

해안 사구에서 서식하는 토착식물로부터 분리된 근권미생물 *Bacillus aerius* MH1RS1의 식물성장 촉진 능력 연구

Plant Growth-promoting Ability by the Newly Isolated Bacterium *Bacillus aerius* MH1RS1 from Indigenous Plant in Sand Dune

이은영[†] · 홍선화

Eun Young Lee[†] · Sun Hwa Hong

수원대학교 환경에너지공학과

Department of Environmental and Energy Engineering, Suwon University

(2013년 9월 5일 접수, 2013년 9월 30일 채택)

Abstract : Coastal sand dunes have been seriously damaged caused by the development thoughtless for the environment and coastal erosion and destruction due to artificial structures like coast roads and breakwater. Hereupon, in this study we made a library of rhizobacteria that have the plant growth-promoting ability for plant rhizosphere of indigenous plants inhabiting in a coastal sand dune as well as the strong tolerance to salt, and evaluated the plant growth-promoting ability of these strains. Furthermore, we evaluated the effect of rhizobacteria on the growth rate of saline tolerant plants in sandy soil; selected out the most useful micro-organism for the restoration of a damaged sand dune. The effect of inoculation of strains selected from the first experiment on the growth of *Peucedanum japonicum* and *Arundo donax* planted in a coastal sand dune was evaluated. As a result, *Bacillus aerius* MH1RS1 had plant growth promoting activities: indole acetic acid (IAA) production, siderophores and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACC deaminase) activity, and also had a salinity tolerance. Also, in case of *Peucedanum japonicum*, the length of stems and weights of roots were enhanced by the inoculation of *B. aerius* MH1RS1. Fresh weights of stems and weights of roots in experimental group were, in particular, increased by 25% comparing with the control group. For an *Arundo donax* in experimental group, plant length increased by 18%, and weight of roots by 20% which is significant.

Key Words : ACC Deaminase, IAA Production, Salinity Tolerance, Sand Dune, Siderophores

요약 : 다양한 난개발과 해안도로, 방파제 등의 인공 구조물 설치로 인한 해안 침식과 해안선 파괴 등으로 해안사구가 크게 훼손되고 있다. 이에 본 연구에서는 해안사구에서 서식하고 있는 토착식물의 근권으로부터 식물 성장 촉진 능력이 있으면서 동시에 염분에 강한 내성을 가지는 근권세균의 library를 구축하였고, 이들 균주를 대상으로 식물 성장 촉진 능력을 평가하였다. 또한, 내염성 식물을 대상으로 사구 토양에서의 성장률에 근권세균이 미치는 영향을 평가한 후, 훼손된 사구의 복원에 가장 유용한 미생물을 선별하고 분리된 근권세균이 식물 성장에 미치는 영향을 평가하였다. 실험은 선정된 균주와 갯기름나물과 줄무늬갈대를 해안사구에 식재한 후 성장에 미치는 영향을 평가하였다. 그 결과, MH1RS1는 (IAA) production, siderophores, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACC deaminase) 그리고 염분내성을 가지고 있다. 갯기름나물의 경우는 줄기의 길이와 뿌리의 무게는 크게 향상되었다. 특히, 줄기의 생체와 뿌리 무게는 control과 비교했을 때 25% 성장이 향상되었다. 줄무늬갈대는 *Bacillus aerius* MH1RS1 에 의해 초장은 18%와 뿌리의 생체 중은 20%로 크게 향상 되었다.

주제어 : ACC deaminase, IAA 생산능, 내염성, 해안 사구, Siderophores

1. 서론

해안 사구는 해양과 육상이 경계를 이루는 지역으로 해안 지역의 보호와 서식하는 식물 자원의 보존을 위해 중요시 되고 있으며,¹⁾ 서식지로서의 중요성 뿐만 아니라 다양한 경제적 가치를 가지고 있다.^{2,3)} 해안사구는 특이적 환경조건 (빠른 지형 변화, 강한 바람, 강한 일조량, 염도, 토성, 모래 침식, 모래증가, 강한 건조 등)으로 식생의 종류가 매우 제한적이지만, 열악한 환경에도 불구하고 다양한 종류의 자생식물이 존재하고 있어 생태자원 및 관광자원으로 보존 가치가 뛰어난 지역이다.^{4,5)} 하지만 지속적인 사구지역의 난개발과 오염, 인위적 훼손, 그리고 자연재앙에 의해 훼손되거나 사라지고 있어 전세계적으로 해안사구의 보존에 심혈을

기울이고 있다.^{6,7)}

훼손된 사구의 복원은 여러 가지 인위적인 방법이 사용될 수 있지만, 해안사구의 경관적 특성을 고려하여 친환경적인 복원이 많은 관심을 받고 있다. 그러나 특이적 환경 조건 때문에 식물을 이용한 환경 친화적인 사구 안정화에 관한 연구는 주로 온대지방에서 제한적으로 연구되고 있다.^{8,9)} 사구 지역의 토양은 영양물질 및 전자수용체와 탄소와 같은 에너지원이 결핍되어 있어 식물 성장 뿐만 아니라 미생물 활성도 저해를 받기 때문에 이러한 요소의 조절은 해안 사구 복원의 성공 여부를 좌우한다.¹⁰⁾ 최근에는 사구의 식물상 복원 시 식물의 발아, 개화 및 성장에 대한 연구와 식물과 공생, 공존하는 미생물에 관한 연구가 활발하게 진행되고 있으며, 동시에 새로운 균주의 개발 등으로 사구식물의

[†] Corresponding author E-mail: ley@suwon.ac.kr Tel: 031-220-2614 Fax: 031-220-2533

