연구논문

염 환경 하에서 *Bacillus* sp. SH1RP8와 Polyacrylate Polymers가 작물 생장에 미치는 영향에 관한 연구

홍선화¹, 김지슬¹, 박장우², 이은영^{1*}

A Study on the Effect of the Rhizobacterium, *Bacillus* sp. SH1RP8 and Potassium Family Polymers on the Crop Growth under Saline

Sun Hwa Hong¹, Ji Seul Kim¹, Jang Woo Park², and Eun Young Lee^{1*}

Received: 12 January 2015 / Revised: 21 April 2015 / Accepted: 25 April 2015

© 2015 The Korean Society for Biotechnology and Bioengineering

Abstract: This study aimed to evaluate the potential plantgrowth promoting effects of potassium polyacrylate, a superabsorbent polymer, and Bacillus sp. SH1RP8, a family of plant-growth-promoting bacteria. Potassium polyacrylate was selected as the polymer for use due to its high molecular weight and its ability to retain and continuously supply moisture. Plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR) were isolated from the soil and applied to plants growing in dry environments, such as saline conditions. The moisture absorption and retention abilities of potassium polyacrylate were evaluated at a high temperature (50°C) and in a dry condition, during which time the polymer showed a water retention potential of 19606.07% after 29 days. To overcome the reaming problem in the soil environment, natural polymers (such as cellulose) were mixed with the potassium acrylate. The shoot growths of Peucedanum japonicum Thunb and Arundo donax were significantly enhanced when treated with the mixture of the isolated rhizosphere bacterium SH1RP8 and potassium polyacrylate (63.5 and 124.3%, respectively).

Keywords: Crop growth, Polymers, Rhizobacterium, Saline condition

1. INTRODUCTION

토양생태계의 염류화 현상은 건조 지역에서 빈번하게 발생 하며, 지구온난화에 의해 수분 증발량이 증가되어 전세계 지 표면의 10%가 이미 염류화가 진행되었다 [1]. 염분이 토양에 존재할 경우 대부분 식물의 생장을 저해하고 염에 민감한 식 물인 콩과 식물의 경우는 고농도의 CI'에 의해 잎의 황백화 와 광합성 저해로 생장이 억제된다 [2]. 다양한 형태의 염화 물은 대기에서 분진 형태로 식물과 직접 접촉하거나 토양에 녹아 들어가 식물의 뿌리로 흡수되어 생장에 영향을 미친다. 토양에 농축된 염은 식물의 뿌리와 접촉하여 전반적인 생장 장애를 일으키며, 가지 등과 같은 특정 부위 및 식물 자체를 고사시킨다 [3]. 특히, 과도한 염의 흡수는 potassium, Mg²⁺, Ca²⁺ 등의 필수 원소의 흡수를 억제하며 [4], 효소의 구조와 기능을 저해하는 등의 직접적인 독성효과를 일으키며, Ca²⁺ 이온과 길항적으로 작용하여 막의 구조와 가능을 파괴하는 것으로 알려져 있다 [5]. 염의 과도한 유입으로 인해 고농도 의 염이 존재하는 토양에서 자란 식물에는 보통의 토양 조건 에서 자란 식물 보다 많은 양의 이온을 축적하는 것으로 알 려져 있다. 이러한 성질은 식물 체내에 염 이온을 축적해 결 국 독성농도에 이르며 세포 내의 영양소 균형을 깨뜨리게 된 다 [3]. 일부 보고에서는 이러한 염 스트레스로부터 식물을 보호하기 위해 질소비료를 공급하여 염에 의한 독성효과를

Tel: +82-31-220-2614, Fax: +82-31-220-2533 e-mail: ley@suwon.ac.kr

²㈜ 오상킨섹트

¹수원대학교 환경에너지공학과

Department of Environmental and Energy Engineering, The University of Suwon, Suwon 445-743, Korea

²Corp, Osang Kinsect, Wonju 220-701, Korea

완화시킨다고 보고되어 있지만 [6], 지속적인 비료의 공급은 토양의 산성화, 부영양화, 염류집적 등이 발생하여 작물의 품질 저하와 환경오염문제를 발생시키고 있다. 따라서 이러한 문제를 해결하고자 비료의 사용을 줄이고 이를 대체할 생물학적 처리에 관한 연구가 진행되고 있다. 특히, 생물학적 방제를 위한 다양한 미생물의 개발이 많은 연구자에 의해 이루어지고 있다 [7-9]. 미생물 중에서도 뿌리의 근권에서 식물이 제공하는 뿌리 삼출물을 이용하여 성장하며 식물의 성장을 향상시키는 근권미생물에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다 [10].

