

Diversity and Characteristics of Rhizosphere Microorganisms Isolated from the Soil around the Roots of Three Plants Native to the Dokdo Islands

Ye-Eun Kim, Hyeokjun Yoon, Young-Hyun You, Hyun Kim, Yeonggyo Seo, Miae Kim, Ju-Ri Woo, Yoon-Jong Nam, Khalmuratova Irina, Gyeong-Min Lee, Jin-Ha Song, Young-Ju Jin, Jong-Guk Kim* and Young-Bae Seu*

Department of Life Sciences and Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Received February 19, 2014 / Revised April 16, 2014 / Accepted April 16, 2014

Three plant species, *Aster sphathulifolius*, *Sedum oryzifolium*, and *Lysimachia mauritiana*, native to the Dokdo Islands in South Korea, were examined for rhizosphere microorganisms by using 16S rDNA sequences. Nine species of rhizosphere microorganisms were isolated from the three native plant species, respectively. Phylogenetic analysis showed that the microorganisms could be classified into 19 species belonging to four phyla (Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes and Proteobacteria), and the characteristics of the microbes were confirmed. Rhizosphere microorganisms from the six orders (Bacillales, Corynebacteriales, Flavobacteriales, Micrococcales, Oceanospirillales, and Rhodobacterales) were isolated from *S. oryzifolium* From *L. mauritiana*, microbes belonging to the seven orders (Bacillales, Flavobacteriales, Micrococcales, Oceanospirillales, Rhizobiales, and Rhodobacterales) were isolated. From *A. sphathulifolius*, the six orders of rhizosphere microorganisms (Alteromonadales, Bacillales, Corynebacteriales, Flavobacteriales, Micrococcales, and Rhizobiales) were isolated. These data showed that Actinobacteria and Proteobacteria were the dominant phyla for the rhizosphere of all three plants. To confirm the bacterial diversity in rhizospheres, Shannon's diversity index (H') was used at the genus level. In these data, the rhizosphere from *S. oryzifolium* and *L. mauritiana* had more diverse bacteria compared to that from *A. sphathulifolius*.

Key words : 16S rDNA, diversity, plants native to the Dokdo Islands, rhizosphere microorganisms, taxonomic analysis

서 론

동해 중남부의 울릉군 죽변면으로부터 217 km 떨어진 지점에 위치하고 있는 화산섬인 독도(Dokdo Island)는, 독특한 생태환경을 유지하기 때문에 2000년 9월 5일자로 천연기념물로서 지정되어 보존되고 있으며[19], 난류의 영향을 많이 받는 전형적인 해양성 기후 지역이며[5, 7, 23], 연평균 기온 12℃를 나타내고, 연중 계속적으로 내리는 비나 눈 때문에 연평균 85%의 습도가 유지되고 있다[1, 11]. 한 덩어리의 화산섬인 독도는 파랑에 의한 해식작용으로 인해 해저산의 해면 위의 부위가 동도와 서도를 포함한 여러 작은 섬들로 구성 되어 있고, 화산암, 안산암 그리고 현무암으로 이루어져 있다. 대부분이 40℃ 이상의 급사면을 갖기 때문에 토양층이 넓게 발달되지 못하고 30 cm 이하의 얇은 토양층을 이루고 있고, 토양의 특성이 건조

하고 염분함량이 높은 특징 때문에[5, 7] 육지에서와 같이 많은 종류의 식물군락이 형성되지는 못하였으나 48종의 식물이 자생하는 것으로 보고되고 있다[9, 10, 15, 17, 23].

독도의 동물상과 식물상에 대한 연구는 많이 보고되었지만 미생물상에 대한 연구는 비교적 최근에 이루어지고 있다. 알려진 바로는 독도에서 4개 속, 36종의 미생물이 보고되었다. 근권 세균은 생육중인 식물의 뿌리 주변 토양에 서식하면서 식물과 상호작용을 하는 미생물로서, 독도에 주를 이루고 있는 식물과 근권미생물 간의 상호관계에 대한 연구는 일부 수행되고 있는 실정이다[3, 6, 16].