안정화를 도모하고 있다.¹¹⁻¹⁴⁾ 식물의 성장과 관련된 근권세균에는 식물에게 해로운 작용을 하는 유해 근권세균(deleterious rhizobacteria; DRB)과 식물에 이로운 영향을 미치는 식물 성장 촉진 근권세균(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)으로 나누어진다.¹⁵⁾ PGPR은 Kloepper과 Schroth에 의해 처음으로 정의되었으며, 식물 근권에 서식하면서 식물의 성장을 증진시키는 세균을 의미한다.¹⁶⁾ 이들은 식물 뿌리에 흡착하거나, 뿌리에 군락을 형성하고 뿌리 삼출물을 이용하여 성장하게 된다. 또한, 항생물질을 생산하여 식물 병원균으로부터 식물을 보호하거나, 대기 중의 질소가스를 고정하여 식물에게 질소원을 공급하거나, 식물의 성장을 조절하는 효소를 생산하거나, 여러 대사를 통하여 토양 내의 인과 같은 미네랄을 가용화시켜 식물이 흡수하기 쉽게 도와주는 등의 영향을 미친다.^{16,17)} 이러한 식물 성장 촉진 근권세균은 해안 사구와 같은 특이적 환경의 식물상 복원 효율을 향상시킬 것으로 예상된다.

이에 본 연구에서는 해안사구에서 서식하고 있는 토착식물의 근권으로부터 식물 성장 촉진 능력이 있으면서 동시에 염분에 강한 내염성을 가지는 근권세균을 분리하여 library를 구축하였고,¹⁸⁾ 이들 균주를 대상으로 식물 성장 촉진 능력을 평가하였다. 또한, 내염성 식물을 대상으로 사구 토양에서의 성장률에 근권세균이 미치는 영향을 평가한 후, 훼손된 해안 사구의 식물상 복원을 위한 잠재성을 평가하고자 하였다.

2. 실험재료 및 방법

2.1. 선별된 내염성 식물 성장 촉진 근권세균의 동정

내염성과 식물 성장 촉진 능력에 의거해 선정된 균주를 16 S rDNA 분석 방법을 이용하여 동정하였다. 분리균주의 콜로니(colony)를 0.5 N NaOH 30 μ L에 현탁시킨 후 95 $^{\circ}$ C에서 30분간 가열하여 균체를 lysis 시켰고, 이에 따라 추출된 genomic DNA를 template로 하여 polymerase chain reaction (PCR)을 수행하였다. DNA template 1 μ L, primer 27 f과 1492 r를 각각 20 pmol, BSA를 0.5 mg/mL, dNTP를 0.2 mM, 10 xbuffer 2.5 μ L를 넣고 dH₂O로 총 부피를 25 μ L로 하였다. 이때 사용한 primer는 universal primer로 27 f (5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AC-3')과 1492 r (5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT-3')이다. PCR 조건은 93 $^{\circ}$ C에서 2분 동안 pre-denaturation한 후, 92 $^{\circ}$ C에서 denaturation 1분, 55 $^{\circ}$ C에서 annealing 1분, 68 $^{\circ}$ C에서 extension 45초 과정을 35 cycle 반복한 후, 72 $^{\circ}$ C에서 2분 동안 최종 extension한 후 4 $^{\circ}$ C에서 holding 하였다. PCR로 증폭된 DNA의 염기서열을 분석하였다. 분리된 내염성 식물 성장 촉진 근권세균은 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)를 이용하여 GenBank database와 비교하였고, 등록하였다(accession number: KC883974).

2.2. 염분 내성 평가

이전 연구에서 구축된 근권세균의 library에서 내염성을 가진 균주를 탐색하기 위해¹⁸⁾ 각 균주의 염분에 대한 내성을 평가하였다. LB broth 10 mL에 선별된 colony를 접종한 후, 1일간 전 배양하였다. LB broth에 NaCl을 2, 4, 6 그리고 8%가 되도록 주입하여 배지를 만들고 10 mL culture tube에 배지 3 mL를 분주한 후 전 배양액을 5%가 되도록 접종하였다. 접종 후, shaking incubator에서 30 $^{\circ}$ C, 180 rpm으로 4일간 배양하며, 매일 시료를 채취하여 600 nm파장의 흡광도계(HACH, USA)에서 흡광도를 측정하여 colony의 성장 여부를 평가하였다.

2.3. 식물 성장 촉진 능력 평가

2.1에서 언급한 library의 균주를 대상으로 식물성 호르몬인 IAA 생산능을 다음과 같은 방법으로 평가하였고, 모든 실험은 3반복하였다. 균주를 각각 0.5 mg/mL의 tryptophane을 첨가한 DF 배지¹⁸⁾ 5 mL에 접종하여 30 $^{\circ}$ C에서 180 rpm으로 5일간 배양하였다. DF 배지의 조성은 다음과 같다: (NH₄)₂SO₄, 2 g; KH₂PO₄, 4 g; Na₂HPO₄·12H₂O, 15 g; MgSO₄·7H₂O, 0.2 g; FeSO₄·7H₂O, 1.0 mg; B (as H₃BO₃), 10 μ g; Mn (as MnSO₄·H₂O), 11 μ g; Zn (as ZnSO₄·7H₂O), 125 μ g; Cu (as CuSO₄·5H₂O), 78 μ g; Mo (as Na₂MoO₄·2H₂O), 17 μ g; 증류수, 1 L. 선별 균주를 DF배지에서 5일간 배양한 후, 배양액과 Salkowski's reagent(진한 H₂SO₄, 150 mL; 증류수, 250 mL; 0.5 M FeCl₃·6H₂O, 7.5 mL 혼합액)를 1:2 (v/v)의 비율로 섞은 후, 분홍색으로 발색되는 동안 상온에서 20분간 정치하였다. 발색되는 정도는 흡광도계(HACH, USA)를 이용하여 530 nm에서 흡광도로 측정하였다. 표준물질로는 3-Indoleacetic acid (C₈H₆N-CH₂COOH, SHOWA chemical co., Japan)를 이용하였고, 동일한 방법으로 실험한 후 검량선을 작성하였다.