역 스트레스는 식물체의 수분결핍을 유도하는 것으로 알려져 있는데 [11], 이러한 문제를 해결하고자 환경 하에서 수분 보유력이 우수한 고흡수성 폴리머 (super absorbent polymer; SAP)를 활용하고자 하였다. SAP는 수분 보유력이 뛰어날 뿐만 아니라 흡수한 상태를 유지하는 능력이 뛰어나 관수횟수를 줄일 수 있어, 에너지 절감을 위한 토양 개량제라는 장점을 가지고 있다 [12]. 또한, 건조한 토양 환경에서 수분 보유력을 높임으로써 식물의 활착과 성장을 촉진하며, 생산량을 증가시킨다고 보고되었다 [13]. 이밖에도 토양에 함유되어 있는 유기물을 보호하고 습식과 건식이 번갈아 주어지는 환경에서도 적응이 빠르다고 보고되었다 [12,14].

이에 본 연구진은 염 환경하에서 비료의 대안으로 식물성 장촉진 근권 세균과 수분 조절제로서 SAP를 활용하여 염 환 경 하에서 갯기름나물과 줄무늬 갈대의 생장에 미치는 영향 을 평가하고자 하였다.

2. MATERIALS AND METHOD

2.1. 선별된 고흡수성 폴리머의 환경에 따른 수분흡수율 평가

고농도의 역환경에서 생장하는 식물의 생장촉진에 적합한 고흡수성폴리머 (superabsorbent polymer: SAP)를 선정하기 위하여 sodium계열 (AquasorbentTM SAP A1020NW, CHE-MOLE, China)과 Potassium계열 (AquasorbentTM SAP A1020 KW, CHEMOLE, China)의 고흡수성 폴리머를 가지고 흡수 율을 평가하였다. 고분자 폴리머의 크기는 두 폴리머 모두 1.0~2.0 mm이다. 실험은 두 가지 조건에서 진행되었는데, 첫 번째는 고온의 외부환경에 노출된 폴리머가 수분과 건조가 반복되는 환경을 재현하는 실험이었다. 먼저 50°C의 건조기 에서 24시간 완전 건조시킨 후 다시 증류수 1,000 mL에 넣고 상온에서 30분간 방치하여 수분을 포화상태로 흡수시켰다. 위의 방법을 30일 동안 수행하여 각각의 건조, 재흡수에 따 른 수분 흡수량의 변화를 비교하였다. 수분 흡수율 평가는 다음과 같이 수행하였다: 선택된 폴리머를 각각 1 g씩 비이커 에 넣어 증류수로 1000 mL를 맞추었다. 상온에서 일정시간 별로 방치한 후 각각 부직포로 만들어진 티백 (50×50×10 mm (L×W×H))에 팽윤된 겔을 넣었다. 30분간 티백에서 물이 충분히 빠지도록 스탠드에 거치한 후 방치시키고 티백의 중

량을 일정시간 별로 측정하여 흡수율을 측정하였다. 이와 같은 실험결과는 일시적인 수분 흡수율과 더불어 장기간에 걸친 수분 보유력을 알아볼 수 있다.

두 번째는 SAP을 토양환경에 이용할 경우 일정기간 토양에서 잔류하며 분해되지 않는 문제점이 있기 때문에 천연 폴리머인 cellulose를 일정 비율 (potassium polyacrylate: cellulose = 10:0, 8:2, 5:5, 2:8, 0:10) 혼합하여 생분해율을 향상시키고자 하였다. 적정 혼합비율은 일정 혼합농도에서의 수분흡수율을 측정함으로서 결정하였다. 흡수율은 증류수 1,000 mL에 넣고 상온에서 30분간 침지하여 폴리머를 팽윤시키고,일정시간 경과 후 팽윤 전후의 폴리머의 무게를 구하여흡수된 수분량을 아래의 식을 이용하여 계산하였다 [15].

