

Article

식물 성장을 촉진할 수 있는 구리 내성 세균의 분리

김민주 · 송홍규*

강원대학교 생명과학과

Isolation of copper-resistant bacteria with plant growth promoting capability

Min-Ju Kim and Hong-Gyu Song*

Department of Biological Sciences, Kangwon National University, Chuncheon 24341, Republic of Korea

(Received September 4, 2017; Revised October 24, 2017; Accepted October 26, 2017)

Some rhizobacteria were isolated, that have copper resistance and can confer copper resistance to plants allowing growth under copper stress. Isolated strains *Pseudomonas veronii* MS1 and *P. migulae* MS2 produced 0.13 and 0.26 mmol/ml of siderophore, that is a metal-chelating agent, and also showed 64.6 and 77.9% of biosorption ability for Cu in 20 mg/L Cu solution, respectively. Copper can catalyze a formation of harmful free radicals, which may cause oxidative stress in organisms. Removal activity of 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl radical and antioxidant capacity of strains MS1 and MS2 increased up to 82.6 and 78.1%, respectively compared to those of control at 24 h of incubation. They exhibited 7.10 and 6.42 μ mol α -ketobutyrate mg/h of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase activity, respectively, which reduced levels of stress hormone, ethylene in plants, and also produced indole-3-acetic acid and salicylic acid that can help plant growth under abiotic stress. All these results indicated that these copper-resistant rhizobacteria could confer copper resistance and growth promotion to plants.

Keywords: ACC deaminase, antioxidant capacity, Cu-resistant bacteria, plant growth promotion, siderophore

구리는 생물체의 생존을 위해 요구되는 필수미량원소이지만 구리가 함유된 물질의 과다한 사용이나 폐기물 투기 등에 의해 구리 농도가 높아지면 모든 생물체에 독성을 나타내게 된다(Cervantes and Gutierrez-Corona, 1994). 중금속이 유입되면 토양에 흡착되며 분해되지 않기 때문에 축적되어 식물에 스트레스로 작용하여 생장이 억제되고 농업에 피해를 유발하기 때문에 식물생장을 유지하고 촉진할 수 있는 방법이 필요하다. 또한 금속오염 토양 자체의 정화를 위한 식물환경복원 방법의 일환으로 과축적식물(hyperaccumulator)을 이용하는 식물추출법(phytoextraction)의 핵심도 식물의 금속에 대한 내성과 빠른 생장이다(Abou-Shanab *et al.*, 2006; Pandey *et al.*, 2013). 식물이 금속, 건조, 염분 등의 비생물적 스트레스를 받게 되면 이에 대한 반응으로 S-adenosylmethionine에서 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC)를 거쳐 식물 호르몬인 에틸렌이 합성되며 이의 농도가 높아지면 생장을 억제하고 노화, 성숙 등을 유도하기 때문에 스트레스 에틸렌이라 부른다(Morgan and Drew, 1997).

이런 스트레스 반응 시 식물 생장을 지속시키는 방법 중 하나로 식물생장촉진 근권세균[plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)]을 이용할 수 있다. 이들은 세포 표면에 금속을 흡착하고, 금속과 결합하는 siderophore를 생성하여 금속의 흡수를 막거나, 다양한 방법으로 금속으로 인한 산화 스트레스를 감소시킨다(Cervantes and Gutierrez-Corona, 1994). 한편 ACC deaminase를 분비하여 에틸렌의 농도를 낮추어

*For correspondence. E-mail: hgsong@kangwon.ac.kr;
Tel.: +82-33-250-8545; Fax: +82-33-259-5665

식물에 금속 스트레스에 대한 내성을 부여하고(Glick *et al.*, 1998), 대표적인 식물생장촉진 호르몬인 indole-3-acetic acid (IAA) 등의 분비, 가용한 질소나 인의 공급 등의 방법으로 식물의 성장을 촉진하며(Pandey *et al.*, 2013; Islam *et al.*, 2014), 또한 salicylic acid 분비를 통해 스트레스를 받는 식물의 성장을 촉진시킨다(Yusuf *et al.*, 2008). 이외에도 PGPR은 식물에서 금속결합 단백질인 metallothionein 생성을 촉진하여 금속의 독성을 감소시키는(Xia *et al.*, 2012) 등 다양한 방법으로 스트레스 하의 식물생장을 촉진시킬 수 있다. 그러나 이제까지 국내에서는 금속내성을 가진 식물생장촉진 근권세균에 대한 연구가 많지 않았으므로(Hong *et al.*, 2011), 본 연구에서 구리 내성 근권세균을 분리하고 이들의 특성을 조사하여 구리 스트레스를 받는 식물에 내성을 부여하며 이를 이용하여 효율적으로 식물생장을 촉진할 수 있는 가능성을 조사하였다.

