

토마토 염류와 온도 스트레스에 대한 내성을 유도하는 미생물 선발*

유성제** · 신다정*** · 원항연*** · 송재경*** · 상미경****

Selection of Bacteria for Enhancement of Tolerance to Salinity and Temperature Stresses in Tomato Plants

Yoo, Sung-Je · Shin, Da Jeong · Weon, Hang-Yeon ·
Song, Jaekyeong · Sang, Mee Kyung

Salinity and extreme temperature stresses affect growth and productivity of crops negatively. Beneficial bacteria, including plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) induce growth promotion and tolerance of plants under abiotic stress conditions. In the present study, 20 strains were selected from 1944 isolated bacteria based on three plant growth-promoting (PGP) traits-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase activity, phosphate solubilization, indole-3-acetic acid production, and growth ability under salinity and extreme temperature stress conditions. Seven among the 20 strains were selected based on growth-promoting effects on plants under saline or temperature stresses in tomato plants. It was expected that the seven strains could induce tolerance of tomato plants under salinity or extreme temperature stresses, which implies that these seven strains can act as potential inducers of multiple stresses tolerance in tomato plants.

Key words : *abiotic stress, plant growth-promoting bacteria, tolerance*

* 본 연구는 농촌진흥청 기초연구사업(과제번호: PJ011850)의 지원에 의해 수행되었음.

** 국립농업과학원 농업미생물과, 경상대학교 농업생명자원학과

*** 국립농업과학원 농업미생물과

**** Corresponding author, 국립농업과학원 농업미생물과(mksang@korea.kr)

I. 서 론

작물은 유전적 요인뿐만 아니라 가뭄, 토양 염류 집적, 양분의 불균형과 이상 기온과 같은 다양한 환경요인에 의해 영향을 받으며, 극심한 환경 변화나 부적절한 스트레스는 작물의 성장과 발달에 영향을 줌으로써 생산성을 감소시키는 주요 원인이 될 수 있다. 작물의 생산성에 영향을 주는 다양한 환경인자 중에서 특히 토양 염류와 저온 또는 고온의 온도 스트레스는 농업생태계에서 중요한 비생물적 요소로 알려져 있다. 토양 염류 집적에 의해 경작지의 약 7%, 관개 농업의 20%에 해당하는 농경지가 부정적인 영향을 받고 있으며, 작물 재배 중에 이상 저온이 발생하면 작물 생산성의 약 50% 이상을 감소시키는 피해를 야기할 수도 있다. 기후변화 국제협의체(Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC)는 기후변화에 따른 이상고온도 정상적인 작물 성장을 지연시킬 수 있다고 보고하였다(ICPP 2014).

작물은 성장과 발달에 부정적인 환경스트레스를 받게 되면 이에 반응하여 분자적, 생화학적 생리적 수준을 변화시키는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 작물은 염류나 온도스트레스 조건에서 엽록소 함량, 전기전도도, 이온농도 등을 변화시키며(Bano and Fatima, 2009; Mishra et al., 2011; Khan et al., 2012), 환경 스트레스로부터 스스로를 보호하기 위해 조직 내에 프롤린과 같은 생화학적 구성요소를 축적시킨다(Barka and Audran, 1997; Ali et al., 2009). 이 외에도 작물이 건조 스트레스에 노출되면 외부환경에 적응하기 위하여, 엽시스산과 같은 식물 호르몬의 축적량을 변화시켜 기공개폐를 빠르게 조절함으로써 식물 내 수분 함량을 조절하기도 한다(Swamy and Smith, 1999; Tuteja, 2007).

이와 같이 작물은 생화학적 생리적 변화를 통해 다양한 환경 스트레스에 대응하긴 하지만 극심하고 급격한 환경 스트레스는 결과적으로 작물의 생산성을 감소시키기 때문에 이를 해결하기 위한 다양한 방법이 연구되고 있다(Athar and Ashraf, 2009). 가뭄내성과 같은 환경 스트레스에 내성인 품종을 육종하는 연구가 현재 구아검(*Cyamopsis tetragonoloba*), 겨자(*Brassica carinata*), 아굴루라(*Eruca sativa*) 등의 작물에서 연구되고 있으며, 이들 작물은 건조조건에서 토양에 깊게 뿌리를 내려 수분을 효과적으로 보유하는 것으로 알려져 있다(Liang et al., 1992; Kumar, 2005). 또한 많은 연구자들이 작물의 유전적 조작을 통하여 작물의 신호 전달을 조절함으로써 환경 스트레스를 극복하고 작물의 생산성 감소를 최소화하기 위한 방안을 연구하고 있다(Sreenivasulu et al., 2007; Bhatnagar-Mathur et al., 2008; Mittler and Blumwald, 2010). 그러나 일반적인 육종 프로그램은 시간이 오래 걸리고, 유전적 조작을 통한 새로운 품종 개발은 아직까지는 많은 국가에서 광범위하게 통용되지 않는 단점이 있다. 그러므로 이에 대안적이고 친환경적인 대응 전략으로 식물생장촉진세균(plant growth-promoting bacteria, PGPB) 등의 미생물을 활용하는 방안이 연구되기 시작했다(Yang et al., 2009; Bhardwaj et al., 2014).

