

Review

중금속 오염 토양 정화를 위한 식물생장촉진세균: 특성, 활용 및 전망

조경숙*

이화여자대학교 환경공학과

Received: August 26, 2020 / Revised: October 8, 2020 / Accepted: October 15, 2020

Plant Growth-promoting Bacteria for Remediation of Heavy Metal Contaminated Soil: Characteristics, Application and Prospects

Kyung-Suk Cho*

Department of Environmental Science and Engineering, Ewha Womans University, Seoul 03760, Republic of Korea

Remediating soils contaminated with heavy metals due to urbanization and industrialization is very important not only for human health but also for ecosystem sustainability. Of the available remediation technologies for heavy metal-contaminated soils, phytoremediation is a relatively low-cost environment-friendly technology which preserves biodiversity and soil fertility. The application of plant growth-promoting bacteria (PGPB) during the phytoremediation of heavy metal-contaminated soils can enhance plant growth against heavy metal toxicity and increase heavy metal removal efficiency. In this study, the sources of heavy metals that have adverse effects on microorganisms, plants, and humans, and the plant growth-promoting traits of PGPB are addressed and the research trends of PGPB-assisted phytoremediation over the last 10 years are summarized. In addition, the effects of environmental factors and PGPB inoculation methods on the performance of PGPB-assisted phytoremediation are discussed. For the innovation of PGPB-assisted phytoremediation, it is necessary to understand the behavior of PGPB and the interactions among plant, PGPB, and indigenous microorganisms in the field.

Keywords: Plant growth-promoting bacteria, heavy metal, phytoremediation, contaminated soil, remediation efficiency

서 론

지구환경을 구성하고 있는 대기권, 수권 및 지각권은 인간을 비롯하여 지구상의 모든 생명체에 영향을 미치고 있다. 특히, 인간은 토양에서 재배한 농작물을 주요한 식품으로 이용하기 있기 때문에 지각권을 구성하는 토양은 가장 중요한 자연 자원이다[1]. 농작물의 수확량을 높이기 위해 오랜 기간 동안 지속적으로 사용한 비료, 살충제 및 제초제 등에 함유된 중금속은 생분해 되지 않기 때문에 토양에 잔류되어 왔다[2, 3]. 또한, 산업화 및 도시화로 인해 중금속이 함유된 폐수 및 폐기물로 인해 토양의 중금속 오염은 점점 심화되고 있다[4, 5]. 토양에 축적된 중금속은 식물에 의해 흡수되고, 먹이사슬에 의해 동물 및 인간 체내로 유입되기 때문에,

지구생태계내에서 생산자 역할을 담당하는 식물과 소비자인 동물과 인간에게 악영향을 미친다[6]. 또한, 중금속은 분해자 역할을 하는 토양 미생물 군집의 다양성과 기능 변화를 야기할 수도 있다[7]. 이와 같이 중금속에 의한 토양 오염은 해당 서식지에 생존하고 있는 생명체 뿐 아니라, 거시적인 측면에서 탄소, 질소, 인 등과 같은 주요 물질의 생지화학적 순환 및 지구 생태계 항상성 유지 기작에도 영향을 미칠 수 있다.

중금속 오염 토양을 정화하기 위하여 추출법(extraction), 열탈착법(thermal desorption), 토양세척법(soil washing), 경작법(land-farming), 생물복원법(bioremediation) 및 식물상복원법(phytoremediation) 등 다양한 기술이 개발되고 있다[1]. 추출법과 열탈착법에 의한 토양 정화 비용은 각각 240–813 $\$/m^3$ 및 81–252 $\$/m^3$ 로 타 기술에 비해 처리 단가가 많이 높다[8, 9]. 토양경작법과 토양세척법의 처리 단가는 각각 <100 $\$/m^3$ 과 71.4 $\$/m^3$ 로 평가되고 있다[9, 10]. 또한 이러한 물리화학적 방법은 토성, 토양 비옥도 및 생물다양성

*Corresponding author

Tel: +82-2-3277-2393, Fax: +82-2-3277-3275

E-mail: kscho@ewha.ac.kr

© 2020, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

에 부정적인 영향을 미친다[11, 12]. 이에 비해 생물학적 방법인 생물복원법과 식물상복원법의 처리 단가는 각각 59.9 \$/m³ 및 19-78 \$/m³로, 물리화학적 방법에 비해 저렴하다[8, 10, 13]. 특히, 식물상복원법은 환경친화적이고 지속 가능한 방법으로 평가되고 있다[1, 14].