호수술(%) =
$$\frac{m_2 - m_1}{m_1} \times 100$$

 m_1 : 팽윤 되기 전의 폴리머와 티백의 초기 중량(g) m_2 : 수분 흡수되어 팽윤된 폴리머와 티백의 중량(g)

또한, 혼합물의 생분해율 평가는 토양중의 생분해도를 이용하였다. 생분해도 검정은 시료의 호기성 퇴비화 조건에서의 생분해도 검정법 (KS M 3100-1)인 "퇴비-퇴비화 조건에서 플라스틱의 호기성 생분해도 및 붕괴도 측정 - 제 1부: 적정에 의한 발생 이산화탄소의 정량법"을 적용하여 시험을 수행하였다. 누적 이산화탄소의 발생량 (ThCO₂)과 생분해도 (DT)는 아래의 식에 의해 계산하였다.

 $^{\circ}hCO_2 = MTOT \times CTOT \times 44/11$

MTOT: 시험 시작시 퇴비에 첨가된 시료 중 건조 고형분의 양(g)

CTOT: 시료의 총 건조고형분에 포함된 유기탄소의 비율 (g/g)

44/12: 이산화탄소의 분자량과 탄소의 분자량

 $T = [(CO₂)T - (CO₂)B]/ThCO₂ \times 100$

 $(CO_2)T$: 시료가 담긴 퇴비화 용기로부터 발생한 이산화탄 소의 누적량(g)

(CO₂)B: 접종원 용기로부터 발생하는 이산화탄소 누적량 의 평균(g)

ThCO₂: 용기 속 시료에 의해 발생하는 이론적 이산화탄소 의 양(g)

2.2. Bacillus sp. SH1RP8과 SAP가 염분이 함유된 토양에 서의 식물생장에 미치는 영향 평가

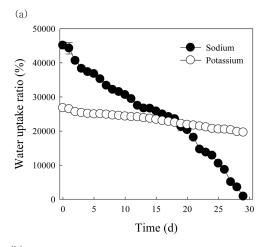
토양은 해안가의 사구토양 (염분 4%)을 채취하였고 potassium 계열 polyacrylate와 cellulose를 8:2 (w/w)으로 혼합하여 준비하였다. 사구 토양에 미리 준비한 폴리머를 0.5% (w/w)

v)첨가하여 혼합한 후, 이전 연구에서 분리한 식물성장촉진 근권세균 Bacillus sp.SHRP8를 접종하였다 [16]. 미생물은 2 L의 LB배지에 3일간 배양 (30°C)한 후에 배양액을 10000 rpm으로 10분간 원심분리하여 균체를 회수하였다. 회수된 균주는 멸균된 생리식염수를 첨가하여 현탁한 후 다시 동일 조건으로 원심분리하였고 이 과정을 2차례 반복하여 균체를 세척해 주었다. 세척한 균체는 멸균된 생리식염수 100 mL에 현탁한 후 현탁액을 토양에 주입한 후, 충분히 혼합하였다 (1.4 ×10⁷ cell/g). 을 혼합하여 실험하였다. 미생물을 각 처리 구마다 정식 전 1회, 정식 후 바로 1회 접종하였다. 실험에 사 용된 화분은 지름 59 cm, 높이 18 cm으로 선택하여 이용하였 고, 각각의 화분에는 약 2.4 kg의 토양이 들어갔다. 식물은 염 이 존재하는 건조한 환경에서도 잘 성장하는 갯기름나물 (Peucedanum japonicum Thunb.)와 줄무늬 갈대 (Arundo donax)를 사용하였다 [16]. 관수조건은 5일에 1회, 물은 1 L/ 화분하였다. 20~25℃ 조건에서 실내 재배하였다.