식물생장촉진세균은 식물 근권 부분에 서식하면서 식물의 생장에 도움을 주는 유용한 미생물이며, 작물에 저항성을 유도하여 병 발생을 감소시키거나 염류와 온도 등에 의한 스트레스에 대한 피해를 감소시키는데 도움을 준다고 알려져 있다(Bano and Fatima, 2009; Mishra et al., 2011; Khan et al., 2012). 특히, 식물은 환경 스트레스를 받게 되면 일반적으로 에틸렌을 축적하고 노화와 세포의 손상이 가속화되는데, 대부분의 식물생장촉진세균은 에틸렌 전구체를 분해할 수 있는 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase를 생성할 수 있으며, 이 효소는 에틸렌 함량을 낮춰 식물에 손상을 경감시키는데 중요한 역할을 할 수 있다고 알려져 있다(Glick, 2006). 또한, 식물생장촉진세균은 식물의 옥신과 유사한 indole-3-acetic acid (IAA)를 생성하는 경우가 많으며, 토양에 불용성인 인산을 가용하게 하는 활성에도 영향을 줄 수 있다. 이러한 식물생장촉진세균의 특성은 토양의 염류집적과 급격한 온도변화에 따른 환경 스트레스 조건에서 식물의 양분 흡수 효율을 높임으로써 식물의 생장을 촉진하고, 식물의 호르몬과 항산화 수준 등을 조절하여 스트레스에 의한 식물의 피해를 줄이는데도 중요한 역할을 할 수 있다(Theocharis et al., 2012; El-Daim et al., 2014; Kang et al., 2014; Meena et al., 2015; Sarkar et al., 2018). 이러한 관점에서, 식물생장촉진세균을 활용하는 것은 환경 스트레스에 의한 작물의 피해를 경감시킬 수 있는 가능성 있는 방안 중에 하나일 수 있다. 보다 효과적으로 식물생장촉진세균을 선발하기 위해서는, 식물생장촉진 관련 인자, 예를 들어, IAA, HCN, 암모니아와 siderophore의 생성, 불용성 인산의 가용화, ACC deaminase 활성과 다양한 스트레스 조건에서 미생물의 성장 가능성 등을 고려해야 한다(Grover et al., 2011; Bal et al., 2013; Kumar et al., 2014; Meena et al., 2015). 또한, 식물은 한 개 이상의 다양하고 복합적인 환경 조건에 노출되어 재배되기 때문에 다양한 환경 조건에서 식물생장촉진 관련 특성을 갖는 미생물을 선발하여 작물에 적용하는 것이 필요하다.

이 논문에서는 국내 주요 시설재배 작물인 토마토에 발생할 수 있는 고염류와 온도스트레스에 의한 피해를 감소시키는데 도움을 주는 미생물을 선발하기 위하여, 일차적으로 스트레스 조건에서 미생물의 ACC deaminase 활성, 불용성 인산의 가용화, IAA 생성능을 검정하고, 이를 토대로 선발한 세균을 토마토 작물에 적용하여 염류와 온도 스트레스 조건에서 선발한 세균에 의한 스트레스 피해 감소 효과를 구명하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 미생물 분리

국내 농경지와 갯벌 등지에서 총 1944 균주의 세균을 분리하여 실험에 사용하였다. 농경지에서 재배하는 오이와 배추의 근권과 갯벌에서 토양을 수집하여 0.85% NaCl 용액으로

28°C에서 30분간 진탕 배양하여 현탁액을 준비하였다. 토양 현탁액은 50 µg mL⁻¹ of cycloheximide가 혼합된 Reasoner's 2A (R2A) agar (Lab M Ltd., UK) 배지에 평판희석도말 하였고, 28°C에서 3일 동안 배양하여 형태적으로 구분되는 단일 콜로니를 분리하였다. 분리한 균주는 사용 전까지 -80°C에 보관하였다.

2. 고염류와 온도 스트레스 조건에서 분리 미생물의 생장 검정

기내검정을 위하여 분리한 세균은 Tryptic soybean agar (TSA, Difco, USA) 배지에서 28°C, 48시간 동안 배양하여 단일 콜로니를 사용하였다. 고염류와 온도 스트레스 조건에서 세균이 생존 또는 성장하는지 평가하기 위하여 복합 고염류용액(-1000kPa) (Polonenko et al., 1981)을 혼합한 1/10 Tryptic soybean broth (TSB, Difco, USA) 배지에서 각각 10°C (저온스트레스)와 40°C (고온스트레스), 120 rpm으로 48시간 동안 진탕배양한 후 UV/VIS spectrophotometer (Infinite M200 PRO, TECAN, Austria)를 사용하여 흡광도(observation density, OD)를 측정하여 대조조건에서보다 더 성장하였는지 평가하였다.