토양발달이 거의 이루어져 있지 않은 암벽에서 주로 해국(*Aster sphathulifolius*), 갯까치수영(*Lysimachia mauritiana*), 땅채송화(*Sedum oryzifolium*) 등이 우점종으로 출현하고 있다. 이들 좋은 토양발달이 없거나 미약한 독도의 전역에 나타나는 전형적인 군락으로 바위가 노출되어 있는 지역에 발달한다[9]. 이러한 환경에서 자생하는 특정식물의 근권 미생물의 다양성을 확인하는 것은 독도의 미생물자원에 대한 주권을 선취하는데 그 의미를 갖는다. 따라서 본 연구에서는 독도에 자생하는 해안식물 *A. sphathulifolius*, *L. mauritiana*, *S. oryzifolium*의 근권 세균을 분리하고, 동정하였고 이들 세균의 다양성을 조사하고 근권 토양의 세균 집단 조성을 분석하였다.

*Corresponding author

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

E-mail : kimjg@knu.ac.kr (Jong-Guk Kim)

ybseu@knu.ac.kr (Young-Bae Seu)

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

재료 및 방법

시료 채취

본 연구에서 사용된 식물시료는 독도에서 자생하는 땅채송화(*Sedum oryzifolium*, So; 37° 14' 22.02" N, 131° 52' 6.11" E), 갯까치수영(*Lysimachia mauritiana*, Lm; 37° 14' 22.69" N, 131° 52' 10.09" E), 해국(*Aster sphathulifolius*, As; 37° 14' 22.78" N, 131° 52' 10.17" E)을 사용하였다(Table 1).

세균의 분리 및 배양

근권 토양 샘플로부터 다양한 균주의 분리를 위하여 선택 배지(Marine broth & agar medium, MA)를 사용하였다. 시료 1 g을 멸균식염수(0.85% NaCl) 9 ml에 현탁한 후, 상등액을 희석(10⁻⁴~10⁻⁶배)하여 균원 시료로 사용하였다. 원핵미생물을 분리하기 위하여 tryptic soy agar 배지, marine agar 배지를 사용하였다. 그리고 pH (pH: 5.5, 7, 9)와 염농도(salinity: %, 농도구배조건(%): 3.5, 5, 7, 9, 12, 15, 20)에 따라 스크리닝 기법을 적용하여 고체배지에 균원 시료 희석용액을 100 µl씩 도말하고 세균은 30°C에서 1일간, 배양하여 형성된 각각의 독립 colony를 형태 및 색깔 등을 기준으로 분리하였다. 분리한 독립 colony들은 동일한 평판배지에서 백금으로 접종하여 세균은 30°C에서 1일 배양하여 순수 분리하였다

16S rRNA 유전자 염기서열에 기초한 세균의 동정

PCR로 증폭한 단편들은 QIAquick PCR purification kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 사용하여 정제한 후, 염기 서열 결정을 위해ABI PRISM BigDye Terminator cycle Sequencing Kit (PE Biosystems, Foster City, CA, USA)를 사용하여 sequencing 반응을 수행하여, 생산된 DNA단편들은 ABI 310 DNA sequencer (Perkin Elmer, Foster City, CA, USA)를 사용하여 분석하였다[24]. 배양된 균체로부터 DNA를 분리하여 16S rDNA 영역의 서열을 27 forward, 1492 reverse primer을 사용하여 확인하여 동정한 후, 분석하여 다양한 서식지 식물들과 원핵미생물의 유전적 특징에 기초하여 균주의 다양성을 확인하였다[25]. 모든 균주의 염기 서열들은 NCBI GenBank database의 BLASTN으로 동정 되었고 Ez-Taxon database와 비교하여 계통을 확인하였다.

근권세균의 계통관계 분석과 다양성 분석

근권세균의 계통관계를 분석하기 위하여 세균의 염기서열을 MEGA 5.2프로그램 Neighbor-Joining (1000 bootstrap replicates) 방법을 수행하여 분석하였다[12]. 근권 세균의 다양성 분석을 위하여 Shannon's diversity index (H)를 적용하여 분석 확인하였다[2, 4, 25].