2.3. Real time PCR을 이용한 Bacillus sp. SH1RP8의 정량 분석

토양에 존재하는 Bacillus sp. SH1RP8를 real time PCR을 이 용해 정량화 하였다. DNA 검출을 위한 probe와 primers의 디 자인을 위하여, SH1RP8균주의 16S rDNA는 gene primer인 27f (AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG; M=C:A)와 1492r (TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACTT; Y=C:T) primers를 이용하여 PCR을 수행하였다 [17]. PCR은 2x hot taq (PCRbio HS taq mix, UK)을 이용해 수행하였다. PCR조건은 pre-denaturation은 95°C에서 10분, denaturation은 96°C에서 30초, annealing은 56°C에서 30초, extension은 70°C에서 30초로 28 cycle 실행한 후에 72°C에서 5분 동안 final extension을 하였 다. 증폭된 16S rDNA는 PCR purification kit (QIAGEN GmbH, Hilden, Germany)를 이용하여 정제하였다. 분석된 sequence 는 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)에서 조사하 여 균주의 종을 확인하였다 [18]. National Center for Biotechnology and Information (NCBI) Blast search 결과, SH1RP8의 sequences 중에서 특정 부분을 골라 SH1RP8 균주를 위한 probe와 primers를 디자인하였다.

Real-time PCR분석을 위한 genomic DNA는 토양 시료로부터 추출하였다 (Fast DNA SPIN for Soil kit, Q-BIOgene, USA). 그 후 DNA시료를 정제하여 (PCR Purification Kit, QIAGEN, USA) qRT-PCR을 수행하였다. RT-PCR (illumine real time PCR system, USA)은 25 μL sample을 MicroAmp Optical 48-well에 넣어 MicroAmp Optical Caps (Applied Biosystems, USA)으로 덮어 반응을 시켰다. RT-PCR 후에, 검출하고자 하는 target gene의 양을 정량적으로 평가하기 위해



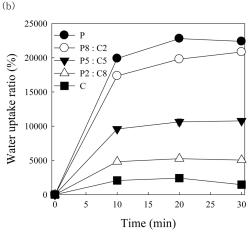


Fig. 1. Water uptake rate of the polymer in repeated dry environment (a) and water absorption according to the mixing ratio of the polymer (b); P, polymer; C, cellulose.

RT-PCR 결과 얻은 Ct (threshold cycle) 값을 standard curve를 통해 DNA 농도로 환산하였다. 시료의 DNA 농도는 다시 cells/g로 환산하였다. 모든 실험은 3반복으로 수행하였다.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. 선별된 SAP의 다양한 환경에 따른 수분흡수율 평가

본 연구에서는 염농도가 높아 건조하고 고온인 극한 환경에서 성장하는 식물의 성장 제한 요인인 수분보유력을 향상시킬 SAP를 선정하고자 두 종류의 polyacrylate의 수분 흡수율을 비교하였다 (Fig. 1(a)). 또한, 실험에서 선정된 potassium type polyacrylate의 생분해도를 향상시키기 위해 천연물 cell-

Table 1. Biodegradability according to the mixing ratio of the polymer

Days	Blank (g CO ₂) –	Potassium type SAP : Cellulose (g CO ₂)				
		0:10	2:8	5:5	8:2	10:0
ThCO ₂	8.250	6.783	4.767	2.567	0.917	0
Bio-degradability (%)		83.23	69.29	56.64	48.05	10.55

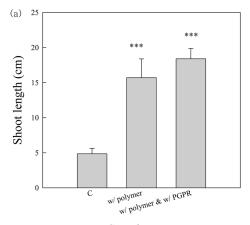
ulose를 일정량 첨가한 후 수분 흡수율을 비교하였다 (Fig. 1(b)). 그 결과, sodium type이 potassium type polyacrylate 폴리 머보다 초기 수분흡수율이 약 2배 정도 높았다. 그러나 29일 동안 강제 건조 후 재 흡수 실험을 진행하는 동안 sodium type은 급격히 수분 흡수율이 감소하는 반면에 potassium type polyacrylate의 폴리머는 수분 흡수율이 지속되었다. 29일 기준으로 수분 흡수율을 측정한 결과 sodium type은 853.75%인 반면 potassium type polyacrylate은 19606.07%로 매우 높은 수분 보유력을 나타냈다. 이에 본 연구에서는 potassium type polyacrylate의 폴리머를 선정하여 이후 실험을 진행하였다.