재료 및 방법

구리 내성 균주의 분리 및 특성

구리 내성 세균의 분리를 위해 금, 은, 구리 등을 채취하던 경기도 광명시 가학광산 주변에 자생하는 식물 근권에서 토양 시료를 채취하였다. 시료 1 g을 생리식염수 10 ml과 혼합하여 진탕기(Recipro shaker RS-1, Jeio Tech)에서 진탕하였다[300 stroke/m (spm), 30 min]. 구리 첨가 Nutrient Broth [NB (Difco Lab) 8 g, CuSO₄·5H₂O 0.3 g, 1 L DW, pH 7]에 토양 현탁액을 1% 넣고 배양하고(30°C, 150 rpm, 24 h) 3회 계대배양 후 구리 첨가 NB 한천배지에 희석배양을 반복하여 균주를 순수분리하였다(Andreazza *et al.*, 2010). 분리 균주의 동정을 위해 (주)마이크로젠에 16S rRNA 염기서열분석을 의뢰하였으며 분석된 전체 염기서열을 National Center for Biotechnology Information (NCBI) 등록 균주의 염기서열과 비교하여 상동성을 조사하였다.

중 수준까지의 정확한 동정을 위해 균주의 탄소원 이용 특성을 Biolog EcoPlate™ (Biolog Inc.)를 이용하여 조사하였다(Garland, 1996). 균주를 96 well plate에 배양하여(30°C, 7일) 기질 이용에 따른 발색을 측정해서 OD₅₉₀이 0.5 이상이면 기질 이용을 양성으로 간주하여 +로 나타내고 1.0 이상이면 0.5 간격으로 +의 수를 더해서 기질 이용도를 표시하였다. 이 결과를 염기서열 결과와 함께 이용하여 균주를 최종 동정하였다.

한편 선발된 균주의 구리 농도에 따른 생장을 조사하기 위해 tryptic soy broth (TSB, Neogen Co.)에 구리의 농도가 각각 0, 100, 200, 300, 350과 700 mg/L가 되도록 CuSO₄를 첨가하여 배양하면서 24시간 간격으로 OD₆₀₀을 측정하였다.

분리균주의 구리 내성 기작

균주의 구리 흡착능 조사를 위해 균주를 NB배지 50 ml에서 선배양(30°C, 150 rpm, 48 h)하고, 원심분리(10,000 × g, 20 min) 후 세포를 회수하여 멸균 증류수로 2번 세척하고 건조시킨다. 건조된 세포 0.1 g을 100 ml의 구리 용액(10, 20, 40 mg/L)에 넣어 배양(30°C, 150 rpm) 중 시간 별로 10 ml씩 채취하여 원심분리(3,400 × g, 20 min) 후 상등액의 구리 농도를 neocuproine 방법을 사용해서 측정하였다(Silva *et al.*, 2009; Ye *et al.*, 2013).

균주의 siderophore 생성능 조사는 chrome azurol S (CAS) agar plate assay (Schwyn and Neilands, 1987)를 이용하였는데 CAS 한천평판에 구멍을 뚫고 균주를 배양하고(48 h, 30°C) 주변의 halo를 관찰하여 siderophore 생성능을 확인하였다. Siderophore의 정량은 균주를 King's medium B (KB, Difco Lab)에 배양하면서(48 h, 30°C, 150 rpm) Nagarajkumar 등 (2004)의 방법을 이용하여 24시간 간격으로 측정하였다.