3. 고염류와 온도 스트레스 조건에서 분리 미생물의 식물생장촉진 관련 특성 검정

스트레스 조건에서 세균의 식물생장촉진 관련 특성을 평가하기 위하여, 세균의 ACC deaminase activity assay, phosphate solubilization assay, IAA production assay를 복합 고염류(-1000 kPa)와 온도스트레스(10°C-저온, 40°C-고온) 조건에서 수행하였다. 세균의 ACC deaminase 활성은 Penrose와 Glick (2003)와 Khandelwal와 Sindhu (2013)의 방법을 수정하여 검정하였다. 간략히, 세균 현탁액을 5,000 rpm의 원심분리에 의해 준비한 후 30 µmol의 ACC를 도말한 DF salt minimal agar에 접종하여 48시간 후 접종한 세균이 ACC를 질소원으로 이용하여 성장하는지 평가하였다. 세균의 인산가용화 활성을 평가하기 위해 bromophenol blue가 혼합된 PVK 배지를 사용하여 Pikovskaya (1948)의 방법에 따라 평가하였다. 세균 현탁액을 PVK 배지에 접종한 후 5~7일 동안 배양하여, 콜로니 주위의 노란색의 환형영역이 형성되는지를 평가하였다. 세균의 IAA 형성능은 Brick 등(1991)과 Kumar 등(2012)의 방법을 수정하여 검증하였다. 세균 현탁액을 100 µg mL⁻¹의 tryptophan이 혼합된 1/2 TSB 배지에서 24시간 동안 배양한 후, 상청액을 원심분리에 의해 수거한 후 Salkowski reagent (50 mL, 35 % perchloric acid, 1 mL and 0.5 M FeCl₃ solution)와 2~3방울의 ortho-phosphoric acid를 첨가하여 분홍색으로 변하는 것을 관찰한 후 흡광도를 측정하여 평가하였다.

4. 염류 또는 온도 스트레스 내성 미생물 식물검정

토마토(*Solanum lycopersicum*, ‘퍼도태랑’) 종자는 포트에 파종한 후 유리온실에서 재배하였다. 처리할 세균 현탁액을 준비하기 위하여, 세균은 TSA에서 28°C, 24시간 동안 배양한 후, 단일 콜로니를 TSB에서 28°C, 150 rpm으로 48시간 동안 진탕 배양하였다. 세균배양액을 6,000 rpm으로 10분 동안 원심분리하여 세균 pellet을 수거한 후 10 mM MgSO₄ 용액으로 현탁하여 OD₆₀₀=0.25로 농도를 맞추었다. PGPR로 알려진 *Bacillus vallismortis* BS07M을 positive control로 사용하였다. 파종 후 3주된 토마토에 준비한 세균 현탁액을 포트 상토 1 g당 1 ml로 관주 처리하였다. 세균 관주처리 1주일 후, 염류 스트레스를 처리하기 위하여 상토 1 g당 1 ml의 복합 고염류 용액(-1000 kPa)을 2일 간격으로 3회 관주 처리하였다. 온도 스트레스를 처리하기 위하여, 세균 관주처리 1주일 후 토마토 식물을 10°C (저온 스트레스), 40°C (고온 스트레스)의 항온항습 배양기에 5일 동안 배양하였다. 온도 스트레스를 처리한 이후에 상온의 유리온실로 식물을 이동시켜 재배하였다. 스트레스 처리 3주 후에 토마토(9~10엽) 식물체의 생물중을 측정하여 스트레스 피해 감소에 대한 세균의 효과를 평가하였으며, 스트레스가 없는 일반 조건에서 동일한 시기에 토마토를 재배하고 세균을 관주 처리하여 식물체의 생물중을 평가하였다. 통계분석은 SAS 9.1을 사용하여 분산분석한 후 최소유의차검정(LSD test)을 $p < 0.05$ 에서 수행하였다.

5. 선발 세균의 동정

선발 세균은 universal primer sets (F785F와 907R)을 이용하여 16S rRNA 유전자 영역을 증폭하여 계통 분석하였다. 각각의 분석된 염기서열은 www.ezbiocloud.net/identify 및 Genbank 온라인 데이터베이스를 통해 확보한 type strain의 염기서열과 Clustal W에서 alignment 한 후 비교 분석하였고, MEGA program ver. 6.0을 통해 neighbor-joining method를 이용하여 계통도를 작성하였다(Saitou and Nei, 1985; Weisburg et al., 1991).