결과 및 고찰

독도 자생식물의 근권으로부터 배양 가능한 세균의 분리와 계통학적 분석

독도에 자생하고 있는 식물인 *S. oryzifolium*, *L. mauritiana* 및 *A. sphathulifolius*에서 각 9균주 합계 27균주의 근권 세균을 분리하였다. 세가지 식물 뿌리 주변의 토양으로부터 분리된 세균의 염기서열을 분석하여 동정을 수행하였으며, NCBI의 GenBank로부터 accession No. [KF740538-KF740564]를 제공받았다(Table 1, 2). 본 연구 결과로 얻어진 3종의 식물에서 원핵미생물의 분포는 계통학적 분석을 수행하였을 때 크게 4문 19종에 속함을 알 수 있었다(Table 3).

독도의 자생식물 *S. oryzifolium*에서는 Rhodobacterales목 (Order)에 *Paracoccus* (*P.*)속, *Loktanella* (*Lok.*)속에 속하는 세균이 확인되었고, Micrococcales목에 속하는 *Isoptericola* (*I.*)속, *Kytococcus* (*K.*)속이 확인되었으며, Corynebacterales목에 속하는 *Gordonia* (*Gor.*)속과 Flavobacteriales목에 속하는 *Gillisia* (*Gill.*)속, Oceanospirillales목에 속하는 *Salinicola* (*S.*)속이 확인되었다. 또한 Bacillales목에 속하는 *Halobacillus* (*H.*)속, *Staphylococcus* (*Staphyl.*)속이 확인되었다. 자생식물 *L. mauritiana*에서는 Micrococcales목에 속하는 *Curtobacterium* (*C.*)속, *I.*속, *Micrococcus* (*M.*)속이 확인되었고, Flavobacteriales목에 속하는 *Joostella* (*J.*)속, *Leeuwenhoekella* (*L.*)속이 확인되었으며, Rhizobiales목에 속하는 *Aurantimonas* (*A.*)속과 Oceanospirillales목에 속하는 *S.*속, Rhodobacterales목에 속하는 *P.*속, Bacillales목에 속하는 *H.*속이 분리, 확인되었다. 자생식물 *A. sphathulifolius*에서는 Flavobacteriales목에 속하는 *L.*속, *J.*속이 확인되었으며, Rhizobiales목에 속하는 *Mesorhizobium* (*Mesorhiz.*)속, Corynebacterales목에 속하는 *Dietzia* (*D.*)속이 확인되었고, Micrococcales목에 속하는 *Arthrobacter* (*Arthr.*)속, Alteromonadales목에 속하는 *Idionarina* (*Id.*)속, 그리고

Table 1. Geographic coordinates of the sampling locations of the three plant species on the Dokdo Islands

Plant names	Plant code	Geographic coordinates
<i>Sedum oryzifolium</i>	So	37° 14' 22.02" N, 131° 52' 6.11" E
<i>Lysimachia mauritiana</i>	Lm	37° 14' 22.69" N, 131° 52' 10.09" E
<i>Aster sphathulifolius</i>	As	37° 14' 22.78" N, 131° 52' 10.17" E

Soil samples were collected from around roots of three plants species (*Sedum oryzifolium*, So; *Lysimachia mauritiana*, Lm; and *Aster sphathulifolius*, As) native to Dokdo.

Table 2. Identification and characteristics of rhizosphere microorganisms isolated from the soil around roots of plants native to the Dokdo Islands

