사용하여 처리 하였다. 정성과 정량 분석은 hydrocarbon standard를 이용하여 KRI value를 나타냈으며, 각 GA와 [²H₂] GA internal standards(obtained from Prof. Lewis N. Mander, Australian National University, Canberra, Australia)의 3개의 ion mass를 비교하여 정량 분석하였다[7, 13, 16].

결과 및 고찰

식물생장촉진활성 검정

식물생장 촉진활성을 확인하기 위하여 내생진균 배양여과액을 난장이벼에 3반복으로 처리하였으며, 갯메꽃에서 분리된 collection No. Cs-9-7의 배양여과액을 처리하였을 때, 난장이벼의 생장을 가장 효과적으로 촉진하는 것을 확인 할 수 있었으며 지상부길이와 식물체길이를 비교하였을 때[12, 13], 처리구인 *G. fujikuroi* 배양여과액과 활성이 비슷한 것을 확인 할 수 있었다. 그리고 평균값에서 조금 차이가 있었지만, 사후검정인 DMRT를 유의확률 $p < 0.05$ 수준에서 분석하여 이용하였을 때[7], 통계적으로 같은 그룹으로 포함

Table 1. Effect of endophytic fungi on growth attributes of the waito-c rice.

Fungal isolates	Shoot length (cm shoot ⁻¹)	Plant length (cm plant ⁻¹)
D. water*	5.9 ^{dc} ± 0.2	11.4 ^{dc} ± 0.8
Czapek	6.2 ^{dc} ± 0.6	12.6 ^{cd} ± 0.9
<i>G. fujikuroi</i> **	10.6 ^a ± 0.4	19.3 ^a ± 0.5
Cs-4-1	6.7 ^{cd} ± 0.6	11.2 ^d ± 1.0
Cs-4-5	7.4 ^b ± 0.5	15.4 ^b ± 0.8
Cs-9-6	7.0 ^{bcd} ± 1.0	15.0 ^b ± 11.2
Cs-9-7	10.4 ^a ± 0.4	20.0 ^a ± 0.5
Cs-12-1	7.9 ^b ± 1.1	13.1 ^c ± 1.0
Cs-13-2	6.0 ^{dc} ± 0.8	12.8 ^c ± 1.0
Cs-13-4	5.5 ^c ± 0.6	10.5 ^e ± 1.0
Cs-13-5	7.2 ^{dc} ± 1.7	10.8 ^e ± 1.0

A 10 µL of lyophilized fungal culture filtrates were treated to waito-c rice seedlings after 7 days in the dark condition. The number represents the mean of three replicated experiments.

^{abcde}Data having common letters are not significantly different at $p < 0.05$ level by the DMRT.

*Negative control (Distilled water)

**Positive control (Wild type *G. fujikuroi*)

되었고, 비교분석적인 차이가 비슷한 것을 확인 할 수 있었다(Table 1).

이차대사산물(secondary metabolite)의 정량분석

엽생식물에서 분리한 내생진균이 생산하는 식물호르몬을 분석하였다. 그 결과, 다양한 GAs를 생산하는 것을 확인 할 수 있었으며, Cs-9-7 균주는 GA₃(1.229 ng/mL), GA₄(3.535 ng/mL), GA₇(1.409 ng/mL), GA₁₂(0.379 ng/mL)를 생산하는 것을 확인하였다. 그리고 많은 양을 생산하는 GA₄와 GA₇의 GC-MS 그래프는 Fig. 1에 따라 나타내었다(Fig. 1). Cs-9-7 균주가 생산하는 GA₃는 대조구와 비슷하게 생산하는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 GA₄와 GA₇ 및 GA₁₂는 대조구 보다 많은 양을 생산하는 것을 확인할 수 있었다(Fig. 2).

내생진균의 분리 및 동정

갯메꽃으로부터 분리된 내생진균은 형태적으로 선별되었으며, 자낭속에 자낭포자를 형성하는 균류들을 확인할 수 있었다. 그리고 내생진균은 *Penicillium* 속, *Aspergillus* 속, *Paraphoma* 속이 분리되었다. 그리고 분리된 내생진균은 8종의 내생진균이 동정되었고, 모두 자낭균문(ascomycota)에 속하는 것이 확인되었다. 내생진균 중에는 Trichocomaceae 과에 속하는 *Penicillium* 속이 가장 많이 분포하고 있는 것이 확인 되었고, 분리된 내생진균의 유연관계를 확인하기 위하여 계통분석을 수행하였다[7, 13]. 그리고 내생진균의 염기서열을 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 GenBank에 등록하여 accession No.를 제공받았다