ACC deaminase 활성은 다음과 같은 방법으로 평가하였다(실험에 사용된 배지는 (NH₄)₂SO₄ 대신 3 mM의 ACC를 넣은 DF medium이다). 각각의 colony들을 배지에 접종하여 30 $^{\circ}$ C에서 180 rpm으로 48시간 동안 배양하였다. 배양기간 동안 흡광도계를 이용하여 4시간마다 600 nm에서 흡광도를 측정하였다.¹⁹⁾

Siderophores 합성능은 chrome azurol S (CAS) blue agar plate assay 방법을 이용하였다.²⁰⁾ 1 L의 CAS agar를 만드는 방법은 다음과 같다: (1) siderophores indicator인 dark-blue dye solution은 60.5 mg의 CAS를 50 mL 증류수에 녹인 다음 1 mM FeCl₃·6H₂O과 10 mM HCl이 첨가된 iron (III) solution을 10 mL 첨가한 후, 40 mL 증류수에 72.9 mg HD-TMA를 녹인 solution을 함께 하여 멸균하였다. 또한, (2) medium solution (750 mL 증류수에 100 mL 10 X MM9 salts (60 g/L Na₂HPO₄; 0.9 g/L KH₂PO₄; 5 g/L NaCl; 10 g/L NH₄Cl), 15 g agar, 30.24 g PIPES 그리고 12.0 g의 50% (w/w) NaOH를 넣고 멸균하여 50 $^{\circ}$ C로 식힌 후, 멸균된 30 mL ca-

samino acids (10%, w/v), 멸균된 10 mL glucose (20%, w/v), 1 mL thiamine·HCl (0.2%, w/v), 그리고 3 mL L-tryptophane (1%, w/v)를 첨가한다)을 제조한 후, (1)과 (2)를 잘 섞은 후, petri dish에 30 mL씩 균핵 CAS blue agar plate를 만들었다. 각각의 세균을 CAS blue agar plate에 접종하여 30°C에서 24시간 동안 배양하였으며, colony 주변에 orange halo가 형성되는 경우를 siderophores 합성 양성으로 평가하였다.

2.4. 분리된 근권세균의 식물 성장에 미치는 영향

선별된 근권세균을 대상으로 대표적 사구식물인 갯기름나물과 줄무늬 갈대를 이용하여 사구토양에서의 식물 성장 촉진 여부를 평가하였다. 토양은 경기도 화성시 궁평항의 해안 사구에서 채취해 온 사구토를 사용하였다. 화분의 크기는 직경 59 cm, 높이 18 cm의 직각 화분을 사용하였다. 일반 토양에서 배양된 갯기름나물과 줄무늬갈대를 구매하여 갯기름나물의 경우 줄기의 평균길이가 약 10 cm인 식물을 식재하였고, 줄무늬갈대의 경우 뿌리로부터 줄기를 1 cm 정도 남겨두고 잘라낸 다음에 사용하였다. 모든 실험은 화분에 10주씩 식재하여 2반복으로 수행하였다. 분리된 근권세균은 2 L의 LB배지에 3 일간 배양(30°C)한 후에 배양액을 10,000 rpm 으로 10분간 원심분리 하였다. 회수한 균주를 멸균수를 첨가하여 현탁한 후 다시 동일 조건으로 원심분리 하였다. 이 과정을 2차례 반복하여 균체를 세정해 주었다. 세정한 균체는 멸균수 100 mL에 현탁한 후 현탁액을 토양에 주입한 후, 충분히 혼합하였다(1.06×10^7 cells/g). 균주는 실험 초기에만 접종하였다. 실험군과 근권세균을 접종하지 않는 조건을 대조군으로 하여 40일간 실험을 수행하였다. 실험은 기온이 약 30~35°C인 실외에서 수행하였으며, 재배하는 동안은 하루에 한번씩 수분을 공급하였다. 재배 40일 후에는 식물의 줄기길이(shoot length) 및 무게와 뿌리의 무게를 측정하여 근권세균의 성능을 비교하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 분리된 *Bacillus aerius* MH1RS1의 염분내성평가

해안 사구에서 자생하고 있는 사초과(Cyperaceae) 식물의 근권토양에서 분리된 MH1RS1을 분리하였고 이를 동정한 결과, *Bacillus aerius* (KC883974)로 동정하고 GenBank에 등록하였다. 분리된 MH1RS1의 염분내성 평가는 2, 4, 6 그리고 8%로 하여 평가하였다(Fig. 1). 그 결과, 배양 4일 후 각각의 염분 농도에 따라 1.46 ± 0.04 , 1.50 ± 0.10 , 1.00 ± 0.02 그리고 0.21 ± 0.1 로 염분의 농도가 4%까지는 미생물 성장에 큰 변화가 없었고(염분이 없는 배지에서는 1.519 ± 0.00 이었음) 4와 6%에서는 미생물 성장이 다소 지연되었다. 염분농도에서도 배양 3일 후에는 OD 600 nm의 조건에서 1.0에 즉, 6%의 염분이 함유된 배지에서 초기 다소간의 성장 지연기가 있으나 균주가 성장할 수 있음을 알 수 있었다. 일반적으로 알려져 있는 해안 사구의 염분농도는 4%로 알려져 있