Plant code	Strains No.	Closely related bacterial sequences	Accession No.	Similarity (%)	pH/Salinity
So	D2-1So-4B-6-2	<i>Paracoccus denitrificans</i> DSM 413	KF740559	97.52	pH 5.5
	D2-1So-4C-8-2	<i>Isoptricola halotolerans</i> YIM 70177	KF740549	98.22	pH 9
	D2-1So-4D-1-2	<i>Gordonia terrae</i> DSM 43249	KF740544	97.83	S 3.5%
	D2-1So-4D-7-1	<i>Gillisia myxillae</i> UST050418-085	KF740543	98.63	S 3.5%
	D2-1So-4E-2-2	<i>Salinicola salarius</i> M27	KF740561	99.285	S 5%
	D2-1So-4E-9-1	<i>Loktanella salsilacus</i> LMG 21507	KF740556	98.20	S 5%
	D2-1So-4F-2-1	<i>Halobacillus alkaliphilus</i> FP5	KF740545	98.67	S 7%
	D2-1So-5G-15-1	<i>Kytococcus sedentarius</i> DSM 20547	KF740553	99.86	S 9%
	D2-1So-6G-1-3	<i>Staphylococcus haemolyticus</i> ATCC 29970	KF740564	99.65	S 9%
Lm	D2-7Lm-6B-6-1	<i>Flavobacterium oceanosedimentum</i> ATCC 31317	KF740542	99.57	pH 5.5
	D2-7Lm-6C-2-1	<i>Isoptricola halotolerans</i> YIM 70177	KF740550	98.22	pH 9
	D2-7Lm-6C-8-1	<i>Micrococcus endophyticus</i> YIM 56238	KF740558	99.86	pH 9
	D2-7Lm-4E-2-1	<i>Joostella marina</i> En5	KF740552	99.64	S 5%
	D2-7Lm-5E-7-1	<i>Aurantimonas coralicida</i> WP1	KF740539	99.93	S 5%
	D2-7Lm-4G-5-3	<i>Leeuwenhoekiella marinoflava</i> LMG 1345	KF740554	98.99	S 9%
	D2-7Lm-4G-7-2	<i>Salinicola socius</i> SMB35	KF740562	99.07	S 9%
	D2-7Lm-4G-8-2	<i>Paracoccus saliphilus</i> YIM 90738	KF740560	97.89	S 9%
	D2-7Lm-4G-11-1	<i>Halobacillus alkaliphilus</i> FP5	KF740546	98.60	S 9%
As	D2-8As-4B-2-2	<i>Leeuwenhoekiella marinoflava</i> LMG 1345	KF740555	98.72	pH 5.5
	D2-8As-4C-3-1	<i>Mesorhizobium thiogangeticum</i> SJT	KF740557	97.61	pH 9
	D2-8As-4C-3-2	<i>Dietzia maris</i> DSM 43672	KF740541	99.93	pH 9
	D2-8As-4D-3-1	<i>Arthrobacter pascens</i> DSM 20545	KF740538	99.07	S 3.5%
	D2-8As-4G-6-3	<i>Idiomarina baltica</i> OS145	KF740547	96.07	S 9%
	D2-8As-4G-7-1	<i>Joostella marina</i> En5	KF740551	99.93	S 9%
	D2-8As-4G-8-1	<i>Idiomarina loihiensis</i> L2TR	KF740548	99.72	S 9%
	D2-8As-4G-10-1	<i>Bacillus decolorationis</i> LMG 19507	KF740540	97.55	S 9%
	D2-8As-5G-6-3	<i>Staphylococcus caprae</i> ATCC 35538	KF740563	99.65	S 9%

Twenty-seven strains of rhizosphere microorganisms were isolated from the three native plants species. Maximum salinity and pH ranges of strains are shown in the table. *Sedum oryzifolium*, So; *Lysimachia mauritiana*, Lm; and *Aster sphathulifolius*, As.

Table 3. Taxonomic composition of rhizosphere microorganisms isolated from the three plant species native to the Dokdo Islands

Phylum	Order	Genus	Distribution ratio (%)
Actinobacteria	Corynebacteriales	<i>Dietzia</i>	3.7
		<i>Gordonia</i>	3.7
	Micrococcales	<i>Arthrobacter</i>	3.7
		<i>Curtobacterium</i>	3.7
		<i>Isoptricola</i>	7.4
		<i>Kytococcus</i>	3.7
		<i>Micrococcus</i>	3.7
Bacteroidetes	Flavobacteriales	<i>Gillisia</i>	3.7
		<i>Joostella</i>	7.4
		<i>Leeuwenhoekiella</i>	7.4
Firmicutes	Bacillales	<i>Bacillus_g27</i>	3.7
		<i>Halobacillus</i>	7.4
		<i>Staphylococcus</i>	7.4
Proteobacteria	Alteromonadales	<i>Idiomarina</i>	7.4
	Oceanospirillales	<i>Salinicola</i>	7.4
	Rhizobiales	<i>Aurantimonas</i>	3.7
	Rhodobacterales	<i>Mesorhizobium</i>	3.7
		<i>Loktanella</i>	3.7
	<i>Paracoccus</i>	7.4	

The isolated microorganisms were classified into nineteen species belonging to the four phyla (Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, and Proteobacteria). The table shows the distribution ratio of all isolated bacterial strains, identified to the phylum, order and genus (%).