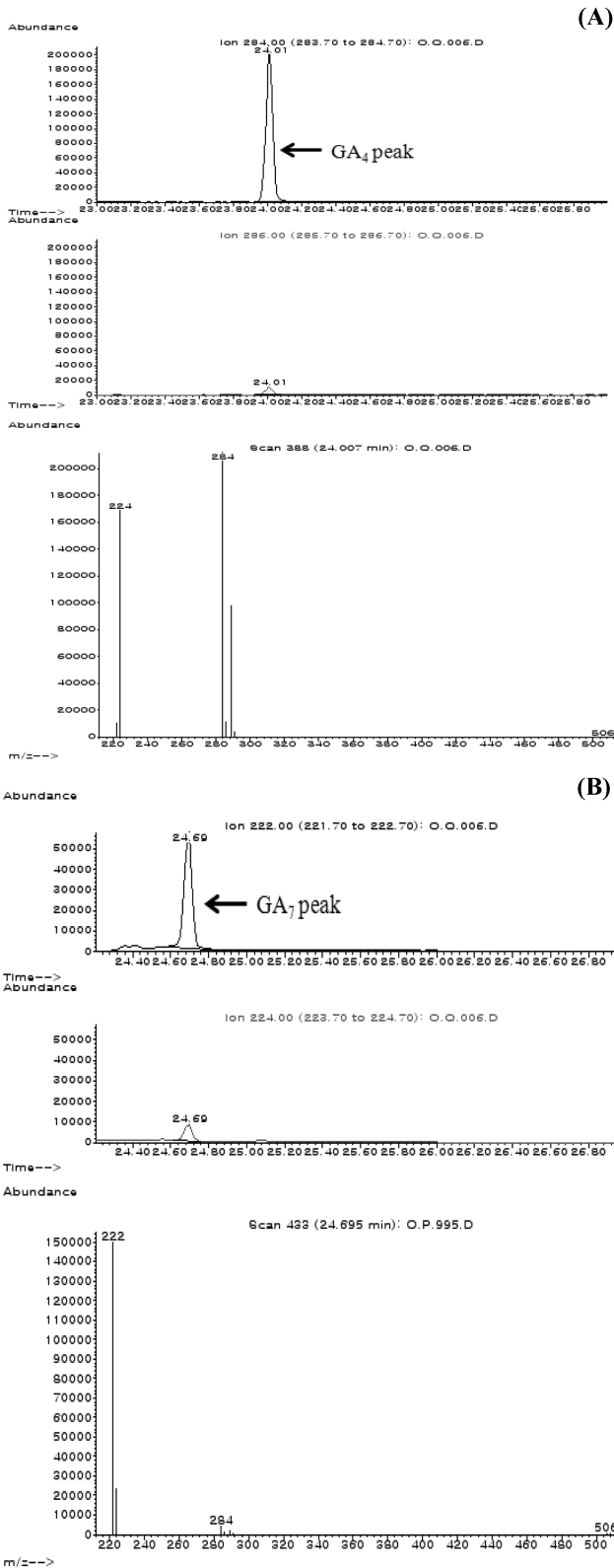


Fig. 1. The GC-MS SIM spectra for GAs in fungal culture filtrate of the *A. tubingensis* Cs-9-7. Arrow indicates the peak of fungal GA₄ and GA₇ that coincides with that of internal standard GAs. (A) The GC-MS SIM spectra of GA₄, (B) The GC-MS SIM spectra of GA₇.