식물상복원법을 이용한 중금속 오염 토양을 정화하기 위해 실험실 규모부터 현장 규모까지 많은 연구가 진행되었지만, 이 기술의 상용화 확대를 위해서는 식물 성장 및 중금속 제거 효율의 향상을 위한 기술 혁신이 필요하다[1, 12]. 최근 들어 중금속 독성으로 인한 식물 성장 저해 및 중금속 정화 효율을 향상시키기 위해 식물생장촉진세균(plant growth promoting bacteria, PGPB)을 식물상복원법에 활용하는 연구들이 활발하게 진행되고 있다[15, 16]. 이 방법에 의한 중금속 제거 효율성을 평가하여 식물상복원법의 개발방향을 제시하려는 목적으로, 본 논문에서는 주요 토양오염물인 중금속의 발생원, 미생물·식물·인간에 미치는 중금속 영향 및 PGPB의 식물생장촉진 기작을 정리하였다. 또한, 중금속 오염 토양 정화를 위해 식물상복원법에 PGPB의 활용에 관한 최신 연구 동향 및 관련 기술 혁신을 위한 향후 전망에 대해 고찰하였다.

중금속 오염 발생원 및 영향

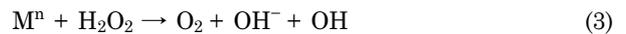
중금속은 원자 밀도가 5 g/cm³ 보다 큰 금속으로, 낮은 농

도에서 사람을 비롯한 동물과 식물 모두에게 독성이 있는 환경에서 가장 위협적인 오염물질이 되고 있다[17, 18]. 토양 뿐 아니라 물과 대기 환경을 오염시키는 중금속의 주요 발생원을 Fig. 1에 정리하였다. 중금속을 포함한 광석의 자연적인 풍화, 채광, 제련 과정, 금속 가공산업, 각종 산업폐기물, 제약·살충제 생산산업, 농업용 살충제 및 비료 사용 등이다[19, 20].

중금속은 그 자체가 생체물질과 세포내에서 일어나는 대사과정에 악영향을 미치고, 또한 세포내에서 반응성 산소 화학종(reactive oxygen species, ROS)을 형성하여 산화적 독성반응을 야기한다[20-22]. 전이 중금속(transition metal)은 unpaired 전자를 가지고 있고, 이로 인해 산소는 superoxide (O₂⁻)로 된다(식 (1)).



중성 환경에서 superoxide는 과산화수소(H₂O₂)를 생성하고 Haber-Wiss reaction에 의해 hydroxyl radicals(OH⁻)을 형성한다(식 (2), (3)).



생명체에 대한 중금속과 이로 인해 생성된 ROS의 독성 기작을 Fig. 2에 도시하였다[22]. 이들은 유전물질인 DNA 구조 변형 등을 유발하고 세포내 DNA 손상의 수리(repair) 기