Bacillales목에 속하는 *Bacillus* (*B.*)속과 *Staphyl.*속이 분리, 동정, 확인되었다(Table 2).

분리된 근권 세균의 다양성 분석

본 연구를 바탕으로 3종의 자생식물에서 방선균문(Actinobacteria)과 프로테오박테리아문(Proteobacteria)에 속하는 근권세균이 많이 존재함을 확인 할 수 있었다. 방선균문은 그람 양성균으로, G+C 함량이 높은 계통으로 Corynebacteriales목과 Micrococcales목이 주로 확인되었다(Table 3). 그람음성균 이면서 프로테오박테리아문에 속하는 4가지 강 중에 주로 Alphaproteobacteria강과 Gammaproteobacteria강이 확인되었고, 여기에 속하는 Alteromonadales목, Oceanospirillales목, Rhizobiales목, Rhodobacterales목의 근권세균이 확인되었다(Table 3). 기존 연구결과를 보았을 때, 토양에 존재하는 세균 중 방선균문과 프로테오박테리아문, 그리고 아키도박테리움균(Acidobacteria)문이 우점하는 것을 알 수 있다[13, 14, 18, 20, 21]. 아키도박테리움균문은 난배양성 토양세균으로, 토양에는 많이 존재하나 배양상의 어려움을 가지고 있다. 따라서

본 실험의 결과 자생식물의 근권에서 분리된 세균이 방선균문과 프로테오박테리아문에 우점하는 것은 기존의 데이터와 많은 부분 일치함을 알 수 있었다.

독도에 자생하는 해양 식물로부터 분리된 근권세균의 유전학적 다양성을 확인하기 위하여 Shannon's diversity index를 이용하여 확인하였다. 독도 자생 식물로부터 분리된 내생진균류의 다양성 지수는 *S. oryzaefolium* (2.20), *L. mauritiana* (2.20), *A. sphathulifolius* (2.04)으로 확인되었다(Table 4). 세가지 식물 중에 *S. oryzaefolium*와 *L. mauritiana*이 근권세균의 다양성 지수가 비슷한 수치로 나왔으며, *A. sphathulifolius*의 경우 다소 낮은 수치의 다양성을 갖는 것을 확인할 수 있었다.

본 연구에 분리 동정된 근권세균들 간의 유연관계를 확인하기 위하여 계통수를 작성하였다(Fig. 1).

분리된 근권세균의 생육조건 분석

미생물의 생육에 영향을 미치는 요인으로는 탄소원, 질소원, 온도, 산소, pH 및 염농도 등이 있다. 그 중에서 본 분리균주의 생육에 미치는 pH 또는 염류(NaCl)의 영향을 조사하