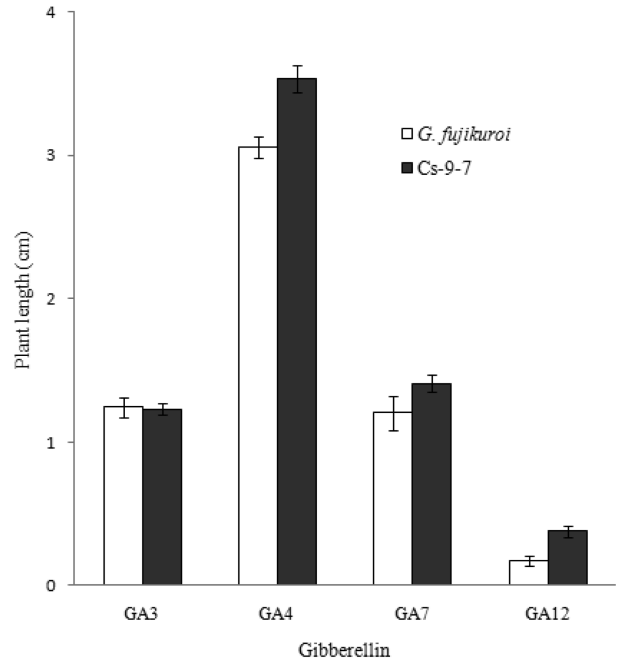


Fig. 2. Concentrations of gibberellins in the culture filtrate of *Cs-9-7* fungal strain. GA₄ was produced in highest amount (3.535 ng/mL) in physiologically active. The error bars mean GAs concentration values indicate standard±deviations (S. D).

(Table 2). 우리는 다양한 *A. tubingensis*의 균주들을 이용하여 최대서열배치 및 다중정렬을 수행하였고, 균주들을 이용하여 계통수(phylogenetic tree)를 분석하였다. 그러나 다양하고 많은 방법들 중에서 neighbor joining(NJ) 방법은 다양한 균주들과 계통분석에서 가장 신뢰성 있는 계통수 구성방법으로 사용 되어왔다[7]. 그래서 식물생장촉진활성을 나타낸 *Cs-9-7* 균주는 *A. tubingensis* 균주로 확인 되었고, *Cs-9-7* 균주를 동정하여 계통분석으로 인한 유연관계를 확인 하였다(Fig. 3).

본 연구에서는 *Cs-9-7* 균주인 *A. tubingensis*의 내생진균이 생산하는 다양한 GAs를 확인하였으며, *A. tubingensis* *Cs-9-7*(JN585944)로 명명하였다. 그리고 식물생육을 위해서는 내생균류가 중요한 역할을 한다고 알려져 있지만, 본 연구와 같이 해안사구에 자생하는 해안사구식물에 대한 연구가 점차적으로 이루어지고 있다[12, 13]. 그리고 갯메꽃의 뿌리로부터 다양한 내생진균 및 식물생장촉진활성을 가지는 *A. tubingensis* *Cs-9-7*을 분리 하였으며, 이를 이용하여 해양미생물연구와 해안사구복원 및 보호에 이용될 것이 기대된다.

요 약

서해안에 자생하는 갯메꽃의 뿌리로부터 8종의 내생진균을 분리하였다. 그리고 식물생장촉진검정을 확인하기 위하

Table 2. Identification of endophytic fungi in this study.

Fungal isolates	Identification of isolated fungal strains	Similarity ^a	Accession No.
Cs-4-1	<i>Penicillium thomii</i> (EU910586)	99%	JN585937
Cs-4-5	<i>Penicillium</i> sp. (HQ637349)	99%	JN585938
Cs-9-6	<i>Penicillium chrysogenum</i> (GU723455)	99%	JN585943
Cs-9-7	<i>Aspergillus tubingensis</i> (HQ315841)	99%	JN585944
Cs-12-1	<i>Penicillium corylophilum</i> (JF731250)	99%	JN585947
Cs-13-2	<i>Penicillium</i> sp. (AB274312)	98%	JN585948
Cs-13-4	<i>Paraphoma chrysanthemicola</i> (HM242215)	96%	JN585949
Cs-13-5	<i>Paraphoma chrysanthemicola</i> (HQ115688)	96%	JN585950

^aSimilarity was estimated from the comparison of ITS sequences with ClustalX program.