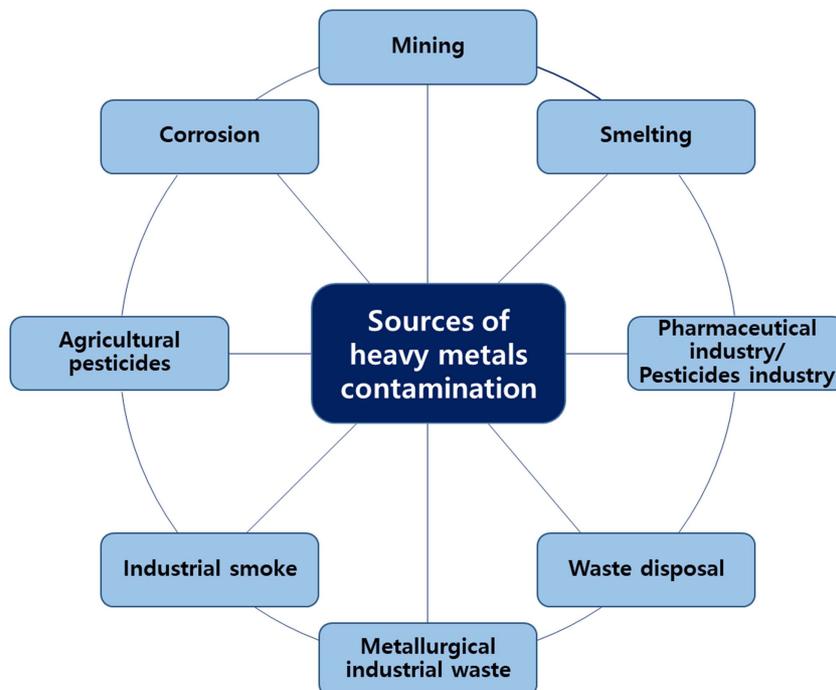


Fig. 1. Major sources of heavy metals contamination [19].

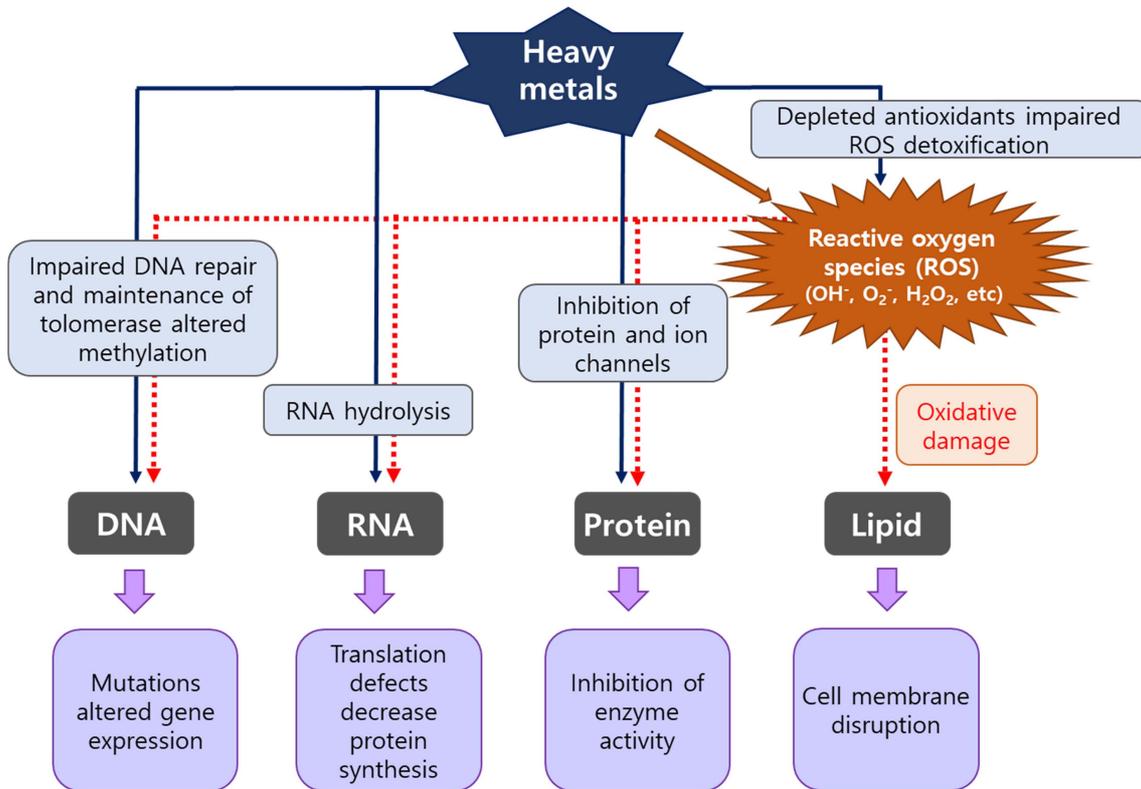


Fig. 2. Effects of heavy metals and reactive oxygen species on cells [22].