Ⅲ. 결과 및 고찰

1. 염류와 온도 스트레스 조건에서 분리 미생물의 생장과 식물생장촉진 관련 특성 검정

일반적으로 작물의 재배조건은 매우 다양하고 처리한 세균의 생장에 적합하지 않은 경우도 있을 수 있으며, 급격하게 변화하기 때문에 기내검정 시 이러한 환경조건에서 세균의 생장과 식물생장촉진과 같은 특성을 확인하는 것이 필요하다. 그러므로 본 실험에서는 분

리한 미생물이 복합 고염류와 온도 스트레스 조건에서 성장하고 식물생장촉진과 관련한 다양한 특성을 가지는지 실험하였다. 이를 위해 근권과 갯벌토양으로부터 분리한 1944균주를 실험에 사용하여 실험한 스트레스 조건에서 세균의 성장, 식물생장촉진 관련 특성인 IAA 생성과 ACC deaminase 활성, 인산가용화능을 평가하였다.

총 1944균주 중 5.7%는 고온과 고염류 조건 또는 저온과 고염류 조건의 복합적인 조건에서 대조 조건에 비해 세균의 생장이 유지 또는 증가하였으며, 전체 균주의 94.3%는 실험한 스트레스 조건에서 대조 조건 대비 성장을 하지 못하였다(Fig. 1A). 반면, 실험한 스트레스 조건에서 총 1944균주 중 8.2%는 IAA를 생성하였으며, 전체의 4.3% (84균주)가 저온과 고염류 조건, 고온과 고염류 조건에서 모두 IAA를 생성하였다(Fig. 1B). IAA는 식물의 성장에 관여하는데 중요한 식물호르몬으로(Husen, 2003; Spaepen et al., 2007) 식물 뿌리의 성장과 이차근 형성을 촉진하며, 토양 내 뿌리의 표면적을 증가시킴으로써 물과 양분의 흡수를 용이하게 돕는 것으로 알려져 있다(Patten and Glick, 2002; Dimkpa et al., 2009). 또한, 실험한 전체 균주 중 7.9%는 ACC deaminase 활성이 있었고, 7.5%는 인산가용화능이 있었으며, 실험한 두 스트레스 조건(고온 x 고염류, 저온 x 고염류)에서 전체 균주의 5.3% (103균주)는 ACC

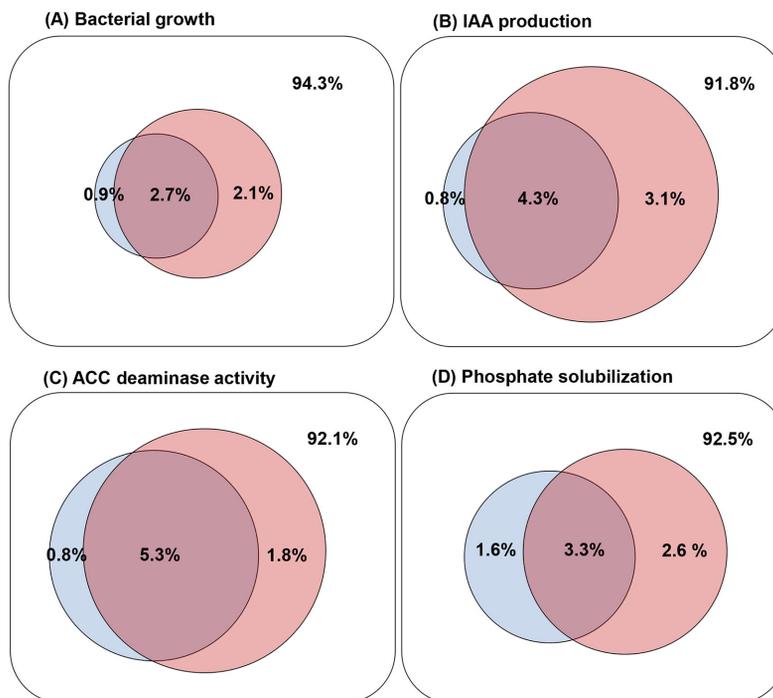


Fig. 1. Pie charts based on percentages of bacterial strains regarding to (A) growth, (B) IAA production, (C) ACC deaminase activity, and (D) phosphate solubilization under salinity x chilling(blue color) and heat(red) stresses conditions.

deaminase 활성을, 3.3% (64균주)는 인산가용능이 있었다(Fig. 1C-D). 세균의 ACC deaminase는 식물의 생장에 중요한 역할을 하며, 식물의 에틸렌 전구체인 ACC를 분해하여 식물이 스트레스를 받거나 노화할 때 관여하는 식물 에틸렌 수준을 감소시킴으로써 다양한 스트레스에 반응한다고 알려져 있다(Glick et al., 2007; Glick, 2014). 세균에 의한 인산가용화능은 식물이 토양 내 불용성으로 존재하는 인산을 가용화시켜 식물이 필수원소인 인산을 흡수하고, 질소를 고정하며 양분흡수능력을 향상시켜 식물의 성장을 증가시키는데 관여한다고 알려져 있다(Hameeda et al., 2008).