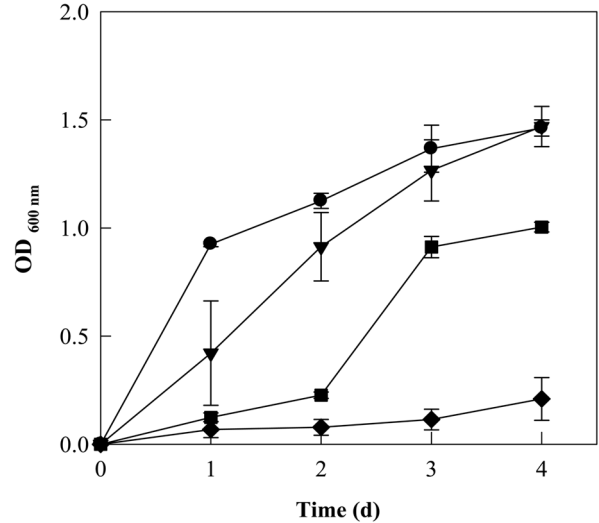


Fig. 1. Cell growth under salt condition. Salt concentration; ●, 2%; ▼, 4%; ■, 6%; ◆, 8%.

으며, 본 연구에서 분리한 *Bacillus aerius* MH1RS1도 4%까지는 성장에 아무런 영향을 받지 않았으며, 그 보다 높은 6과 8%의 염분에서 강한 내성을 나타냈다.

3.2. 분리된 *Bacillus aerius* MH1RS1의 식물 성장 촉진 능력 평가

본 연구에서 분리한 *Bacillus aerius* MH1RS1을 대상으로 식물성 호르몬인 IAA 생산능, ACC deaminase 활성, 그리고 Siderophores 합성능을 조사하여 식물 성장 촉진 가능성을 평가하였다. 식물성 호르몬인 indole acetic acid (IAA)는 auxin의 일종으로 성장 중인 줄기나 뿌리 끝 또는 어린잎에서 생성 되어 줄기나 뿌리의 신장부로 옮겨져 그 부분의 세포 성장을 촉진할 수 있는 대표적인 식물성 호르몬이다.^{1,21)} 본 연구에서 분리한 *Bacillus aerius* MH1RS1은 8.43 ± 0.05 mg/L의 IAA를 생산할 수 있다. Gutierrez Magiero의 연구에서는 분리한 근권세균이 생산해낸 IAA 농도의 농도가 1.736 mg/L와 1.790 mg/L였고,²²⁾ *Brassica campestris* ssp *pekinensis*에서 분리한 근권세균은 6.02~29.75 mg/L의 IAA를 생산할 수 있었으며,²³⁾ 돌피(*Echinochloa crus-galli*)에서 분리한 *Serratia* sp. K1RP-49는 38 µg/mL의 IAA를 생산하는 것으로 보고 되었다.²⁴⁾ 또한, 혐기적 환경 시료로부터 분리한 *Rhodopseudomonas faecalis* D15는 769.8 µg/mL의 IAA는 생산하였으며, 토마토의 줄기생장을 대조군 대비 103% 증가시켰다고 보고 되었다.²⁵⁾ 본 연구에서 분리한 *Bacillus aerius* MH1RS1은 위에서 보고된 균주들 보다 IAA 생산능이 다소 적지만, MH1RS1균주는 IAA 생산능을 가지는 동시에 ACC deaminase 활성과 siderophores합성능을 동시에 가지는 근권세균이다. 이는 MH1RS1가 식물의 줄기와 뿌리의 성장을 향상시킬 수 있는 잠재력을 가지고 있음을 보여준다.

식물 성장에 중요한 요소 중 하나는 주변 환경을 적정 온도로 유지 시켜주는 것이다.²⁶⁾ 그러나 해안 사구와 같은 건조하고 높은 염농도의 지역에서 식물이 성장 할 경우는 높은

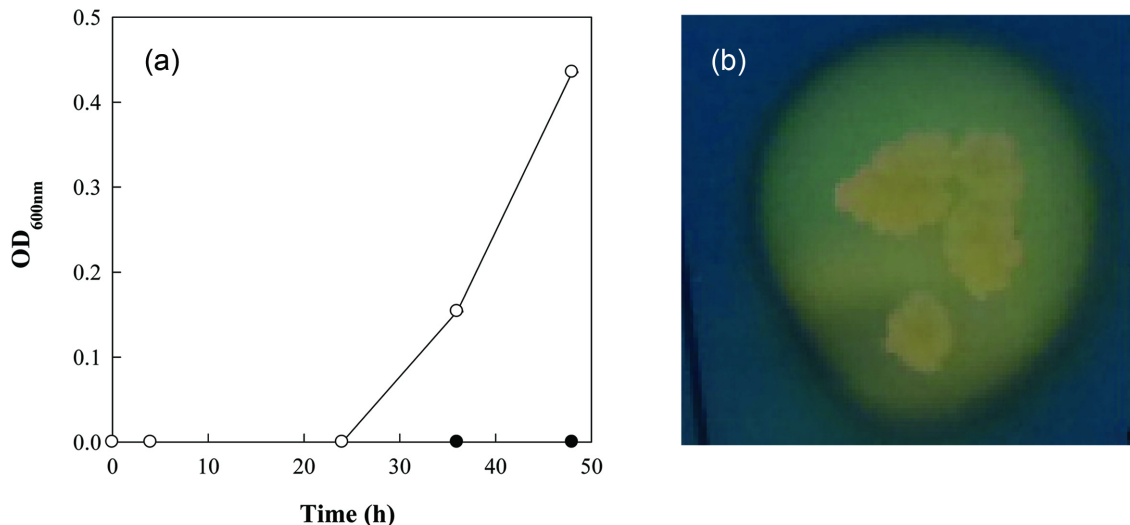


Fig. 2. ACC deaminase activity of the representative PGPR and siderophores production of *Bacillus aerius* MH1RS1. ●, control group; ○, experimental group inoculated with MH1RS1.