합성 SAP의 생분해율을 증가시키기 위해 천연 폴리머와 혼합하여 토양에서의 생분해율을 향상시킬 수 있는 적정 비율을 선정하고자 하였다 (Fig. 1(b)). 모든 폴리머들은 실험을 시작한지 10분 이내에 수분 흡수율이 최대가 되어 실험을 종료한 30분까지 안정적으로 수분이 흡수된 양을 유지하였다. 각각의 수분 흡수율을 비교한 결과, 천연 폴리머 (cellulose)

단독의 수분 흡수율이 가장 낮았고 (30분 기준으로 1457.3%), 첨가된 천연폴리머 (cellulose)의 비율이 높아질수록 수분 흡 수율이 현저히 감소하였다. potassium polyacrylate폴리머 단 독일 때의 수분 흡수율은 22386.67%였고, potassium polyacrylate폴리머와 천연폴리머가 8:2 (w/w)으로 혼합된 제제 의 수분흡수율 (20840.00%)이 potassium polyacrylate폴리머 (22386.67%) 단독일 때와 가장 유사하였다 (Fig. 1(b)). 또한, 생분해도는 cellulose가 단독일 때 83.23%로 가장 우수하였 고, potassium polyacrylate폴리머의 비율이 높아질수록 생분 해율은 낮아졌다 (Table 1) 그러나 potassium polyacrylate폴리 머와 cellulose의 비율이 8:2, 5:5 그리고 2:8일 때는 생분해율 이 작은 폭으로 감소하다가 (48.05~69.29%) potassium 폴리 머 단독일대는 10.55%로 크게 감소하였다. 이에 본 연구에 서는 수분흡수율 및 생분해도를 종합적으로 분석한 결과. potassium polyacrylate폴리머와 cellulose를 8:2의 비율로 혼 합한 미생물과 함께 제제를 만들었고 이후 혼합제제의 생물 비료로써의 잠재력을 평가하고자 하였다.

3.2. Bacillus sp. SH1RP8과 SAP가 염분이 함유된 토양에 서의 식물생장에 미치는 영향 평가

4%의 염분이 함유된 토양에 식재된 갯기름 나물과 줄무늬 갈대를 이용하여 Bacillus sp. SH1RP8과 SAP의 혼합물이 식물의 생장에 미치는 영향을 평가하였다 (Fig. 2). 16주간 식물을 재배한 후 줄기 길이를 측정한 결과 갯기름나물의 대조군은 4.85±0.77 cm였고, 폴리머만 첨가한 실험군 1은 15.7±2.69 cm, 폴리머와 근권세균이 첨가된 실험군 2는 18.40±1.48 cm로 각각 223.7과 279.4%의 길이성장률이 나타났다. 줄무늬 갈대의 대조군은 5.48±1.014 cm였고, 폴리머만 첨가한 실험군 1은 8.96±1.84 cm, 폴리머와 근권세균이 첨가된 실험군 2는 12.29±1.70 cm로 각각 63.5과 124.3%로 갯기름 나물과 줄무늬 갈대 모두 크게 길이가 향상되었다. 16주 동안 실험을 진행하는 동안 대조군의 성장이 느렸던 이유는 모든 건조 관



Sample name

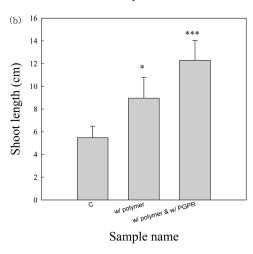


Fig. 2. Effects of the inoculations of *Bacillus sp*.SH1RP8 and super absorbent polymer on the growth of plants in soil mesocosm. (a) *Peucedanum japonicum Thunb.*, (b) *Arundo donax L. var. versicolor kunth.* An asterisk (*) means the statistically significant differences from control (*0.01< $p\le0.05$; **0.001< $p\le0.01$; *** $p\le0.001$).

수 주기를 5일에 한번씩 하여 건조한 환경을 형성해주었기 때문이다.