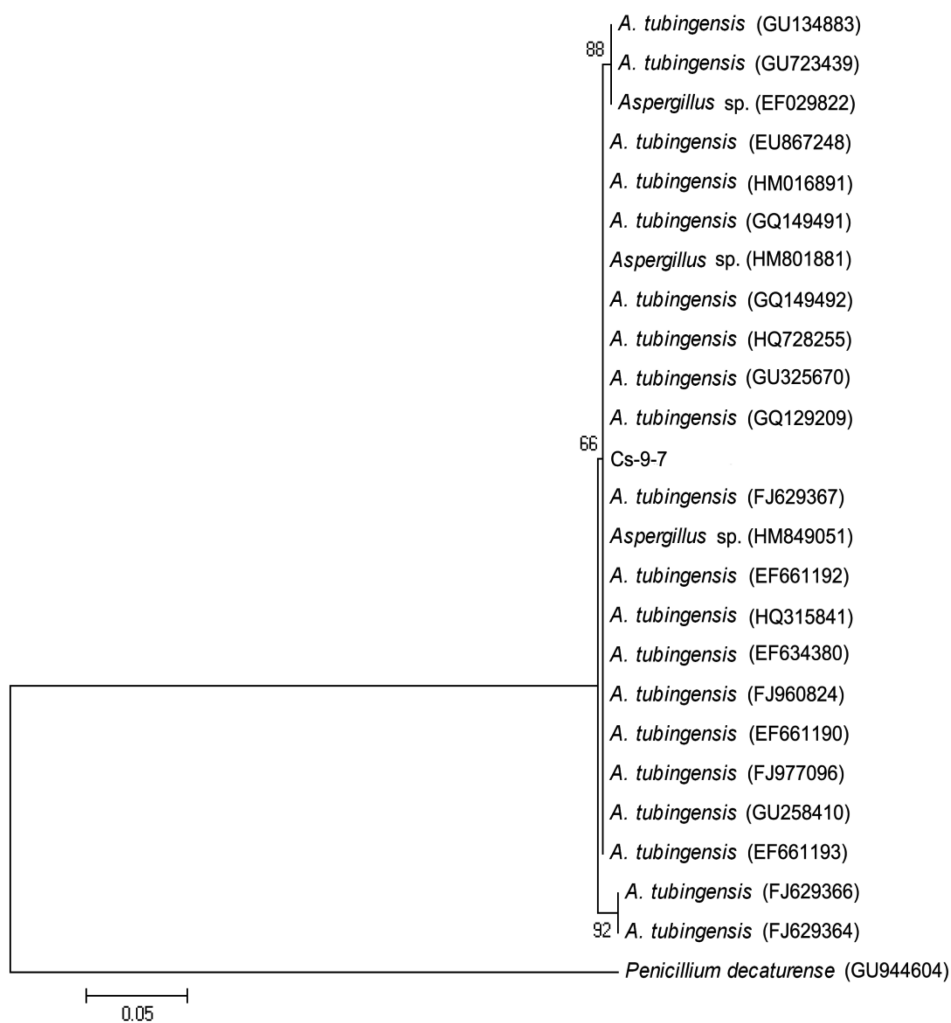


Fig. 3. Phylogenetic analysis of endophytic fungi with rDNA-ITS sequences. Neighbour joining tree (1000 bootstrap replications) was constructed using 25 taxa (24 reference sequences and 1 clone). *Penicillium decaturense* was used as outgroup for the phylogenetic tree.

여 분리된 내생진균의 배양여액을 난장이벼에 처리하였다. Cs-9-7 균주의 배양여액 처리구에서 난장이벼의 생장촉진활성이 가장 높았다. 그리고 Cs-9-7 균주의 배양여액은 GC/MS-SIM을 사용하여 이차대사산물을 분석하였을 때, GA₃ (1.229 ng/mL), GA₄(3.535 ng/mL), GA₇(1.408 ng/mL) 그

리고 GA₁₂(0.378 ng/mL)의 지베렐린 이 확인되었다. 그리고 분리된 내생진균의 동정을 위하여, 유니버살 프라이머 ITS1 과 ITS4를 사용하여 ITS 영역의 염기서열을 결정하였다. Cs-9-7 균주의 동정결과 *A. tubingensis*와 99%의 유사성이 확인되었으며, *A. tubingensis* Cs-9-7라고 명명하였다.

Acknowledgement

The research is sponsored by Korea Ministry of Environment as the Eco-Innovation project.