2. 고염류 또는 온도 스트레스에 대한 미생물의 효과 식물검정

실험한 1944균주 중 고염류와 온도스트레스(저온 또는 고온)의 복합 조건에서 균주의 생장, IAA생성, ACC deaminase 활성과 인산가용화능이 있는 20균주를 1차 선발하여 토마토 식물에 처리하여 효과를 검정하였다. 이를 위하여 스트레스가 없는 일반 조건(non-stress)과 스트레스 조건을 나누어 대조구와 비교 평가한 결과, 일반 조건에서 토마토 생체중은 세균처리에 따른 통계적 유의성이 관찰되지 않았으나, 고염류 스트레스 조건에서는 3균주(5GH41-07, H20-5, TS7-2)가 대조구에 비하여 상대생장(%)이 각각 43.7, 66.1, 51.4% 증가하였다(Fig. 2). 반면, PGPR 균주로 알려진 *Bacillus vallismortis* BS07M (positive control)은 일반 조건과 고염류 스트레스 조건에서 모두 대조구와 차이가 없었다.

1차 선발된 20균주가 온도 스트레스에 대하여 토마토에 내성을 유도하는지 평가한 결과, 일반 조건에서는 처리한 세균에 의한 토마토 식물의 생장변화가 관찰되지 않았다(Fig. 3). 그러나 저온 스트레스 조건에서는 2균주(TS5-2와 TS7-2)가 대조구에 비하여 각각 9.8, 10.9%의 상대생장을 증가시키는 효과가 있었으며, 고온 스트레스에서는 대조구에 비하여 5균주(5GH41-07, H1-2, H1-8, H19-1, H20-5)가 각각 13.4, 17.0, 22.8, 13.7, 14.8%로 토마토의 상대생장을 유의하게 증가시켰다(Fig. 3).

실험결과를 종합하면, 1차 선발한 20균주 중 7균주는 고염류 또는 온도 스트레스에 의한 피해를 감소시켜 대조구에 비하여 식물의 생장을 증가시켰다. 이처럼 식물생장촉진세균(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)과 균근(mycorrhizal fungi)과 같은 일부 미생물은 식물이 스트레스를 받을 때 식물체내 호르몬 균형이나 양분 수준을 조절함으로써 스트레스에 의한 피해를 감소시키고 생장을 유지 또는 향상시키는데 도움을 줄 수 있다고 알려져 있다(Nadeem et al., 2014). 그러므로, 토마토 식물검정을 통해 선발한 7균주는 고염류 또는 온도 스트레스에 대한 토마토의 내성을 증가시킬 수 있으리라 예상된다.

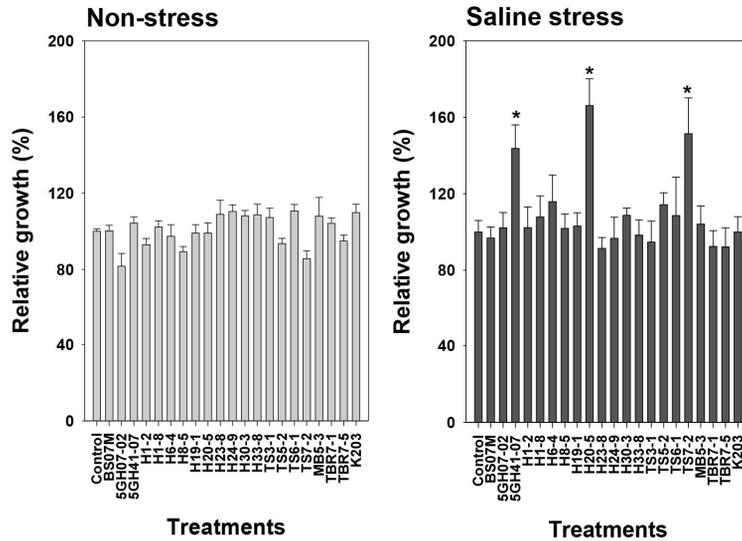


Fig. 2. Relative fresh weight (%) compared with a control in tomato plants treated with 20 bacterial suspension under non-stress and salinity stress conditions. Asterisks on the bar mean statistical difference by the LSD test at $P < 0.05$; error bars indicate standard error.