작을 방해하여 돌연변이를 야기한다. 중금속과 ROS는 RNA를 가수분해(hydrolysis)하여 단백질 합성을 방해하며, 단백질과 이온 채널을 저해하여 효소 활성을 억제한다. 중금속에

의해 생성된 ROS는 지질을 산화하여 세포막의 기능을 교란한다[22]. 미생물, 식물 및 인간에 미치는 중금속의 독성 영향을 Fig. 3에 정리하였다[20, 23-25]. 중금속은 미생물의 단

Microorganism	Plant	Human
<ul style="list-style-type: none"> Protein denaturation Inhibition of replication, transcription and translation Cell membrane disruption Inhibition of cell division Inhibition of enzyme activity 	<ul style="list-style-type: none"> Displacement of essential metal ions Production of reactive oxygen species Membrane disruption by lipid peroxidation Electron transport chain disruption Plant growth inhibition 	<ul style="list-style-type: none"> Brain: Memory loss, headaches, irritability, depression Digestive system: Constipation, nausea, poor appetite Cardiovascular: High blood pressure Kidneys: Abnormal function and damage Nervous system: Damage, pain in the extremities Body: Fatigue, joint and muscle pain Reproductive system: Men- Decreased sex drive, sperm count, sperm abnormalities; Women- Spontaneous miscarriage Carcinogenesis

Fig. 3. Effects of heavy metals and reactive oxygen species on microorganism, plant and human [23, 24].

백질 변성, DNA 복제(replication)·전사(transcription)·번역(translation) 기작 저해, 세포막 기능 교란, 세포분열 저해 및

단백질 활성 저해 현상을 유발할 수 있다[24]. 식물의 중금속에 의해 필수 금속이온 부족, 세포막 교란, 전자전달계 저

Table 1. Speciation, chemistry, toxicity and sources of heavy metals [1, 15, 16, 26-28].

Heavy metal	Oxidation state	Dominant/ reactive forms in soil	Concentration in soil (mg/kg)		Toxicity to plants	Toxicity to humans	Major sources
			Detected range	Toxic level			
Arsenic (As)	-3, 0, +3, +5	- Aerobic condition: As(V) is dominant (e.g.) arsenate (AsO_4^{3-}) - Reducing condition: As(III) is dominant (e.g.) arsenite (AsO_3^{3-})	0.1-102	20	Reduction of plant growth, Increase of lipid peroxidation, Decrease of amino acids and Fe concentrations, Inhibition of seed germination	Skin manifestation, cancers, vascular and dermal disease, gastrointestinal problem, respiratory damage	Timber treatment, paints, pesticides, geothermal/geogenic/natural processes, smelting operations, thermal power plants, fuel burning
Cadmium (Cd)	0, +2	- High pH: Hydroxide ($\text{Cd}(\text{OH})_2$), carbonate (CdCO_3) - Low pH (<8): Cd^{2+} , aqueous sulfate species	0.01-7	3-8	Leaf chlorosis, Reduction of plant growth, Membrane degradation due to the production of reactive oxygen species, Inhibition of photosynthetic pigments	Degenerative bone disease, kidney damage, renal disorder, human carcinogens	Electroplating, batteries, fertilizers, Zn smelting, waste batteries, e-waste, paint sludge, incinerations & fuel combustion
Chromium (Cr)	0, +3, +6	- Cr(VI): dominant and toxic form (e.g.) chromate (CrO_4^{2-}), dichromate ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$) at shallow aquifers - Cr(III): dominant form at low pH (<4)	5-1000	75-1000	Inhibition of seed germination, Reduction of plant growth, Deleterious effects on photosynthesis, water relations, and mineral nutrition, Increase of transpiration rate	DNA damage, carcinogens, allergy reaction, irritant dermatitis, gastrointestinal hemorrhage	Electroplating, alloy products, aircrafts, industrial coolants, electronics, leather tanning, dyes, pesticides
Copper (Cu)	0, +1, +2	- Cu(II): the most toxic species (e.g.), $\text{Cu}(\text{OH})^+$, $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$ - Aerobic alkaline condition: CuCO_3 is dominant soluble species - Anaerobic condition: $\text{CuS}(\text{s})$ will form with sulfur	2-100	60-125	Induction of Fe deficiency, Reduction of plant growth, Increase of electrolyte leakage and peroxidase activity of shoot tissues, Decrease of chlorophyll content, Increase of lipid peroxidation	Liver damage, Wilson disease, insomnia	Fungicides, electrical, paints, pigments, timber treatment, fertilizers, mine tailings, electroplating, smelting operations
Lead (Pb)	0, +2	- Pb(II): dominant and reactive form - Complexation with inorganic (Cl^- , CO_3^{2-} , SO_4^{2-} , PO_4^{3-}) and organic ligands (humic and fulvic acids, EDTA, amino acids)	2-200	100-400	Inhibition of seed germination, Reduction of plant growth, Reduction in chlorophyll, carotenoid contents, photosynthetic rate and CO_2 assimilation	Damage to fetal brain, Kidney problem, affects the nervous system	Batteries, metal products, preservatives, petrol additives, paints, e-waste, Smelting operations, coal-based thermal power plants, ceramics, bangle industry
Mercury (Hg)	0, +1, +2	- Alkylated form (methyl/ethyl mercury) depending on the pH - Oxidizing condition: Hg^{2+} and Hg_2^{2+}	0.02-0.2	0.3-5	Disturbance of cellular structure and metabolism, Reduction of plant growth and leaf pigment contents, Reduction in photosynthesis and chlorophyll synthesis	Blindness and deafness, brain damage, digestive problems, kidney damage, lack of coordination, mental retardation	Instruments, fumigants, geothermal, thermal power plants, fluorescent lamps, hospital waste, electrical appliances
Zinc (Zn)	0, +2	- High pH: Zn is bioavailable - pH 7.0-7.5: $\text{Zn}(\text{OH})_2$ - Reducing condition: Coprecipitate with hydrous oxides of Fe and Mg	10-300	70-400	Reduction of photosynthetic rate, Stomatal conductance, Leaf bronzing, Plant mortality, Chlorosis, Necrosis of mature leaves, Induction of Fe deficiency	Depression, lethargy, increased thirst	Dyes, paints, timber treatment, fertilizers, mine tailings, smelting, electroplating