자유 라디칼 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) 제거를 통한 균주의 항산화 활성은 NB 50 ml에 균주를 배양하면서 (30°C, 150 rpm) 24시간 간격으로 측정하였다. 배양액을 원심분리(8,000 × g, 10 min)하여 회수한 상등액 0.5 ml을 0.1 mM DPPH 용액 1 ml와 증류수 2 ml을 함께 잘 섞고 반응(30 min, 20°C, 암조건) 후 517 nm에서 흡광도의 감소를 측정하여 항산화 활성을 다음 식으로부터 얻었다(Abo-Elmagd, 2014);

$$\text{Scavenging activity (\%)} = [A_0 - (A_1 - A_2)] / A_0 * 100$$

A0 - 대조균의 흡광도 값(대조균은 배양액 대신 증류수)

A1 - 반응 혼합물의 흡광도 값

A2 - DPPH 용액을 넣지 않은 혼합물의 흡광도 값(DPPH 대신 증류수)

분리균주의 식물에 대한 구리 내성 및 생장촉진 부여 기작

MS1과 MS2 분리균주는 ACC를 질소원으로 이용하여 생장하므로 ACC deaminase 생성능을 가진 것으로 간주되어 Penrose와 Glick (2003)의 방법을 이용하여 ACC deaminase 활성을 정량하였다. 정량은 α-ketobutyrate를 이용하여 만든 표준곡선을 이용하였으며 균주의 단백질량은 Bradford 방법으로 정량하였다(Bradford, 1976).

균주의 살리실산 생성능 조사는 Zhang 등(2002)의 방법을 이용하였는데 TSB에서 균주를 배양하면서(30°C, 150 rpm) 24시간 간격으로 측정하였다. 배양액을 원심분리 하여(3,400 × g, 20 min) 상등액을 chloroform으로 2회 추출한 후 원심분리하고 chloroform 층만을 회수하여 회전농축기로 감압증발 후

0.2 μm 공극의 여과막으로 여과하여 high performance liquid chromatograph (HPLC, Waters Co.)로 분석하였다.

균주의 식물호르몬 중 옥신 계열의 indole-3-acetic acid (IAA) 생성은 1 mM의 tryptophan이 첨가된 brain heart broth (BHB, Difco Lab)에서 배양(30°C, 150 rpm) 중 24시간 주기로 생성능을 측정하였다. 배양액을 원심분리 하여(3,400 × g, 30 min) 상등액을 ethyl acetate로 추출하고 회수하여 감압증발 후 methanol을 첨가해 호르몬을 추출하여 HPLC로 분석하였다(Karadeniz *et al.*, 2006).

모든 실험은 삼반복으로 실시하였으며 결과는 Student's *t*-test를 통해 통계적 유의성을 조사하였다.

결과 및 고찰

구리 내성 균주의 분리 및 특성

가학광산 주변 토양에서 구리 내성을 가지며 성장률과 ACC deaminase 활성이 가장 높은 2개의 균주를 분리하여 16S rRNA 유전자 염기서열 분석 결과 MS1은 표준 균주인 *Pseudomonas veronii* CIP104663 그리고 MS2는 *P. migulae* CIP105470과 각각 99.0%의 상동성을 가지는 것으로 나타났다. 중수준까지의 정확한 동정을 위해 균주의 생리생화학적 특성 조사 결과 (Table 1) 각 균주는 염기서열 분석 결과와 동일한 종의 탄소 이용 특성과 일치하여(Palleroni, 2005) 최종적으로 *P. veronii* MS1과 *P. migulae* MS2로 동정하였다.

구리 첨가 TSB배지에서 균주들의 생장은 300 mg/L까지 구리 농도 증가에 따라 약간 감소하였지만 MS1은 300 mg/L의 농도에서도 24시간 쯤 OD₆₀₀이 1.0 이상을, MS2 균주는 이보다 약간 낮은 0.8 이상을 나타내며 이후에도 생장이 지속되었는데(Fig. 1), 이 두 균주는 유사한 조건에서 24시간 배양 시 대부분이 0.9 이하의 OD₆₀₀을 나타낸 30개의 구리 광산분리균주들보다 구리 내성이 우수하였다(Andreazza *et al.*, 2010). 또한 구리 농도 350 mg/L에서 MS1은 배양 48시간에, 700 mg/L에서는 72시간에도 1.0 이상의 흡광도가 측정되었으며, MS2는 350과 700 mg/L의 구리 농도에서 96시간 배양 후에도 1.0 이상의 흡광도를 나타내어 구리 존재 시 내성을 가지며 높은 성장률을 지속할 수 있는 것으로 나타났다(Fig. 2).