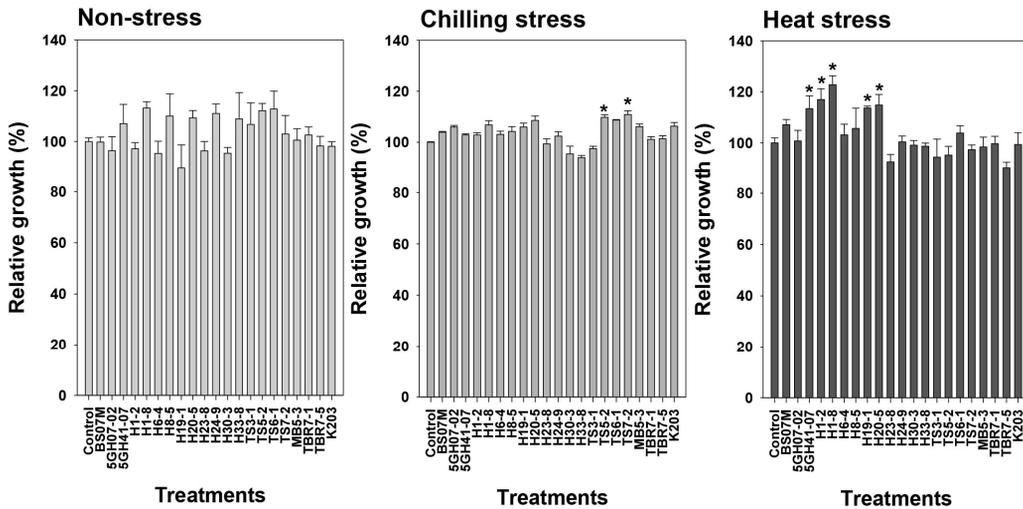


Fig. 3. Relative fresh weight (%) compared with a control in tomato plants treated with 20 bacterial suspension under non-stress, chilling, and heat stresses conditions. Asterisks on the bar mean statistical difference by the LSD test at $P < 0.05$; error bars indicate standard error.

3. 선발세균의 동정

선발된 균주의 16s rRNA 유전자 서열 분석 결과 모두 *Bacillus* 속에 속하였다(Table 1). 5GH41-07과 TS7-2는 *B. tequilensis* KCTC 13622(T)와 모두 99.93% 유사성을 보였으며, H19-1은 *B. aryabhattai* B8W22(T)와 100%의 유사성을 보였다. H20-5균주는 1,417bp를 비교 분석한 결과 *B. mesonae* FJAT-13985(T)와 99.93%, TS5-2는 *B. siamensis* KCTC 13613(T)와 99.86%, H1-2와 H1-8은 *B. megaterium* NBRC 15308(T)와 각각 100%, 99.93% 유사성이 있었다. 그러나 5GH41-07, H19-1, H20-5와 TS7-2는 16S rRNA 염기서열 중 93.0~96.3%을 type strain의 염기서열과 비교분석한 결과이므로 추후 full sequence 분석을 통하여 보다 정확한 동정을 수행할 예정이다. 일반적으로 *Bacillus*는 식물에서 다양한 병에 대하여 광범위하게 전신저항성을 유도하고 식물의 성장을 촉진시킨다고 보고되었다(Kloepper et al., 2004). *Bacillus* 속은 식물병에 대한 유도저항성 뿐만 아니라 가뭄, 염류, 극한의 온도와 같은 다양한 비생물적 환경스트레스에 대하여 식물의 삼투, 항산화 또는 식물호르몬 경로와 관련된 유전자 발현의 조절을 변화시킴으로써 식물이 스트레스에 대해 내성을 유도할 수 있다고 알려져 있다(Ashraf and Harris, 2004; Vardharajula et al., 2011; Tiwari et al., 2017). 또한, *Bacillus* 속은 내생포자를 만들고 비교적 균주자체의 제형화가 용이하기 때문에 본 실험을 통해 선발된 균주는 추후 대량배양을 통해 산업화에 유리할 것으로 생각된다.

Table 1. Identification of seven bacterial strains based on 16S rRNA gene sequences

Strains	Size (bp)	Nearest taxon name	Similarity (%)	Completeness (%)
5GH41-07	1,375	<i>Bacillus tequilensis</i> KCTC 13622(T) ^a	99.93	93.4
H1-2	1,534	<i>B. megaterium</i> NBRC 15308(T)	100.00	99.3
H1-8	1,525	<i>B. megaterium</i> NBRC 15308(T)	99.93	100.0
H19-1	1,405	<i>B. aryabhattai</i> B8W22(T)	100.00	95.3
H20-5	1,417	<i>B. mesonae</i> FJAT-13985(T)	99.93	96.3
TS5-2	1,534	<i>B. siamensis</i> KCTC 13613(T)	99.86	100.0
TS7-2	1,369	<i>B. tequilensis</i> KCTC 13622 (T)	99.93	93.0

^a (T), type strain

IV. 적 요

국내 일부 시설재배지는 장기간 과도한 양분 투입 등에 의한 염류 집적 현상이 문제가

되어왔으며, 최근 이상기온에 따른 온도장해에 의한 피해도 발생하고 있다. 이러한 현상에 대해 친환경적으로 대처하기 위하여 고염류와 온도 스트레스에 대해 작물에 내성을 증강시키는 미생물을 선발하였다. 국내 토양에서 분리한 1,944균주중 고염류 또는 온도 스트레스 조건에서 세균의 성장과 식물생장촉진 관련 특성(IAA 생성, ACC deaminase 활성, 인산가용화능)을 고려하여 20균주를 1차 선발(전체 균주의 1.03%)하였다. 1차 선발한 20균주 중 토마토 식물검정을 통해 고염류 또는 온도스트레스에 대한 내성을 유도하는 7세균(1차 선발 균주의 35%, 전체 균주의 0.36%)을 단계적으로 선발할 수 있었다. 선발된 세균은 16S rRNA 유전자의 염기서열 분석을 통해 모두 *Bacillus* 속에 속하는 것으로 확인되었다. 이러한 결과로 선발된 7균주는 토마토의 고염류 또는 온도 스트레스에 대한 효과적인 미생물 제제로 활용이 가능한 것을 확인할 수 있었다.