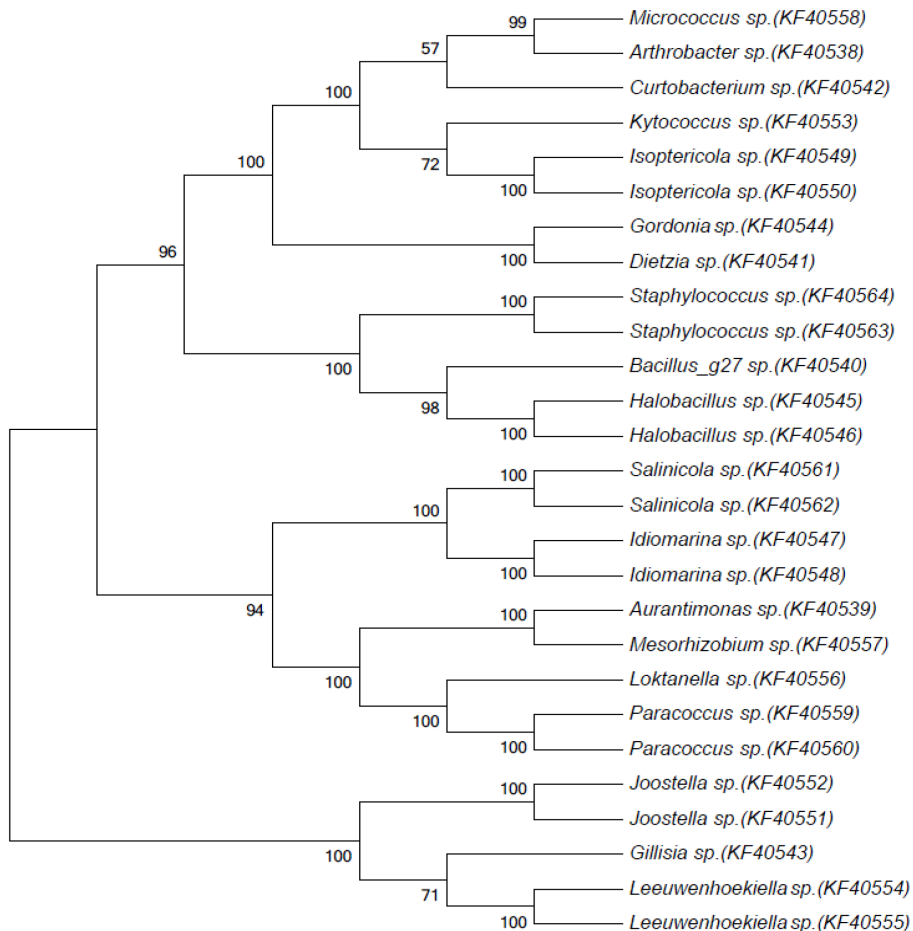


Fig. 1. Phylogenetic analysis of rhizosphere microorganisms isolated from three plant species native to the Dokdo Island. A phylogenetic tree was constructed by using the neighbor-joining method (1,000 bootstrap replications). The twenty seven taxa belong to the four phyla (Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes, and Proteobacteria).

Table 4. Diversity index and distribution of rhizosphere microorganisms isolated from the three plant species native to the Dokdo Island

Genera	<i>S. oryzaefolium</i>	<i>L. mauritiana</i>	<i>A. sphathulifolius</i>
<i>Dietzia</i>			1
<i>Gordonia</i>	1		
<i>Arthrobacter</i>			1
<i>Curtobacterium</i>		1	
<i>Isoptericola</i>	1	1	
<i>Kytococcus</i>	1		
<i>Micrococcus</i>		1	
<i>Gillisia</i>	1		
<i>Joostella</i>		1	1
<i>Leeuwenhoekiiella</i>		1	1
<i>Bacillus_g27</i>			1
<i>Halobacillus</i>	1	1	
<i>Staphylococcus</i>	1		1
<i>Idiomarina</i>			2
<i>Salinicola</i>	1	1	
<i>Aurantimonas</i>		1	
<i>Mesorhizobium</i>			1
<i>Loktanella</i>	1		
<i>Paracoccus</i>	1	1	
Total	9	9	9
Diversity index	2.20	2.20	2.04

Rhizosphere microorganisms were isolated from three native plant species, and were analyzed using Shannon's diversity index (*H*) at the genus level.

였다. 자생식물 *S. oryzaefolium*에서 *P*속에 속하는 균주는 pH 5.5의 약산성에서도 잘 생존 하였으며 *I*속에 속하는 균주는 pH9에서 생존이 가능함을 알 수 있었다. 내염성의 정도를 실험해 본 결과, *K*속과 *Staphyl*속이 9% 높은 염류에도 생존함이 확인되었다. 자생식물 *L. mauritiana*에서는 *C*속이 pH 5.5의 낮은 pH에서 생존 가능하였고, *I*속, *M*속은 pH 9의 높은 pH에서 생존 가능성이 확인되었다. 내염성 정도를 실험한 결과로는 *L*속, *S*속, *P*속, *H*속이 9%의 높은 내염성을 갖는 것으로 조사되었다. 자생식물 *A. sphathulifolius*에서는 *L*속이 약산성의 조건인 pH 5.5에서 생존 가능함을 확인할 수 있었고, *Mesorhiz*속과 *D*속은 pH 9에서 생존 가능성이 확인되었다. 내염성 정도를 측정 한 결과, *J*속, *Id*속, *B*속, *Staphyl*속은 9%의 높은 내염도에서도 잘 생존함이 확인되었다.