분리균주의 구리 내성 기작

균주의 구리 흡착 능력을 조사한 결과 MS1과 MS2는 96시간에 용액 내 구리 이온 10 mg/L의 경우 각각 72.6과 69.9%, 20 mg/L의 경우 각각 64.6과 77.9%를 흡착하였다(Fig. 3). 이 균

주들의 세포 내 구리 축적을 조사하지는 않았지만 20 mg/L 구리 수용액에서 약 37.5%의 구리 이온을 흡착 및 축적으로 제거한 *Stenotrophomonas maltophilia* 보다 구리 흡착 능력이 약 2배 이상 더 높았다(Ye *et al.*, 2013). 구리 농도 40 mg/L에서는 MS1은 48시간에 Cu²⁺를 27.8% 흡착하고 MS2는 24시간에 구리를 약 16.7% 흡착한 후 두 균주의 구리 흡착은 더 이상 증가하지 않았다. 구리 이온 농도에 따라 두 균주의 구리 흡착능은

Table 1. Metabolic profile of *P. veronii* MS1 and *P. migulae* MS2 as tested in the Biolog EcoPlate™ during 5 days

Substrate type	Substrate	<i>P. veronii</i> MS1	<i>P. migulae</i> MS2
Polymer	Tween 40	++	+
	Tween 80	++	+
	α-cyclodextrin	-	-
	glycogen	+	-
Carbohydrate	D-cellobiose	-	-
	α-D-lactose	-	-
	β-methyl-D-glucoside	-	-
	D-xylose	+++	++
	i-erythritol	+++	-
	D-mannitol	++++	++
	N-acetyl-D-glucosamine	++++	++
	glucose-1-phosphate	-	-
	D, L-α-glycerol phosphate	-	-
D-galactonic acid γ-lactone	+++	++	
Phenolic compound	2-hydroxy benzoic acid	-	-
	4-hydroxy benzoic acid	+++	++
Carboxylic acid	pyruvic acid methyl ester	+++	++
	D-galacturonic acid	+++	++
	D-glucosaminic acid	++++	++
	γ-hydroxybutyric acid	-	-
	itaconic acid	+++	-
	α-ketobutyric acid	+++	+
	D-malic acid	++++	+
Amino acid	L-arginine	+++	++
	L-asparagine	++++	++
	L-phenylalanine	+	+
	L-serine	+++	++
	L-threonine	+++	++
	glycyl-L-glutamic acid	+++	++
Amine	phenylethyl-amine	+	-
	putrescine	++++	+++

Positive reaction was read if it yielded an OD₅₉₀ higher than 0.5.
 -: 0.5 >, +: 0.5~1.0, ++: 1.0~1.5, +++: 1.5~2, ++++: 2.0 < (values: OD₅₉₀)

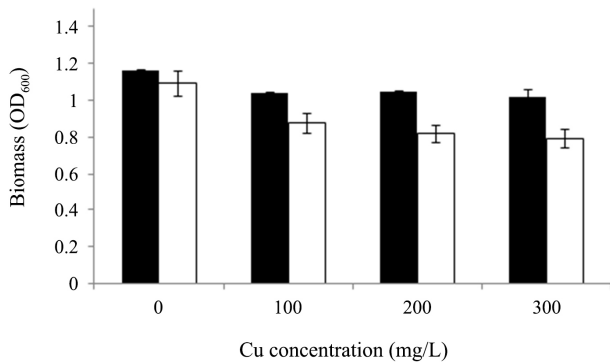


Fig. 1. Effect of Cu (II) concentration on growth of *P. veronii* MS1 (closed bar) and *P. migulae* MS2 (open bar) in TSB medium amended with Cu (II) after incubation for 24 h.

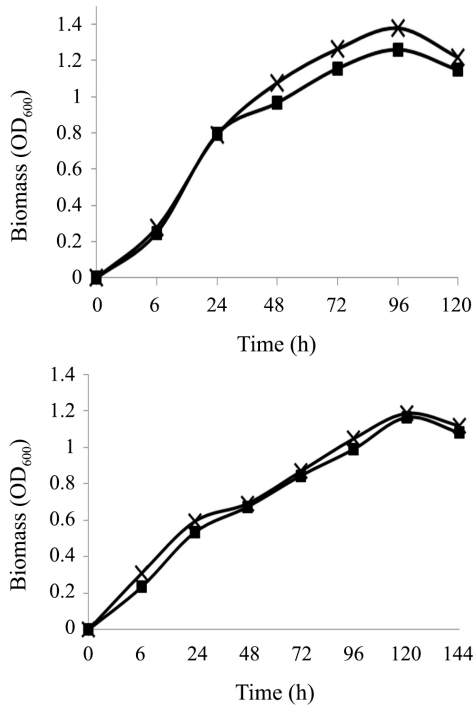


Fig. 2. Growth of *P. veronii* MS1 (A) and *P. migulae* MS2 (B) in TSB medium amended with 350 (X) and 700 (■) mg/L of Cu (II).