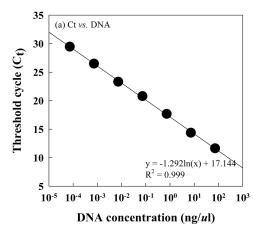
고분자폴리머는 수분보유력이 뛰어날 뿐만 아니라 흡수한 상태를 유지하는 능력이 뛰어나 관수횟수를 줄일 수 있어, 에너지 절감을 위한 토양 개량제라는 장점을 가지고 있다 [12]. 이에 본 연구에서는 5일 관수라는 건조한 환경에서도 식물의 생장이 향상되었던 것은 이러한 이유에서라고 사료된다. 이러한 SAP를 본 연구에서는 염분이 존재하는 건조한 환경에 적용하여 토양개량제의 가능성을 평가하였다.

본 연구에서 사용한 Bacillus sp. SH1RP8은 이전 연구에서 식물성장 촉진 능력이 우수함을 확인하였다 [16]. SH1RP8은 특히, indole acetic acid (IAA)와 aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase 활성이 우수한 균주이다. 식물성 호르몬 중 auxin은 생장 중인 줄기나 뿌리 끝 또는 어린잎에서 생성되어 줄기나 뿌리의 신장부로 옮겨져 그 부분의 세포 성장을 촉진할 수 있는 식물성 호르몬으로서, IAA는 auxin의

일종이다. 또한, ACC는 환경에서 에틸렌은 전구체로 식물의 필수 영양요소이지만 과다할 경우 식물의 독성 물질로 작용 한다. ACC deaminase는 이러한 에틸렌을 식물이 필요로 하 는 양 만큼 적정하게 보급해주는 역할을 한다. 이러한 성질 은 식물의 생장에 있어 중요한 기작으로 작용하며 본 연구에 서도 갯기름나물과 줄무늬 갈대의 생장을 향상시킨 것으로 사료된다. Bacillus sp. SH1RP8는 식물성장 촉진 능력을 가 진 미생물로 [16], 염이 존재하는 토양에서도 서식이 가능한 미생물이다. 일반적으로 고농도의 염은 단백질을 파괴하고 단백질의 합성을 저해하는 것으로 알려져 있다 [19]. 따라서, 염이 고농도로 존재할 경우 식물의 성장도 힘들지만, 다양한 독성물질로부터 식물을 보호할 수 있는 미생물의 성장이 이 루어질 수 없는 환경이 되기 때문에 고농도의 염 환경에서의 식물 재배는 매우 어렵다. 그러나 본 연구에서 사용한 SH1 RP8는 8%의 염이 존재하는 상황에서도 성장이 가능하며 식 물성장촉진 능력을 가지고 있기 때문에 고농도의 염 환경에 서도 적용이 가능하다. 그러나 건조한 환경에 의한 스트레스 는 식물과 미생물에게 특정유전자 발현으로 인한 스트레스 가 단백질이 유도되는 것으로 알려져 있다 [20]. 그러므로 건 조한 환경이 조성될 경우 미생물과 식물은 스트레스성 단백 질을 합성할 가능성이 매우 높아지게 된다. 이러한 문제를 보안하는 방법으로 고분자폴리머와 함께 Bacillus sp. SH1 RP8를 제제화하면 고온으로 인한 토양의 염류화에 매우 유 용한 생물 비료로 적용이 가능할 것이라 사료된다.

3.3. Real time PCR을 이용한 Bacillus sp. SH1RP8의 정량 분석

RT-PCR을 이용한 균주 모니터링을 위해 SH1RP8의 염기서 열을 분석한 후 동정하였다. Bacillus sp.로 동정된 SH1RP8 만을 검출하기 위해 특정 primer와 probe를 디자인하였다. Primers로 forward는 5'- ACG ATG AGT GCT AAG TGT TAG G-3'와 reverse는 5'- CCC AGG CGG AGT GCT TAA TG -3' 로 디자인하여 제작하였다. 또한, probe sequence는 5'- TTC CGC CCC TTA GTG-3'이고 5'에 FAM (6-carboxyfluorescein) 을 labeling하여 제작하였다. 제작된 probe 와 primer를 이용 해 토양에 존재하는 Bacillus sp. SH1RP8의 정량 분석을 위해 검량선을 작성하였다 (Fig. 3). 또한 제작된 probe와 primer가 SH1RP8만을 검출하는지 확인하기 위해 본 연구실에서 보유 하고 있는 미생물을 대상으로 민감도를 측정하였다 (Table 2). 그 결과 본 연구에서 제작된 probe와 primer는 특이적으로 SH1RP8만을 검출하는 것을 확인하였다. 작성된 검량선을 이 용해 토양으로부터 genomic DNA를 추출한 후 RT-PCR수행 한 의 결과값인 ct값을 cells/g값으로 환산하였다. 그 결과 갯 기름 나물과 줄무늬 갈대의 초기 접종량은 1.4×10⁷ cells/g이 였고, 실험이 종료된 16주 후에는 갯기름의 경우 5.3×10⁴ CFU/g였고, 줄무늬 갈대는 9.2×10^4 cells/g가 유지되었다. 미 생물의 감소율이 다소 높았던 이유는 염에 내성을 가진 미생 물이지만, 그래도 일부 미생물은 염이 존재하는 환경에서 지 속적인 성장을 하지 못하고 죽은 것으로 생각된다. 이러한