해 및 생장이 저해되는 영향을 받는다[20, 23]. 인간에 대한 중금속 중독 현상은 두뇌, 소화계, 순환계, 신경계 및 생식계를 포함한 모든 신체 기능 저하 및 발암까지 매우 다양하게 나타난다[25].

토양의 주요 오염원인 중금속 종류별로 화학적 특성, 농도, 식물과 인간에 미치는 영향 및 주요 배출원을 Table 1에 요약 정리하였다[1, 15, 16, 20, 26–28]. 비소는 지구 지각을 구성하는 물질 중 20번째로 많은 금속으로[29], 호기적인 환경에서는 +5가 산화(AS(V))인 arsenate(AsO_4^{3-})로 주로 존재한다[16, 28]. Arsenate는 산성조건에서 Fe oxyhydroxides와 착화합물을 형성하거나 침전물을 형성한다. 비소는 혐기적 환경에서는 주로 수용성인 +3가(As(III))인 arsenite (AsO_3^{3-})로 존재한다. 지각의 자연적인 풍화작용 등과 같은 자연적 배출원 및 페인트 및 살충제 제조업과 발전소 등과 같은 인위적 배출원에 의한 식수원과 농경지의 비소 오염은 발암물질로 심각하게 인간의 건강을 위협하고 있다[1].

0가 혹은 +2가의 산화가를 가진 카드뮴은 pH 8 이상의 환경에서는 수산화($\text{Cd}(\text{OH})_2$) 혹은 탄산염(CdCO_3) 화합물로, pH 8보다 낮은 환경에서는 수용성 황산염 화합물의 형태로 존재한다. 카드뮴은 광합성 작용 저해 등으로 식물 성장을 억제할 뿐 만 아니라, 신장 질환 및 뼈가 연화 되어 변형 및 골절 등의 문제를 야기할 수 있다[1].