스트레스를 받게 되므로 과도한 에틸렌이 분비되고 성장이 저해 받게 된다.⁵⁾ 그러므로 이러한 에틸렌의 농도를 조절할 수 있는 에틸렌의 전구체인 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACC deaminase)활성의 유무는 해안 사구와 같은 특이적 환경의 식물상 복원에 중요한 요소로 작용한다. 본 연구에서 분리한 *Bacillus aerius* MH1RS1은 배양 48시간 후 흡광도값이 0.44 ± 0.00 으로 ACC deaminase 활성을 가지고 있음을 확인하였다(Fig. 2(a)). 스트레스 요인이 많이 작용하는 환경에서는 식물의 뿌리에 식물성 호르몬인 에틸렌과 그 전구체인 ACC의 축적이 야기된다.²⁴⁾ 다량의 ACC축적은 식물의 성장에 스트레스 물질로 작용하여 식물의 뿌리 성장을 저해시킨다.²⁷⁾ 이렇게 ACC가 풍부해진 근권 환경은 ACC를 질소원으로 이용할 수 있는 근권세균의 군집화를 유도한다.²⁸⁾ 이들 근권세균은 ACC deaminase 효소 활성을 가지며 식물의 뿌리 내부와 외부의 에틸렌의 농도를 조절해 식물의 뿌리 성장을 향상시킨다. 지금까지는 유채, 상추, 토마토 그리고 보리 등의 뿌리 성장이 향상 되었다는 보고가 있다.^{29,30)} 본 연구는 해안 사구라는 매우 건조하고 일정 농도의 염분이 존재하는 토양환경에 미생물을 생물학적 비료로 이용하여 해안 사구토의 유실을 방지하고자 하는 목적에서 시작되었다. 이에 분리된 *Bacillus aerius* MH1RS1은 스트레스가 풍부한 환경에서 에틸렌의 농도를 조절하여 식물 뿌리의 안정화를 도모하는 유용한 식물자원으로 활용될 가능성이 있다고 사료된다.

식물의 성장에 필수 원소인 철을 공급하는 역할을 수행하는 siderophores합성능력에 대해 평가하였다. Siderophores 합성능은 양성으로 구분하여 균주 주변에 orange halo가 생기면 양성으로 평가하였다. 토양환경에서 철은 그 물리·화학적 특성으로 인하여 대부분 난용성인 Fe(OH)₃로 존재하여 실질적으로 생물이 이용할 수 있는 철의 농도는 매우 낮다.³¹⁾ 특히, 바닷물은 일반적으로 철분이 적기 때문에

식물이 성장하는데 철이 제한 요소로 적용할 수 있다.¹⁸⁾ 철의 결핍은 식물의 엽록체 형성 및 엽록소 생합성 기작을 방해하고 스트레스 물질로 작용할 수 있는 에틸렌의 생산을 유도하여 식물의 성장을 저해시킨다.²⁷⁾ 본 연구에서 분리한 *Bacillus aerius* MH1RS1은 철과 친화도가 높은 저분자의 철분포획체 이자 수송체인 ‘siderophores’를 세포 밖으로 분비할 수 있는 능력을 가지고 있어(Fig. 2(b)) 해안사구와 같은 철 부족 토양환경에서의 식물상 복원 효율을 증대시킬 수 있다고 사료된다.

3.3. 분리된 근권세균 *Bacillus aerius* MH1RS1의 식물 성장에 미치는 영향

Bacillus aerius MH1RS1의 식물 성장 향상 능력을 평가하기 위해 사구식물로 알려져 있는 갯기름나물(*Peucedanum japonicum* Thunb.)과 줄무늬갈대(*Arundo donax* L. var. *versicolor* kunth)를 이용하여 pot실험을 수행하였다(Fig. 3, 4). 그 결과, 갯기름나물의 경우 MH1RS1을 접종한 식물이 접종하지 않은 대조구에 비해 줄기의 무게가 25% 증가하였고, 뿌리의 무게는 26% 증가하였다. 또한, 줄무늬갈대는 줄기의 길이 18%와 무게는 20%가 MH1RS1에 의해 증가하였다.

해안 사구 토양에는 *Arthrobacter* sp., *Flavobacterium* sp., *Acinetobacter* sp., *Enterobacter*, *Pseudomonas* sp. 그리고 *Bacillus* sp. 등 다양한 미생물이 서식하고 있는 것으로 알려져 있다.^{1,32-34)} 이들 미생물 중 *Pseudomonas* sp.와 *Bacillus* sp.는 식물 주변에서 식물성 호르몬과 인을 가용화할 수 있는 능력이 있어 다양한 식물의 성장 촉진 능력에 대해 많이 보고되었다.^{1,32,35-38)} 특히, *Bacillus* sp.는 식물 주위에서 auxin을 생성하여 식물들에게 공급할 수 있다고 한다.¹⁾

본 연구에서 분리한 *Bacillus aerius* MH1RS1은 식물성 호르몬을 생산하고 철을 공급하며, 에틸렌의 농도를 조절할 수 있는 동시에 강한 염분 내성을 가지고 있다. 또한, 사구