[Submitted, April. 24, 2018 ; Revised, June. 27, 2018 ; Accepted, July. 5, 2018]

References

1. Ali, S. Z., V. Sandhya, M. Grover, N. Kishore, L. Venkateswar Rao, and B. Venkateswarlu. 2009. *Pseudomonas* sp. strain AKM-P6 enhances tolerance of sorghum seedlings to elevated temperatures. *Biol. Fertil. Soils.* 46: 45-55.
2. Ashraf, M. and P. J. C. Harris. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Sci.* 166: 3-16.
3. Athar, H. R. and M. Ashraf. 2009. Strategies for crop improvement against salinity and drought stress: An overview. In: Athar, H. R., Ozturk, M, (eds) *Salinity and water stress: improving crop efficiency.* pp. 1-16. Springer, New York, U.S.A.
4. Bal, H. B., L. Nayak, S. Das, and T. K. Adhya. 2013. Isolation of ACC deaminase producing PGPR from rice rhizosphere and evaluating their plant growth promoting activity under salt stress. *Plant Soil.* 366: 93-105.
5. Bano, A. and M. Fatima. 2009. Salt tolerance in *Zea mays* (L). following inoculation with *Rhizobium* and *Pseudomonas*. *Biol. Fertil. Soils.* 45: 405-413.
6. Barka, E. A. and J. C. Audran. 1997. Response of champenoise grapevine to low temperatures: Changes of shoot and bud proline concentrations in response to low temperatures and correlations with freezing tolerance. *J. Hortic. Sci. Biotechnol.* 72: 577-582.
7. Bhardwaj, D., M. W. Ansari, R. K. Sahoo, and N. Tuteja. 2014. Biofertilizers function as

- key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity. *Microb. Cell. Fact.* 13, 66.
8. Bhatnagar-Mathur, P., V. Vadez, and K. K. Sharma. 2008. Transgenic approaches for abiotic stress tolerance in plants: retrospect and prospects. *Plant Cell Rep.* 27: 411-424.
 9. Bric, J. M., R. M. Bostock, and S. E. Silverstone. 1991. Rapid in situ assay for indoleacetic acid production by bacteria immobilized on a nitrocellulose membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 57: 535-538.
 10. Dimkpa, C, T. Weinand, and F. Asch. 2009. Plant-rhizobacteria interactions alleviate abiotic stress conditions. *Plant Cell Environ.* 32: 1682-1694.
 11. El-Daim, I. A. A., S. Bejai, and J. Meijer. 2014. Improved heat stress tolerance of wheat seedlings by bacterial seed treatment. *Plant Soil.* 379: 337-350.
 12. Glick, B. R. 2006. Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS. Microbiol. Lett.* 251: 1-7.
 13. Glick, B. R. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* 169: 30-39.
 14. Glick, B. R., Z. Cheng, J. Czarny, and J. Duan. 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminase-producing soil bacteria. *Eur. J. Plant Pathol.* 119: 329-339.
 15. Grover, M., S. Z. Ali, V. Sandhya, A. Rasul, and B. Venkateswarlu. 2011. Role of microorganisms in adaptation of agriculture crops to abiotic stresses. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27: 1231-1240.
 16. Hameeda, B., G. Harini, O. P. Rupela, S. P. Wani, and G. Reddy. 2008. Growth promotion of maize by phosphate solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna. *Microbiol. Res.* 163: 234-242.
 17. Husen, E. 2003. Screening of soil bacteria for plant growth promotion activities in vitro. *Indian J. Agric. Sci.* 4: 27-31.
 18. Kang, S.-M., A. L. Khan, M. Waqas, Y.-H. You, J.-H. Kim, J.-G. Kim, M. Hamayun, and I.-J. Lee. 2014. Plant growth-promoting rhizobacteria reduce adverse effects of salinity and osmotic stress by regulating phytohormones and antioxidants in *Cucumis sativus*. *J. Plant Interact.* 9: 673-682.
 19. Khan, A. L., M. Hamayun, M. Waqas, S.-M. Kang, Y.-H. Kim, D.-H. Kim, I.-J. Lee. 2012. *Exophiala* sp. LHL08 association gives heat stress tolerance by avoiding oxidative damage to cucumber plants. *Biol. Fertil. Soils.* 48: 519-529.
 20. Khandelwal, A. and S. S. Sindhu. 2013. ACC Deaminase containing rhizobacteria enhance nodulation and plant growth in Clusterbean (*Cyamopsis tetragonoloba* L.). *J. Microbiol. Res.*