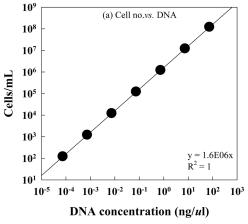


Fig. 3. Making of the RT PCR calibration curve of *Bacillus* sp. SH1RP8; (a) Ct values *vs.* genomic DNA concentration of SH1RP8, (b) genomic DNA concentration of SH1RP8 *vs.* viable cell numbers of SH1RP8.

Table 2. Comparison of RT-PCR threshold cycle values obtained from RT-PCR using different bacteria DNA

Species of bacteria	Threshold cycle values		
Bacillus sp. SH1RP8	11.77		
Tetrathiobacter sp.	31.57		
Lactobacillus brevis	37.60		
Brevundimonas diminuta	38.16		
NTC	37.63		

문제를 해결하기 위해서는 고농도의 염이 존재하는 환경에서 SH1RP8를 토양제제로 사용할 때 염 스트레스를 완화할수 있는 방법에 대한 추가 연구가 필요하다고 생각된다.

4. CONCLUSION

기온의 상승이 토양의 염류화를 촉진하고 식물의 생장 저해를 일으킨다. 이에 본 연구에서는 수분 보유력이 우수한 potassium polyacrylate와 내염성 식물성장 촉진 근권미생물인

Bacillus sp. SH1RP8가 염 환경하에서의 식물의 생장에 미치는 영향을 평가하고자 하였다. 그 결과, 갯기름나물의 대조군과 비교하여 폴리머만 존재할 경우 223.7%의 길이 생장향상률을 근권세균과 폴리머가 함께 첨가된 경우는 279.4%로 길이의 생장률이 크게 향상되었다. 줄무늬 갈대는 각각63.5과 124.3%로 줄무늬 갈대 역시 크게 생장률이 향상되었다. 이들은 폴리머로 인해 수분을 지속적으로 공급해 주는 것만으로도 생장률이 향상되었지만, 다양한 식물성장 촉진능을 가지는 미생물의 첨가로 생장률을 더욱 향상할 수 있는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과는 SAP와 Bacillus sp. SH1RP8를 첨가한 토양 개량제는 염에 노출된 토양에서의 생물 비료로서 활용이 가능함을 시사한다.

고흡수성 폴리머는 지속적으로 수분을 공급하고 식물 성장 촉진 근권세균은 염 환경과 같은 건조한 환경에서 성장이가능한 미생물로 분리하여 적용하였다. 수분흡수율을 50°C와 건조한 환경에서 평가하였고 29일 후 potassium polyacrylate은 수분흡수율이 19606.07%이였다. 그리고 토양에서의생분해율은 8:2 (cellulose: potassium type polyacrylate)로 천연폴리머와 혼합하였을 때가 가장 우수했다. 폴리머와 근권세균을 혼합하여 쥴무늬갈대와 갯기름 나물에 적용한 결과각각 63.5와 124.3%로 길이 성장이 크게 향상되었다.

Acknowledgements

This subject is supported by Korea Ministry of Environment as "The GAIA Project" (Project No. 2012000550023), for which the authors are grateful.