REFERENCES

1. Basiacik, K. S. and N. Aksoz. 2004. Optimization of carbon nitrogen ratio for production of gibberellic acid by *Pseudomonas* sp. *Pol. J. Microbiol.* **53**: 20-117.
2. Bottini, R., F. Cassan and P. Piccoli. 2004. Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **65**: 497-503.
3. Carter, R. W. G. 1991. Near future sea level impacts on coastal dunes landscapes. *Landscape Ecol.* **6**: 29-39.
4. Choi, W. Y., K. S. Sin, I. J. Lee, I. K. Rhee, J. H. Lee, and J. G. Kim. 2004. Isolation of gibberellin-producing *Penicillium* spp. from the root of *Lindera obtusiloba* and *Vaccinium koreanum*. *Korean. J. Mycol.* **32**: 16-22.
5. Garia-Mora, M. R., J. B. Gallego-Fernandez, and F. Garcia-Novo. 2000. Plant diversity as a suitable tool for coastal dune vulnerability assessment. *J. Coastal Res.* **16**: 990-995.
6. Hasan, H. A. 2002. Gibberellin and auxin-production by plant root-fungi and their biosynthesis under salinity-calcium interaction. *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* **49**: 105-18
7. Hamayun, M., Khan, S. A., Khan, M. A., Khan, A. L., Kang, S. M., Kim, S. K., Joo, G. J., and Lee, I. J. 2009. Gibberellin production by pure cultures of a new strain of *Aspergillus fumigates*. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **25**: 1785-1792.
8. Hedden, P. and A. I. Phillips. 2000. Gibberellin metabolism: new insights revealed by the genes. *Trends in Plant Sci.* **5**: 523-530.
9. Hwang, J. S., Y. H. You, J. J. Bae, S. A. Khan, J. G. Kim, and Y. S. Choo. 2011. Effects of endophytic fungal secondary metabolites on the growth and physiological response of *Carex kobomugi* Ohwi. *J. Coastal Res.* **27**: 544-548.
10. Kawaide, H. and T. Sassa. 1993. Accumulation of gibberellin A₁ and the metabolism of gibberellin A₉ to gibberellin A₁ in a *Phaeosphaeria* sp. L 487 culture. *Biosci. Biotech. Biochem.* **57**: 1403-1405.
11. Khan, S. A., M. Hamayun, H. Y. Kim, H. J. Yoon, I. J. Lee, and J. G. Kim. 2009. Gibberellin production and plant growth promotion by a newly isolated strain of *Gliomastix murorum*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 829-833.
12. Khan, S. A., M. Hamayun, H. Y. Kim, H. J. Yoon, J. C. Seo, Y. S. Choo, I. J. Lee, S. D. Kim, I. K. Rhee, and J. G. Kim. 2009. A new strain of *Arthrimum phaeospermum* isolated from *Carex kobomugi* Ohwi is capable of gibberellin production. *Biotechnol. Lett.* **31**: 283-287.
13. Khan, S. A., M. Hamayun, H. J. Yoon, H. Y. Kim, S. J. Suh, S. K. Hwang, J. M. Kim, I. J. Lee, Y. S. Choo, U. H. Yoon, W. S. Kong, B. M. Lee, and J. G. Kim. 2008. Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*. *BMC Microbiol.* **8**: 231.
14. Kawanabe, Y., H. Yamane, T. Murayama, N. Takahashi, and T. Nakamura. 1983. Identification of gibberellin A₃ in mycelia *Neurospora Crassa*. *Agric. Biol. Chem.* **47**: 1693-1694.
15. Kim, B. S., H. M. Oh, H. Kang, S. Park, and J. Chun. 2004. Remarkable bacterial diversity in the tidal flat sediment as revealed by 16S rDNA analysis. *Microb. Biotechnol.* **14**: 205-211.
16. Lee, I. J., Foster, K., and Morgan, P. W. 1998. Photoperiod control of gibberellin levels and flowering in sorghum. *Plant physiol.* **116**: 1003-1011.
17. Opelt, K. and G. Berg. 2004. Diversity and antagonistic potential of bacteria associated with bryophytes from nutrient poor habitats of baltic sea coast. *Appl. Microbiol.* **70**: 6569-6579.
18. Rachev, R., V. Gancheva, S. Bojkova, C. Christov, and T. Zafirova. 1997. Gibberellin biosynthesis by *Fusarium moniliforme* in the presence of hydrophobic resin Amberlite XAD-2. *Bulg. J. Plant Physi.* **12**: 24-31.
19. Rim, S. O., J. H. Lee, W. Y. Choi, S. K. Hwang, S. J. Suh, I. J. Lee, I. K. Rhee, and J. G. Kim. 2005. *Fusarium proliferatum* KGL0401 as a new gibberellin-producing fungus. *J. Microbiol. Biotechnol.* **15**: 809-814.
20. Vazquez, M. M., S. Cesar, R. Azcon, JM. Barea. 2000. Interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants. *Appl. Soil Ecol.* **15**: 261-272
21. Williams, A. T. 1998. Integrated management methods monitoring environmental changes in coastal dune ecosystem. pp. 642-653, In K. G. Baether., H. Barth, M. Bohle-Carbonell, C. Fragakis, E. Lipiatou, P. Martin, G. Ollier, and M. Weydart (eds.), Porc. 3rd European Marine Science and Technology Conference, Brusells, European Commission 2.
22. Yamada, A., O. Takeo, D. Yosuke, O. Masatake. 2001. Isolation of *Tricholoma matsutake* and *T. bakamatsutake* cultures from field-collected ectomycorrhizas. *Mycoscience.* **42**: 43-50.