약간씩 달랐지만 그다지 큰 차이는 아니었다.

구리를 포함한 다양한 금속과 결합하여 유리 금속 농도를 크게 낮출 수 있는 siderophore 생성능을 조사한 결과 MS1 균주는 배양 4일째 최대 $137 \pm 41 \mu\text{mol/ml}$ 을 생성하였으며 MS2는 5일째에 최대 $258 \pm 2 \mu\text{mol/ml}$ 을 생성하여(Fig. 4), 12~13 $\mu\text{mol/ml}$ 의 siderophore 분비량을 나타낸 근권세균 *P. fluorescens* PFMDU3, PFMDU8과 PFMDU9보다 10배 이상 높은 생성능을 나타냈다(Nagarajkumar *et al.*, 2004).

모든 생물들이 금속에 노출 시 유해한 활성 산소종의 형성

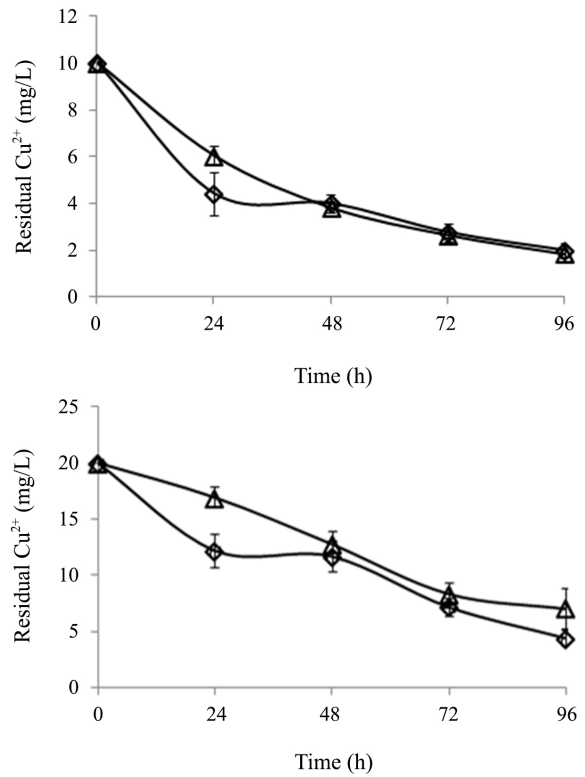


Fig. 3. Residual Cu²⁺ after biosorption by *P. veronii* MS1 (Δ) and *P. migulae* MS2 (◇) in Cu solution (10 (A) and 20 (B) mg/L).

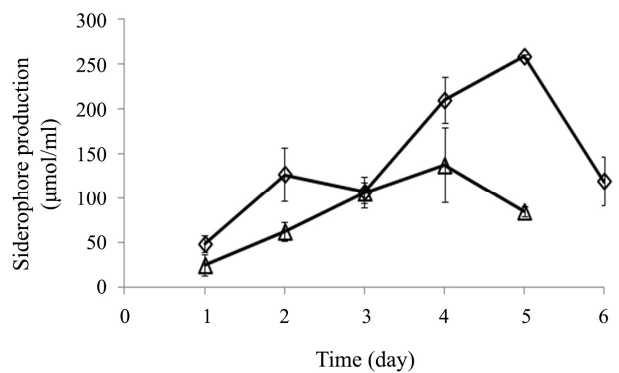


Fig. 4. Siderophore production by *P. veronii* MS1 (Δ) and *P. migulae* MS2 (◇) in King's B medium.