크롬은 방부식 특성을 가지고 있는 전자부품, 항공기 등의 코팅제로 사용되거나, 가죽, 염료, 종이, 유리 등의 각종 제조업에서 많이 활용되고 있다[1, 30]. 크롬은 0가, +3가 및 +6가의 산화가를 갖는데, 주로 환경 중에서 chromate(CrO_4^{2-}) 혹은 dichromate(Cr_2O_7^-)로 독성이 높은 크롬(VI) 화합물의 형태로 존재한다. 크롬(VI)은 식물의 증산작용 및 광합성을 저해하고, 위장 장애, DNA 손상 및 암을 유발할 수 있다. 구리는 0가, +1가 및 +2가로 존재할 수 있는데, $\text{Cu}(\text{OH})^+$, $\text{Cu}_2(\text{OH})_2^{2+}$ 과 같은 2가 구리화합물의 독성이 가장 크다. 구리로 오염된 토양은 식물의 구리 결핍 등의 성장 저해를 야기한다. 납은 0가 및 +2가 산화가를 가지는데, 특히 납(II)은 염소, 탄산염, 황산염, 인산염 등과 같은 무기물과 쉽게 결합할 수 있다. Humic acid와 fulvic acid 등의 토양 유기물과 결합한 형태로 토양에서 검출된다.

수은은 환경 중에서 methyl mercury 혹은 ethyl mercury 등의 알킬화된 유기 수은 화합물의 형태로 존재하며, 식물의 세포 구조와 대사과정을 저해한다[1]. 유기 수은 화합물은 금속 수은보다 독성이 강하고 두통, 시력/언어/지각 장애 등의 신경 장애를 야기할 수 있다. 0가 혹은 +2가의 형태로 존재하는 아연은 용접, 도금 및 전자제조업에서 작업자의 직업병을 유발할 수 있으며, 식물의 철 결핍 현상을 유발하고 광합성을 저해한다.

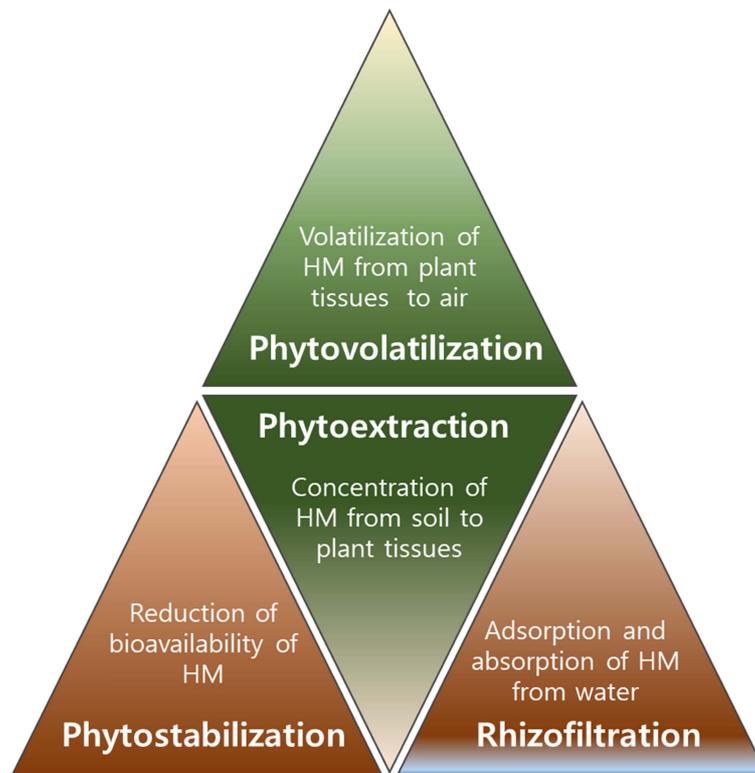


Fig. 4. Phytoremediation technology of heavy metal-contaminated soil [34].