본 연구에서는 천연기념물 336호로 지정된 독도에서 자생하고 있는 *A. sphathulifolius*, *S. oryzaefolium*, *L. mauritiana*의 근권에서 원핵미생물을 분리, 동정을 수행하여 근권세균의 분포 및 다양성을 확인하였으며, 이 연구 결과는 독특한 독도 환경에서 자생하는 식물인 *A. sphathulifolius*, *S. oryzaefolium*, *L. mauritiana*과 근권 미생물 간의 상호 작용을 이해하는데 중요한 기초 자료로 활용될 것이 기대된다.

감사의 글

본 연구는 환경부 '차세대 에코이노베이션 기술개발사업'으로 지원받은 과제이며, 연구비 지원에 감사 드립니다.

References

- Chang, K. I., Kim, Y. B., Suk, M. S. and Byun, S. K. 2002. Hydrography around Dokdo. *Ocean Polar Res* **24**, 369-389.
- Fierer, N. and Jackson, R. B. 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc Natl Acad Sci USA* **103**, 626-631.
- Ham, M. S., Park, Y. M., Sung, H. R., Sumayo, M., Ryul, C. M., Park, S. H. and Ghim, S. Y. 2009. Characterization of rhizobacteria isolated from family solanaceae plants in Dokdo Island. *Korean J Microbiol Biotechnol* **37**, 110-117.
- Hill, T. C., Walsh, K. A., Harris, J. A. and Moffett, B. F. 2003. Using ecological diversity measures with bacterial communities. *FEMS Microbiol Ecol* **43**, 1-11.
- Hwang, S. K. and Jeon, Y. G. 2003. Eruption cycles and volcanic form of the Dokdo volcano, Korea. *Econ Environ Geol* **36**, 527-536.
- Jeon, S. A., Sung, H. R., Park, Y. M., Park, J. H. and Ghim, S. Y. 2009. Analysis of endospore-forming bacteria or nitrogen-fixing bacteria community isolated from plants rhizosphere in Dokdo Island. *Korean J Microbiol Biotechnol* **37**, 189-196.
- Jeon, Y. G. 2005. The regional geomorphology of Dokdo (Volcanic Island). *Korean J Reg Geol* **11**, 12-28.
- Kim, C. H., Park, J. W., Lee, M. H. and Park, C. H. 2013. Detailed bathymetry and submarine terraces in the coastal area of the Dokdo volcano in the Ulleung Basin, the East Sea (Sea of Japan). *J Coastl Res* **65**, 523-528.
- Kim, M. H., Oh, Y. J., Kim, C. S., Han, M. S., Lee, H. T. and Na, Y. E. 2007. The flora and vegetation distribution in Dokdo. *Korean J Environ Agric* **26**, 85-93.
- Lee, D. H., Cho, S. H. and Park, J. H. 2007. The analysis of vascular plant species composition in Dokdo Island. *Korean J Plant Taxon* **37**, 545-563.
- Lee, D. I. 1995. Atomshperic background values at Dokdo Island, Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* **28**.
- Mani, A., Arga, C. A., Jane, D., Nithyalakshmy, R., Kaveh, E. and Ehsan, M. 2012. Carbohydrate degrading bacteria closely associated with *Tetraselmis indica*: influence on algal growth. *Aquat Biol* **15**, 61-71.
- Miyashita, N. T., Iwanaga, H., Charles, S., Diway, B., Sabang, J., and Chong, L. 2013. Soil bacterial community structure in five tropical forests in Malaysia and one temperate forest in Japan revealed by pyrosequencing analyses of 16S rRNA gene sequence variation. *Genes Genet Syst* **88**, 93-103.
- Nacke, H., Thürmer, A., Wollherr, A., Will, C., Hodac, L., Herold, N., Schöning, I., Schrupf, M., and Daniel, R. 2011. Pyrosequencing-based assessment of bacterial community structure along different management types in German for-