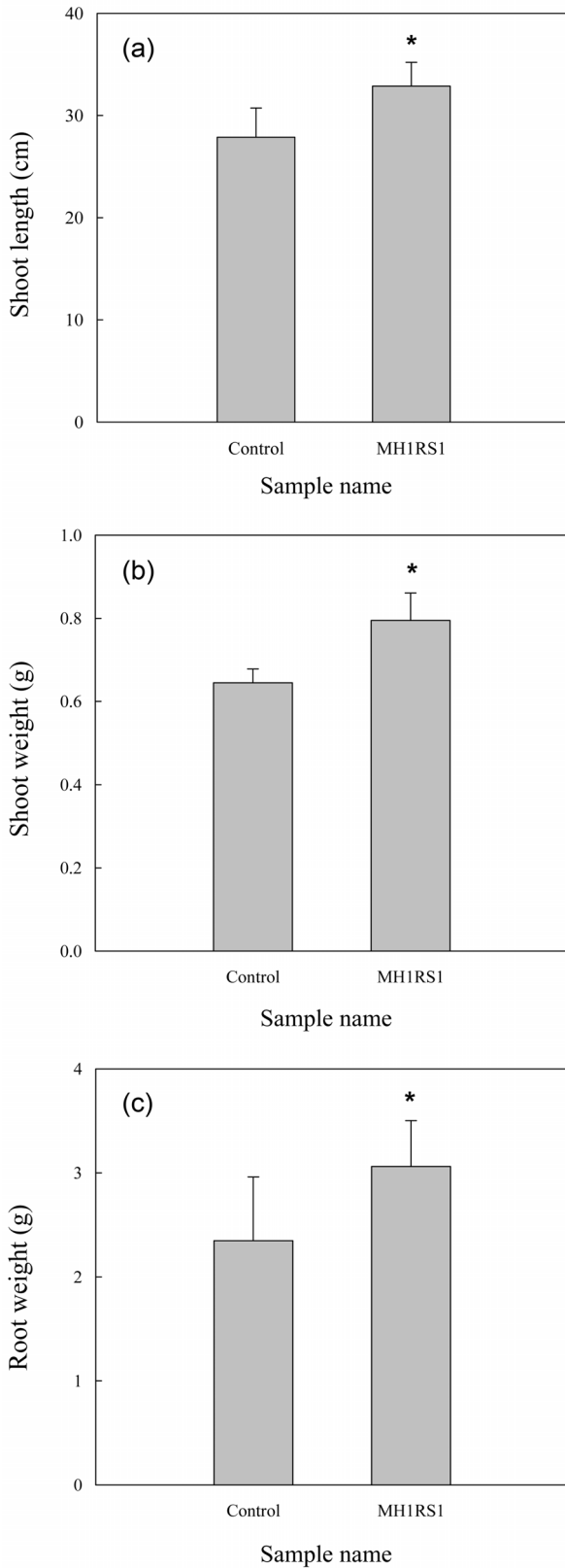


Fig. 3. Effects of the inoculations of *Bacillus aerius* MH1RS on the growth of *Peucedanum japonicum* Thunb in sand dune soil mesocosm (a) shoot length, (b) plant biomass, and (c) root biomass. An asterisk (*) means the statistically significant differences from control (* $0.01 < p \leq 0.05$; ** $0.001 < p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$).

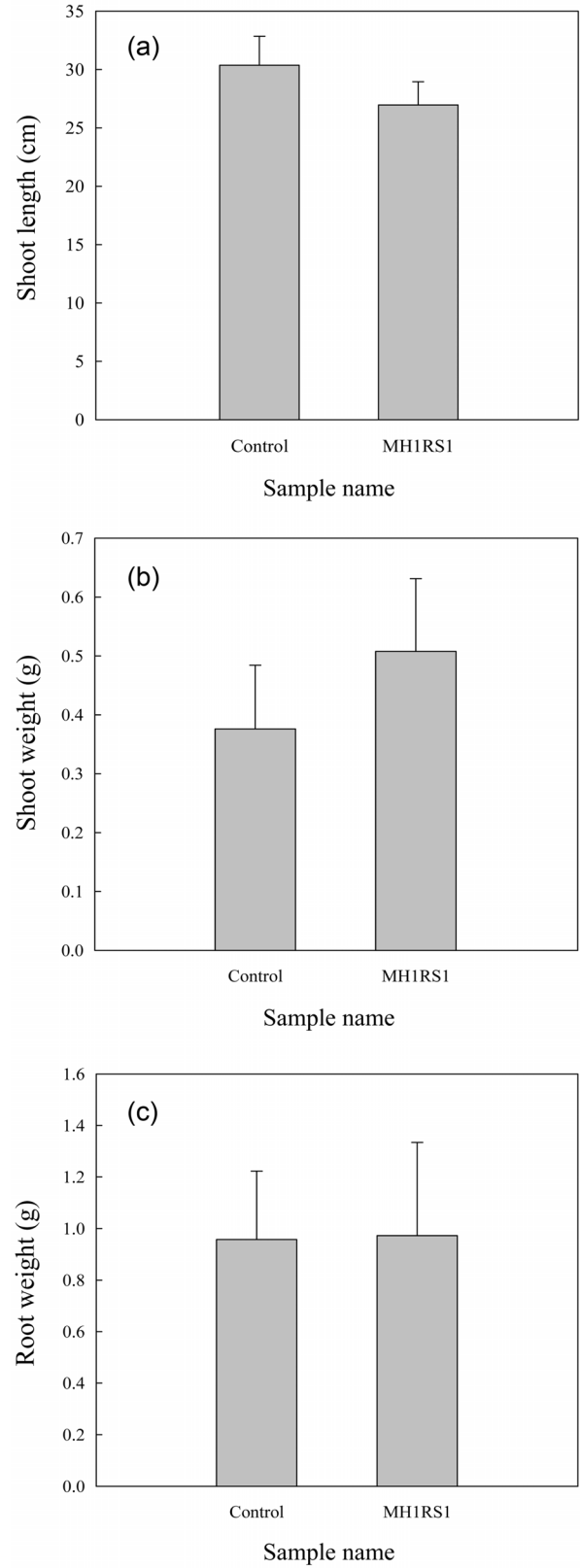


Fig. 4. Effects of the inoculations of *Bacillus aerius* MH1RS1 on the growth of *Arundo donax L. var. versicolor kunth* in sand dune soil mesocosm (a) shoot length, (b) plant biomass, and (c) root biomass. An asterisk (*) means the statistically significant differences from control (* $0.01 < p \leq 0.05$; ** $0.001 < p \leq 0.01$; *** $p \leq 0.001$).