으로 이차적인 산화 스트레스로 인해 피해를 입을 수 있는데 금속 내성 세균들은 다양한 방법으로 이런 산화 스트레스를 억제할 수 있다(Cervantes and Gutierrez-Corona, 1994). 균주의 항산화 활성 조사 결과 DPPH 자유 라디칼을 24시간에 MS1은 82.6%, MS2는 78.1% 제거하였고 그 이후로 감소하는 경향을 보였다(Fig. 5). 이는 유산균인 *Lactobacillus bulgaricus* CCFM29와 *L. casei* CCFM30에서 23.7과 28.84%의 DPPH 제거(Zhai *et al.*, 2015)나 진균 *Chaetomium madrasense* AUMC

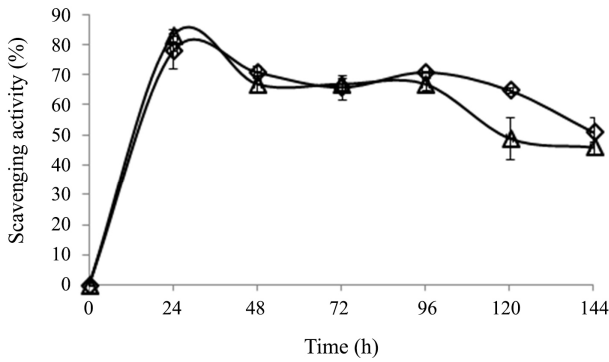


Fig. 5. Scavenging activity of 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl (DPPH) free radicals by *P. veronii* MS1 (Δ) and *P. migulae* MS2 (◇) in LB medium.

9376의 최대 70.21% 제거(Abo-Elmagd, 2014)보다 훨씬 높은 항산화 활성이었다.

분리 균주의 식물에 대한 구리 내성 및 생장촉진 부여 기작

분리 균주가 단일 질소원으로 ACC를 이용하여 성장할 수 있는 것을 확인하여 ACC deaminase 생성능이 있는 것으로 판단하였으며, 스트레스 에틸렌의 전구체인 ACC를 α-ketobutyrate와 ammonia로 가수분해하는 ACC deaminase 활성을 정량한 결과 4일째에 MS1과 MS2는 각각 7.10 ± 0.05 와 6.42 ± 0.01 μmol α-ketobutyrate mg/h의 가장 높은 활성을 보였다. 이는 중금속 스트레스 하에서 식물의 뿌리 길이 성장을 촉진한다고 보고된 *P. fluorescens* ACC9의 ACC deaminase 활성인 1.57 ± 0.12 μmol α-ketobutyrate mg/h와 *P. tolaasii* ACC23의 1.16 ± 0.09 μmol α-ketobutyrate mg/h보다 더 높았으며(Dell'Amico et al., 2008), 또한 ACC deaminase를 분비하는 5개의 *Rhizobium* 균주들의 0.43~1.78 μmol α-ketobutyrate mg/h와 비교할 때 6~10배 더 높은 활성이었다(Ma et al., 2003).

대표적인 식물생장촉진 호르몬인 IAA는 다양한 PGPR이 분비하는데 MS1과 MS2는 모두 48시간째 각각 최대 42.9 ± 2.2 와 60.8 ± 3.9 μM을 분비하였다. 이는 다른 IAA 생성 PGPR에 비해 소량이지만 IAA는 아주 미량으로도 식물 성장을 촉진시킨다고 알려져 있으며 실제 식물체 내에서도 IAA는 낮은 농도로 존재하며 오히려 고농도의 IAA는 뿌리 성장을 억제하고 에틸렌 생성을 촉진한다고 한다(Pilet and Saugy, 1987). 한편 ACC deaminase와 IAA를 모두 분비하는 세균을 처리한 식물체내의 에틸렌 수준이 IAA만 분비하는 세균을 접종한 식물만큼 증가되지 않는데 그 이유는 ACC deaminase의 활성 때문에 에틸렌 생성이 저해되며 그 결과 에틸렌 피드백에 의한 IAA 신호전달이 저해되지 않아 결과적으로 식물 에틸렌 수준은 낮추면서 생성된 IAA에 의해 식물생장을 자극할 수 있다(Glick

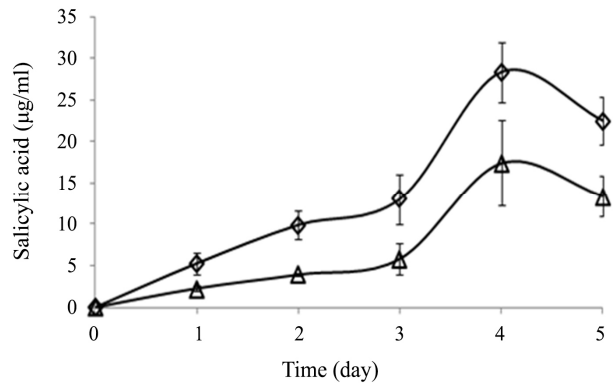


Fig. 6. Salicylic acid production by *P. veronii* MS1 (Δ) and *P. migulae* MS2 (◇) in TSB medium.

et al., 1998). 따라서 ACC deaminase와 IAA를 모두 분비하는 MS1과 MS2는 구리 스트레스 하의 식물 생장도 효율적으로 증가시킬 수 있을 것이다.