- est and grassland soils. *PLoS One* **6**, e17000.
15. Park, S. J., Song, I. G., Park, S. J. and Lim, D. O. 2010. The flora and vegetation of Dokdo Island in Ulleung-gun, Gyeongsanbuk-do. *Korean J Env Eco* **24**, 264-278.
 16. Persello-Cartieaux, F., Nussaume, L. and Robaglia, C. 2003. Tales from the underground: Molecular plant-rhizobacteria interactions. *Plant Cell Environ* **26**, 189-199.
 17. Research Institute for Ullengdo & Dokdo Islands. 2008. pp. 166-221, The plant of Dokdo Island. Nature of Dokdo island. Kyungpook National University Press. Daegu, Korea.
 18. Roesch, L. F., Fulthorpe, R. R., Riva, A., Casella, G., Hadwin, A. K., Kent, A. D., Daroub, S. H., Camargo, F. A., Farmerie, W. G., and Triplett, E. W. 2007. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *ISME J* **1**, 283-290.
 19. Shin, H. T., Park, S. J., Kang, K. H. and Yoo, J. H. 2004. The establishment of conservation area and conservation strategy in Ullung island (II)-flora and management in Dokdo island, South Korea. *Korean J Env Eco* **18**, 221-230.
 20. Singh, D., Shi, L. and Adams, J. M. 2013. Bacterial diversity in the mountains of South-West China: Climate dominates over soil parameters. *J Microbiol* **51**, 439-447.
 21. Singh, D., Takahashi, K., Kim, M., Chun, J., and Adams, J. M. 2012. A hump-backed trend in bacterial diversity with elevation of Mount Fuji, Japan. *Microb Ecol* **63**, 429-437.
 22. Sohn, Y. K. 1995. Geology of Tok Island, Korea: eruptive and depositional processes of a shoaling to emergent island volcano. *Bull Volcanol* **56**, 660-674.
 23. Sun, B. Y., Sul, M. R., Im, J. A., Kim, C. H. and Kim, T. J. 2002. Evolution of endemic vascular plants of Ulleungdo and Dokdo in Korea- floristic and cytotaxonomic characteristic of vascular flora of Dokdo. *Korean J Plant Taxon* **32**, 143-158.
 24. Tang, Y. W., Von, G. A., Waddington, M. G., Hopkins, M. K., Smith, D. H., Li, H., Kolbert, C. P., Montgomery, S. O. and Persing, D. H. 2000. Identification of coryneform bacterial isolates by ribosomal DNA sequence analysis. *J Clin Microbiol* **38**, 1676-1678.
 25. Woo, P. C., Lau, S. K., Teng, H. and Yuen, K. Y. 2008. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect* **14**, 908-934.

초록 : 독도의 자생식물의 근권에서 분리한 원핵 미생물의 다양성 분석

김예은 · 윤혁준 · 유영현 · 김 현 · 서영교 · 김미애 · 우주리 · 남윤종 · 이리나 · 이경민 · 송진하 · 진영주 · 김종국* · 서영배*
(경북대학교 생명과학부)

본 연구에서는 독도에 자생하는 3종의 해안식물 해국(*Aster sphathulifolius*), 땅채송화(*Sedum oryzifolium*), 갯까치수영(*Lysimachia mauritiana*)을 연구 재료로 사용하였다. 각 식물에서 근권세균을 각 9주씩 분리하고, 동정하여 이들 세균의 다양성을 조사하고 근권 토양의 세균 집단 조성을 분석하였다. 16S rDNA의 염기서열 분석 결과, 계통학적으로 총 4문 19종의 근권세균이 분리, 동정, 확인되었다. 또한 본 실험을 통하여 독도 자생식물 근권 균주의 최적 생육 환경이 확인되었다. *S. oryzifolium*는 Rhodobacterales목, Micrococcales목, Corynebacterales목, Flavobacterales목, Oceanospirillales목, Bacillales목의 세균 군주가 확인되었으며, 자생식물 *L. mauritiana*에서는 Micrococcales목, Flavobacterales목, Rhizobiales목, Oceanospirillales목, Rhodobacterales목, Bacillales목의 세균 군주가 확인되었다. 자생식물 *A. sphathulifolius*에서는 Flavobacterales목, Rhizobiales목, Corynebacterales목, Micrococcales목, Alteromonadales목 및 Bacillales목의 군주가 분리, 동정, 확인되었다. 본 연구를 바탕으로 3종의 자생식물에서 방선균문(Actinobacteria)과 프로테오박테리아문(Proteobacteria)에 속하는 근권세균이 많이 존재함을 확인할 수 있었다.