- 3: 117-123.
21. Kloepper, J. W., C. M. Ryu, and S. Zhang. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94: 1259-1266.
 22. Kumar, D. 2005. Breeding for drought resistance. In: Ashraf M, Harris PJC (eds) *Abiotic stress: Plant resistance through breeding and molecular approaches*. pp. 145-147, Haworth Press, New York. U.S.A.
 23. Kumar, A, A. Kumar, S. Devi, S. Patil, C. Payal, and S. Negi. 2012. Isolation, screening and characterization of bacteria from rhizospheric soils for different plant growth promotion (PGP) activities: an *in vitro* study. *Recent Res. Sci. Technol.* 4: 1-5.
 24. Liang, Z. S., Z. R. Ding, and S. T. R. Wang. 1992. Study on type of water stress adaptation in both *Brassica napus* and *B. juncea* L. species. *Acta. Botanika.* 12: 38-45.
 25. Meena, R. K., R. K. Singh, N. P. Singh, S. K. Meena, and V. S. Meena. 2015. Isolation of low temperature surviving plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) from pea (*Pisum sativum* L.) and documentation of their plant growth promoting traits. *Biocatal. Agric. Biotechnol.* 4: 806-811.
 26. Mishra, P. K., S. C. Bisht, P. Ruwari, G. Selvakumar, G. K. Joshi, and J. K. Bisht. 2011. Alleviation of cold stress in inoculated wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings with psychrotolerant Pseudomonads from NW Himalayas. *Arch. Microbiol.* 193: 497-513.
 27. Mittler, R. and E. Blumwald. 2010. Genetic Engineering for modern agriculture: challenges and perspectives. *Annu. Rev. Plant Biol.* 61: 443-462.
 28. Nadeem, S. M., M. Ahmadb, Z. A. Zahir, A. Javaid, and M. Ashraf. 2014. The role of mycorrhizae and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in improving crop productivity under stressful environments. *Biotechnol. Adv.* 32: 429-448.
 29. O'Connell, P. F. 1992. Sustainable agriculture-a valid alternative. *Outlook. Agric.* 21: 5-12.
 30. Patten, C. L. and B. R. Glick. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 3795-3801.
 31. Penrose, D. M. and B. R. Glick. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiol. Plantarum.* 118: 10-15.
 32. Pikovskaya, R. I. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya.* 17: 362-370.
 33. Polonenko, D. R., C. I. Mayfield, and E. B. Dumbroff. 1981. Microbial responses to salt-induced osmotic stress. *Plant Soil.* 63: 415-426.
 34. Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.

35. Sarkar, A., P. K. Ghosh, K. Pramanik, S. Mitra, T. Soren, S. Pandey, M. H. Mondal, and T. K. Maiti. 2018. A halotolerant *Enterobacter* sp. displaying ACC deaminase activity promotes rice seedling growth under salt stress. *Res. Microbiol.* 169: 20-32.
36. Spaepen, S., J. Vanderleyden, and R. Remans. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol. Rev.* 31: 425-448.
37. Sreenivasulu, N., S. K. Sopory, and P. B. Kavi-Kishor. 2007. Deciphering the regulatory mechanisms of abiotic stress tolerance in plants by genomic approaches. *Gene.* 388: 1-13.
38. Swamy, P. M. and B. Smith. 1999. Role of abscisic acid in plant stress tolerance. *Cur. Sci.* 76: 1220-1227.
39. Theocharis, A., S. Bordiec, O. Fernandez, S. Paquis, S. Dhondt-Cordelier, F. Baillieul, C. Clément, and E. A. Barka. 2012. *Burkholderia phytofirmans* PsJN primes *Vitis vinifera* L. and confers a better tolerance to low nonfreezing temperatures. *Mol. Plant-Microbe. Interact.* 25: 241-249.
40. Tiwari, S., V. Prasad, P. S. Chauhan, and C. Lata. 2017. *Bacillus amyloliquefaciens* confers tolerance to various abiotic stresses and modulates plant responses to phytohormones through osmoprotection and gene expression regulation in rice. *Front. Plant Sci.* 8: 1510.
41. Tuteja N. 2007. Abscisic acid and abiotic stress signaling. *Plant Signal. Behav.* 2: 135-138.
42. Vardharajula, S, S. Z. Ali, M. Grover, G. Reddy, and V. Bandi. 2011. Drought-tolerant plant growth promoting *Bacillus* spp.: effect on growth, osmolytes, and antioxidant status of maize under drought stress. *J. Plant Interact.* 6: 1-14.
43. Weisburg, W. G., S. M. Barns, D. A. Pelletier, and D. J. Lane. 1991. 16S ribosomal amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* 173: 697-703.
44. Yang, J., J. W. Kloepper, and C. M. Ryu. 2009. Rhizosphere bacteria help plants tolerate abiotic stress. *Trends. Plant Sci.* 14: 1-4.