MS1과 MS2는 salicylic acid를 4일째에 각각 최대 17.42와 28.33 μg/ml을 생성하였는데(Fig. 6), *Serratia marcescens* 90-166 균주가 분비한 38.6 ng/ml보다 훨씬 더 높은 수준이다. 식물이 스트레스를 받지 않을 때는 salicylic acid의 분비가 별다른 효과가 없지만 비생물적 스트레스를 받는 식물에 0.1 μM의 salicylic acid를 처리했을 때 식물의 성장, 광합성, 엽록소 양이 증가했다고 보고되었다(Yusuf et al., 2008).

이상의 결과를 종합해 볼 때 본 연구에서 분리한 *P. veronii* MS1과 *P. migulae* MS2는 구리에 내성을 가지며 식물생장촉진 특성을 가지고 있기 때문에 구리를 포함하여 금속 스트레스를 받는 식물에 처리할 경우 식물생장을 촉진하여 금속오염 환경의 식생복원 및 금속오염 정화에 활용할 수 있을 것으로 예상된다.

적 요

구리 스트레스를 받는 식물에 구리 내성을 부여하며 성장을 촉진할 수 있는 여러 구리 내성 근권세균을 분리하였다. 분리균주 *Pseudomonas veronii* MS1과 *P. migulae* MS2는 금속 킬레이트제인 siderophore를 각각 0.13과 0.26 mmol/ml 생성하였으며 또한 20 mg/L Cu 수용액에서 각각 64.6과 77.9%의 구리에 대한 생물흡착능을 나타내었다. 구리는 생물체에서 산화스트레스를 유발할 수 있는 유해한 자유 라디칼 형성을 유도할 수 있다. MS1과 MS2 균주의 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazyl 라디칼 제거능과 항산화능은 24시간 배양 후 대조군에 비해 각각 82.6과 78.1% 증가하였다. 이들은 식물에서 스트레스 호르몬

인 에틸렌의 수준을 낮추는 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase 활성을 각각 7.10과 6.42 $\mu\text{mol } \alpha\text{-ketobutyrate mg/h}$ 나타내었으며 한편 비생물적 스트레스 하의 식물 생장을 도울 수 있는 indole-3-acetic acid와 salicylic acid도 생성하였다. 이 모든 결과들은 이 구라-내성 근권세균들이 식물에 구라 내성을 부여하며 생장을 촉진할 수 있다는 것을 가리킨다.