토양에서 서식하고 있는 갯기름나물과 줄무늬갈대에 집중하였을 때 이들 식물의 성장을 촉진하는 것을 본 연구를 통해 확인하였다. 이러한 결과는 염분을 포함하고 있는 사구 토양에서 갯기름나물과 줄무늬갈대 그리고 *Bacillus aerius* MHIRS1를 함께 이용한 훼손된 해안사구의 복원이 가능함을 시사한다.

4. 결론

다양한 난개발과 해안도로, 방파제 등의 인공 구조물 설치로 인한 해안 침식과 해안선 파괴 등으로 해안 사구가 크게 훼손되고 있다. 이에 본 연구에서는 해안 사구에서 서식하고 있는 토착식물의 근권으로부터 식물 성장 촉진 능력이 있으면서 동시에 염분에 강한 내성을 가지는 근권세균의 library를 구축하였고, 이들 균주를 대상으로 식물 성장 촉진 능력을 평가하였다. 또한, 내염성 식물을 대상으로 사구 토양에서의 성장률에 근권세균이 미치는 영향을 평가한 후, 훼손된 사구의 복원에 가장 유용한 미생물을 선별하였다. 분리된 근권세균이 식물 성장에 미치는 영향을 평가하였다. 실험은 선정된 균주, 갯기름나물과 줄무늬갈대를 해안 사구에 식재한 후 성장에 미치는 영향을 평가하였다. 그 결과, MHIRS1는 (IAA) production, siderophores, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase (ACC deaminase)와 염분 내성을 가지고 있었다. 대표적 사구식물인 갯기름 나물과 줄무늬갈대의 성장에는 갯기름나물의 경우, 줄기의 생체와 뿌리 무게는 대조군과 비교했을 때 25% 성장이 향상되었고 줄무늬갈대의 경우, 초장은 18%와 뿌리의 생체 중은 20%로 크게 향상 되었다. 이는 본 연구에서 분리한 *Bacillus aerius* MHIRS1가 사구식물을 이용한 훼손된 해안 사구의 복원에 유용한 생물학적 자원으로 이용 가능함을 시사한다.

사사

This subject is supported by Korea Ministry of Environment as “The GAIA Project” (Project No. 2012000550023), for which the authors are grateful and “This work was supported by the research fund of The University of Suwon, 2012”

KSEE

참고문헌

1. So, J. H., Kim, D. J., Shin, J. H., Yu, C. B. and Lee, I. G., “Isolation and characterization of *Bacillus cereus* A-139 producing auxin from east coast sand dunes,” *Kor. J. Environ. Agric.*, **28**(4), 447~452(2009).
2. Maun, M. A. and Baye, P. R., “The ecology of *Ammophila*

- breviligulata* Fern. On coastal dune ecosystem,” *CRC Crit. Rev. Aquat. Sci.*, **1**, 661~681(1989).
3. Martinez, M. L., Moreno-Casasola, P. and Vazquez, G., “Effects of disturbance by sand movement and inundation by water on tropical dune vegetation dynamics,” *Can. J. Bot.*, **75**(11), 2005~2014(1997).
4. Maun, M. A., “Adaptations enhancing survival and establishment of seedling on coastal dune systems,” *Vegetatio*, **111**(1), 59~70(1994).
5. Lim, J. H., Kim, J. G. and Kim, S. D., “Selection of the auxin and ACC deaminase producing plant growth promoting rhizobacteria from the coastal sand dune plant,” *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, **36**(4), 268~275(2008).
6. Lee, M. S., Do, J. O., Park, M. S., Jung, S., Lee, K. H., Bae, K. S., Park, S. J. and Kim, S. B., “Dominance of *Lysobacter* sp. in the rhizosphere of two coastal sand dune plant species, *Calystegia soldanella* and *Elymus mollis*,” *Antonie Leeuwenhoek*, **90**(1), 19~70(2006).
7. Opelt, K. and Berg, G., “Diversity and antagonistic potential of bacteria associated with bryophytes from nutrient-poor habitats of Baltic Sea coast,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**(11), 6569~6579(2004).
8. Sylvia, D. M. and Will, M. E., “Establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and other microorganisms on a beach replenishment site in Florida,” *Appl. Environ. Microbiol.*, **54**(2), 348~352(1988).
9. Sylvia, D. M., “Nursery inoculation of sea oats with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and outplanting performance of Florida beaches,” *JCR*, **5**(4), 747~754(1989).
10. Boopathy, R., “Factors limiting bioremediation technologies (review paper),” *Biores. Technol.*, **74**(1), 63~67(2004).
11. Hwang, J. S., You, Y. H., Bae, J. J., Khan, S. A., Kim, J. G. and Choo, Y. S., “Effects of endophytic fungal secondary metabolites on the growth and physiological response of *Carex kobomugi* Ohwi,” *JCR*, **27**(3), 544~548(2011).
12. Khan, S. A., Hamayun, M., Yoon, H. J., Kim, H. Y., Suh, S. J., Hwang, S. K., Kim, J. M., Lee, I. J., Choo, Y. S., Yoon, U. H., Kong, W. S., Lee, B. M. and Kim, J. G., “Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*,” *BMC Microbiol.*, **8**(1), 231~240(2008).
13. Khan, S. A., Hamayun, M., Kim, H. Y., Yoon, H. J., Lee, I. J. and Kim, J. G., “Gibberellin production and plant growth promotion by a newly isolated strain of *Gliomastix murorum*,” *World J. Microbiol. Biotechnol.*, **25**(5), 829~833(2009).
14. Khan, S. A., Hamayun, M., Kim, H. Y., Yoon, H. J., Seo, J. C., Choo, Y. S., Lee, I. J., Kim, S. D., Rhee, I. K. and Kim, J. G., “A new strain of *Arthrimum phaeospermum* isolated from *Carex kobomugi* Ohwi is capable of gibberellins production,” *Biotechnol. Lett.*, **31**(2), 283~287(2009).
15. Nehl, D. B., Allen, S. J. and Brown, J. F., “Deleterious rhizosphere bacteria an intergrading perspective (review),” *Appl. Soil Ecol.*, **5**(1), 1~20(1996).
16. Johnson, D. L., Anderson, D. R. and McGrath, S. P., “Soil microbial response during the phytoremediation of a PAH contaminated soil,” *Soil Biol. Biochem.*, **37**(12), 2334~2336(2005).