REFERENCES

- 1. Singleton, P. W. and B. Bohlool (1984) Effect of salinity on nodule formation by soybean. *Can. J. Plant Sci.* 61: 231-239.
- Poljakoff-Mayber, A. and J. Gale (1975) Morphological and anatomical changes in plants as a response to salinity stress. In: *Plants in saline environments*, pp. 97-117. In: Poljakoff-Mayber, A. and J. Gale (eds.), Springer-Verlag, Berlin.
- Shin, S. S., S. D. Park, H. S. Kim, and K. S. Lee (2010) Effects of calcium chloride and eco-friendly deicer on the plant growth. *J. Kor. Soc. Environ. Eng.* 32: 487-498
- Boursier, P. and A. Läuchli (1990) Growth responses and mineral nutrient relations of salt-stressed sorghum. *Crop Sci.* 30: 1226-1233.
- 5. Epstein, E., D. W. Rains, and O. E. Elzam (1963) Resolution of dual mechanism of potassium absorption by barley roots. *Proc.*

- Natl. Acad. Sci. U.S.A. 49: 684-692.
- Bae, J. J., Y. S. Choo, and S. D. Song (2003) Comparison of patterns of mineral ions and growth responses of 4 legume plants by nitrogen applications under saline conditions. *Kor. J. Life Sci.* 13: 473-480.
- Emmert, E. A. B. and J. Handelsman (1999) Biocontrol of plant disease: A gram-positive perspective. FEMS Microbiol. Lett. 171: 1-9
- Park, K. S., K. J. Kim, Y. J. Shin, S. Kim, and J. S. Cha (2008) High concentration of sodium chloride increases on survival of non-pathogenic *Erwinia carotovora* subsp. carotovora 9-3 during drying and storage. *Kor. J. Pesticide Sci.*12: 368-374.
- Lee, E. Y. and S. H. Hong (2013) Assessment of the changes in the microbial community in alkaline soils using biolog ecoplate and DGGE. Korean Soc. Biotechnol. Bioeng. J. 28: 275-281.
- Johnson, D. L., D. R. Anderson, and S. P. McGrath (2005) Soil microbial response during the phytoremediation of a PAH contaminated soil. *Soil Biol. Biochem.* 37: 2334-2336.
- Greenway, H. and R. Munns (1980) Mechanism of salt tolerance in nonhalophytes. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 31: 149-190.
- Bai, W., H. Zhang, B. Liu, Y. Wu, and J. Song (2010) Effects of super-absorbent polymers on the physical and chemical properties of soil following different wetting and drying cycles. *Soil Use Manage*. 26: 253-260.
- 13. Al-Darby, A. M. (1996) The hydraulic properties of a sandy soil treated with gel-forming soil conditioner. *Soil Technol.* 9: 15-28.
- Arbona, V., D. J. Iglesias, J. Jacas, E. Primo-Millo, M. Talon, and A. Gómez-Cadenas (2005) Hydrogel substrate amendment alleviates drought effects on young citrus plants. *Plant Soil* 270: 73-82.
- Sawut, A., M. Yimit, W. Sun, and I. Nurulla (2014) Photopolymerisation and characterization of maleylatedcellulose-g-poly(acrylic acid) superabsorbent polymer. *Carbohydr. Polym.* 101: 231-239.
- Hong, S. H. and E. Y. Lee (2014) Vegetation restoration and prevention of coastal sand dunes erosion using ion exchange resins and the plant growth-promoting rhizobacteria *Bacillus* sp. SH1RP8 isolated from indigenous plants. *Int. Biodeter. Biodegr.* 95: 262-269.
- Martinez, M. L., P. Moreno-Casasola, and G. Vázquez (1997) Effects of disturbance by sand movement and inundation by water on tropical dune vegetation dynamics. *Can. J. Bot.* 75: 2005-2014.
- Hristova, K. R., C. M. Lutenegger, and K. M. Scow (2001) Detection and quantification of methyl tert-butyl ether-degrading strain PM1 by real-time TaqMan PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 5154-5160.
- Pessarakli, M., J. T. Huber, and T. C. Tucker (1989) Protein synthesis in green beans under salt stress conditions. *J. Plant Nutrition* 12: 115-121.
- Claes, B., R. Dekeyser, M. Van den Bulcke, G. Bauw, M. Van Montagu, and A. Caplan (1990) Characterization of rice gene showing organ-specific expression in response to salt stress and drought. *The Plant Cell* 2: 19-27.