References

- Abo-Elmagd, H.I.** 2014. Evaluation and optimization of antioxidant potentiality of *Chaetomium madrasense* AUMC 9376. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* **12**, 21–26.
- Abou-Shanab, R.A.L., Angle, J.S., and Chaney, R.L.** 2006. Bacterial inoculants affecting nickel uptake by *Alyssum murale* from low, moderate and high Ni soils. *Soil Biol. Biochem.* **38**, 2882–2889.
- Andreazza, R., Pieniz, S., Wolf, L., Lee, M., Camargo, F.A.O., and Okeke, B.C.** 2010. Characterization of copper bioreduction and biosorption by a highly copper resistant bacterium isolated from copper-contaminated vineyard soil. *Sci. Total Environ.* **408**, 1501–1507.
- Bradford, M.M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72**, 248–254.
- Cervantes, C. and Gutierrez-Corona, F.** 1994. Copper resistance mechanisms in bacteria and fungi. *FEMS Microbiol. Rev.* **14**, 121–137.
- Dell'Amico, E., Cavalca, L., and Andreoni, V.** 2008. Improvement of *Brassica napus* growth under cadmium stress by cadmium-resistant rhizobacteria. *Soil Biol. Biochem.* **40**, 74–84.
- Garland, J.L.** 1996. Patterns of potential C source utilization by rhizosphere communities. *Soil Biol. Biochem.* **28**, 223–230.
- Glick, B.R., Penrose, D.M., and Li, J.** 1998. A model for the lowering of plant ethylene concentrations by plant growth-promoting bacteria. *J. Theor. Biol.* **190**, 63–68.
- Hong, S., Shin, K., and Lee, E.** 2011. Characterization of growth inhibition and isolation of copper-resistant rhizobacteria, *Alcaligenes* sp. KC-1. *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* **39**, 182–187.
- Islam, F., Yasmeen, T., Ali, Q., Ali, S., Arif, M.S., Hussain, S., and Rizvi, H.** 2014. Influence of *Pseudomonas aeruginosa* as PGPR on oxidative stress tolerance in wheat under Zn stress. *Ecotoxicol. Environ. Safety* **104**, 285–293.
- Karadeniz, A., Topcuoğlu, S.F., and Inan, S.** 2006. Auxin, gibberellin, cytokinin and abscisic acid production in some bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **22**, 1061–1064.
- Ma, W., Sebastianova, S.B., Sebastian, J., Burd, G.I., Guinel, F.C., and Glick, B.R.** 2003. Prevalence of 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase in *Rhizobium* spp. *Antonie van Leeuwenhoek* **83**, 285–291.
- Morgan, P.W. and Drew, M.C.** 1997. Ethylene and plant responses to stress. *Physiol. Plantarum* **100**, 620–630.
- Nagarajkumar, M., Bhaskaran, R., and Velazhahan, R.** 2004. Involvement of secondary metabolites and extracellular lytic enzymes produced by *Pseudomonas fluorescens* in inhibition of *Rhizoctonia solani*, the rice sheath blight pathogen. *Microbiol. Res.* **159**, 73–81.
- Palleroni, N.** 2005. Genus I. *Pseudomonas*, pp. 323–379. In Brenner, D., Krieg, N., and Staley, J. (eds.), The proteobacteria, Part B The Gammaproteobacteria. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 2nd ed. Vol. 2, Springer, NY, USA.
- Pandey, S., Ghosh P.K., Ghosh, S., De, T.K., and Maiti, T.K.** 2013. Role of heavy metal resistant *Ochrobactrum* sp. and *Bacillus* spp. strains in bioremediation of a rice cultivar and their PGPR like activities. *J. Microbiol.* **51**, 11–17.
- Penrose, D.M. and Glick, B.R.** 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiol. Plantarum* **118**, 10–15.
- Pilet, P. and Saugy, M.** 1987. Effect on root growth of endogenous and applied IAA and ABA. *Plant Physiol.* **83**, 33–38.
- Schwyn, B. and Neilands, J.B.** 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.* **160**, 47–56.
- Silva, R.M.P., Rodríguez, A.A., De Oca, J.M.G., and Moreno, D.C.** 2009. Biosorption of chromium, copper, manganese and zinc by *Pseudomonas aeruginosa* AT18 isolated from a site contaminated with petroleum. *Bioresour. Technol.* **100**, 1533–1538.
- Xia, Y., Qi, Y., Yuan, Y., Wang, G., Cui, J., Chen, Y., and Shen, Z.** 2012. Overexpression of *Elsholtzia haichowensis* metallothionein 1 (*EhMT1*) in tobacco plants enhances copper tolerance and accumulation in root cytoplasm and decreases hydrogen peroxide production. *J. Hazard. Mat.* **233**, 65–71.
- Ye, J., Yin, H., Xie, D., Peng, H., Huang, J., and Liang, W.** 2013. Copper biosorption and ions release by *Stenotrophomonas maltophilia* in the presence of benzo[*a*]pyrene. *Chem. Eng. J.* **219**, 1–9.
- Yusuf, M., Hasan, S.A., Ali, B., Hayat, S., Fariduddin, Q., and Ahmad, A.** 2008. Effect of salicylic acid on salinity-induced changes in *Brassica juncea*. *J. Int. Plant Biol.* **50**, 1096–1102.
- Zhai, Q., Yin, R., Yu, L., Wang, G., Tian, F., Yu, R., and Chen, W.** 2015. Screening of lactic acid bacteria with potential protective effects against cadmium toxicity. *Food Control* **54**, 23–30.
- Zhang, S., Moyne, A.L., Reddy, M.S., and Kloepper, J.W.** 2002. The role of salicylic acid in induced systemic resistance elicited by plant growth-promoting rhizobacteria against blue mold of tobacco. *Biological Control* **25**, 288–296.