17. Koo, S. Y. and Cho, K. S., "Interaction between plants and rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal-contaminated soil," *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, **34**(2), 83~93(2006).
18. Hong, S. H., Lee, M. H., Kim, J. S. and Lee, E. Y., "Plant growth promoting activities and salt tolerance of rhizobacteria isolated from the native plants of coastal sand dune," *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.*, **40**(3), 161~167(2012).
19. Dell'Amico, E., Cavalca, L. and Andreoni, V., "Analysis of rhizobacterial communities in perennial *Graminaceae* from polluted water meadow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria," *FEMS Microbiol. Ecol.*, **52**(2), 153~162(2005).
20. Schwyn, B. and Neilands, J. B., "Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores," *Anal. Biochem.*, **160**(1), 47~56(1987).
21. Frankenberger, W. T. Jr. and Brunner, W., "Method of detection of auxin-indole-3-acetic acid in soil by high performance liquid chromatography," *Soil Sci. Soc. Am. J.*, **47**(2), 237~241(1983).
22. Gutierrez Mafiero, E. J., Acero, N., J Lucasm A. and Probanza, A., "The influence of native rhizobacteria on European alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) growth," *Plant Soil*, **182**(1), 67~74(1996).
23. Poonguzhali, S., Madhaiyan, M. and Sa, T., "Cultivation-dependent characterization of rhizobacterial communities from field grown Chinese cabbage *Brassica campestris* ssp *pekinensis* and screening of traits for potential plant growth promotion," *Plant Soil*, **286**(1-2), 167~180(2006).
24. Koo, S. Y. and Cho, K. S., "Characterization of *Serratia* sp. K1RP-49 for Application to the Rhizoremediation of Heavy Metals," *Environ. Earth Sci.*, **1**, 3~13(2011).
25. Lee, E. S. and Hong, G. S., "Plant growth promotion by purple nonsulfur *Rhodopseudomonas faecalis* strains," *Kor. J. Microbiol.*, **46**(2), 157~161(2010).
26. Deikman, J., "Molecular mechanisms of ethylene regulation of gene transcription," *Plant Physiol.*, **100**(3), 561~566(1997).
27. Glick, B. R., "Phytoremediation: synergistic use of plants and bacteria to clean up the environment," *Biotechnol. Adv.*, **21**(5), 383~393(2006).
28. Belimov, A. A., Hontzas, N., Safronova, V. I., Demchinskaya, S. V., Piluzza, G., Bullitta, S. and Glick, B. R., "Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.)," *Soil Biol. Biochem.*, **37**(2), 241~250(2005).
29. Glick, B. R., Penrose, D. M. and Li, J., "A model for the lowering of plant ethylene concentration by plant growth-promoting bacteria," *J. Theor. Biol.*, **190**(1), 63~68(2008).
30. Hall, J. A., Peirson, D., Ghoch, S. and Glick, B. R., "Root elongation in various agronomic crops by the plant growth promoting rhizobacterium *Pseudomonas putida* GR12-2," *Isr. J. Plant Sci.*, **44**(1), 37~42(1996).
31. Schwyn, B. and Neilands, J. B., "Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores," *Anal. Biochem.*, **160**(1), 47~56(1987).
32. Park, M. S., Jung, S. R., Lee, M. S., Kim, K. O., Do, J. O., Lee, K. H., Kim, S. B. and Bae, K. S., "Isolation and Characterization of Bacteria Associated with Two Sand Dune Plant Species, *Calystegia soldanella* and *Elymus mollis*," *J. Microbiol.*, **43**(3), 219~227(2005).
33. Zhang, L., Wang, Y., Dai, J., Tang, Y., Yang, Q., Luo, X. and Fang, C., "*Bacillus korlensis* sp. nov., a moderately halotolerant bacterium isolated from a sand soil sample in China," *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **59**(7), 1787~1792(2009).
34. Godinho, A., R. and Bhosle, S., "Bacteria from sand dunes of gor promoting growth in eggplant," *World J. Agric. Sci.*, **6**(5), 555~564(2010).
35. Aslantas, R., Ramazan, C. and Sahin, F., "Effect of plant growth promoting rhizobacteria on young apple tree growth and fruit yield under orchard conditions," *Sci. Hortic.*, **111**(4), 371~377(2007).
36. Tank, N. and Saraf, M., "Enhancement of plant growth and decontamination of nickel-spiked soil using PGPR," *J. Basic Microbiol.*, **49**(2), 195~204(2009).
37. Qian, P. and Schoenau, J. J., "Practical applications of ion exchange resins in agricultural and environmental soil research," *Can. J. Soil Sci.*, **82**(1), 9~21(2002).
38. Esitken, A., L. Pirlak., Turan, M. and Sahin, F., "Effects of floral and foliar application of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on yield, growth and nutrition of sweet cherry," *Sci. Hortic.*, **110**(4), 324~327(2006).