PGPB의 식물생장촉진 기작

토양에서 중금속은 일반적으로 bioavailability가 낮은 불용성 화합물로 존재한다[31]. 식물은 다양한 종류의 뿌리 삼출물(root exudate)을 체외에 생산하여 근권 토양의 pH를 변화시켜 중금속의 용해도를 증가시킬 수 있다[32]. 이렇게 bioavailability가 높아진 중금속은 식물 뿌리 표면에 흡착되거나 뿌리세포의 세포막을 통해 식물 조직체 내부로 흡수될 수 있다[31]. 식물을 이용한 오염토양의 중금속 정화 기작은 phytostabilization, rhizofiltration, phytoextraction 및 phytovolatilization으로 구분된다(Fig. 4) [33, 34]. Phytostabilization은 식물의 근권에서 중금속을 산화-환원 혹은 침전시켜 중금속의 bioavailability를 낮추거나 고정화시키는 것이다. Rhizofiltration은 토양수 혹은 지하수에 함유된 중금속을 식물 뿌리조직 외피에 존재하는 음성 전하를 가진 세포 외 잔재물에 흡착시키거나, 세포막에 존재하는 carrier 단백질을 통해 중금속을 세포 내부에 흡수시키는 기작이다[35]. Phytoextraction은 식물이 토양으로부터 중금속을 흡수하여 식물 조직에 축적시키는 것이고, phytovolatilization은 식물 조직에 축적된 중금속을 가스상 중금속 화합물의 형태로 대기 중으로 휘발시켜 제거하는 기작이다. 식물이 토양으로부터 중금속을 흡수하여 뿌리 등의 식물조직체에 축적할 수 있는 능력은 생물농축인자(Bioconcentration factor, BF)로 비교 평가되는데, BF 값은 다음의 식 (4)에 의해 계산한다[36, 37].

$$BF = C_p/C_{so} \quad (4)$$

여기서, C_p , 식물조직내 중금속 농도; C_{so} , 토양 중 중금속 농도.

또한, 식물이 지하부 뿌리로 흡수한 중금속을 잎 등의 지상부 식물조직으로 수송하여 저장할 수 있는데, 이러한 식물조직내에서 중금속을 수송할 수 있는 능력은 수송인자(translocation factor, TF)로 비교 평가된다. TF 값은 뿌리조직내 중금속 농도 대비 지상부 식물조직내 중금속 농도 비율로 계산한다[36, 37].

$$TF = C_s/C_r \quad (5)$$

여기서, C_p , 뿌리내 중금속 농도; C_{so} , 지상부 식물조직내 중금속 농도.

일반적으로 BF 값과 TF 값이 1보다 큰 식물종은 phytoextraction에 적합하고, BF 값은 1보다 크지만 TF 값이 1보다 작은 식물종은 phytostabilization에 적합하다[34].

그런데, 중금속에 의해 식물 성장과 활성이 저해를 받기 때문에, 식물상복원법의 중금속 제거 효율을 향상시키는 위해서는 식물 성장을 촉진하는 PGPB의 활용은 매우 중요하다. PGPB에 의한 식물생장촉진 기작을 Table 2에 정리하

였다. 질소고정세균은 대기 중의 질소를 식물이 흡수 가능한 질소화합물의 형태로 고정화하여 식물 성장에 필요한 macronutrient 중 하나인 질소를 제공할 수 있다. 질소고정세균은 식물과 공생관계를 형성하는 *Rhizobium* sp. 및 *Bradyrhizobium* sp. 등과 같은 공생형 세균과[38], *Azospirillum* sp. 및 *Pseudomonas* sp. 등과 같이 비공생형 세균으로 구분된다[39]. *Bacillus amyloliquefaciens* 및 *B. pumilus* 등은 식물의 인의 흡수를 향상시키고[40], *Mesorhizobium*, *Paenibacillus* 및 *Arthrobacter* 등은 불용성 칼륨을 용해하여 식물이 흡수 가능하도록 할 수 있다[41]. PGPB는 식물 성장을 위해 미량으로 필요한 아연과 규소와 같은 micronutrient을 식물이 이용 가능하도록 availability를 증가시킬 수 있다. 아연을 가용화 할 수 있는 세균으로 *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Ralstonia*, *Burkholderia*, *Klebsiella* 등이 있고[42, 43], 규소 가용화 세균으로 *Burkholderia eburnean*가 보고되고 있다[44].

불용성 인산염 화합물을 가용화시킬 수 있는 *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rahnella* 및 *Burkholderia* 등은 식물 성장에 필요한 인산염을 공급하여 식물 성장을 촉진할 수 있다[38, 45-48]. 또한, 이들 세균에 의해 가용화된 인산염을 중금속과 결합하여 불용성 화합물로 고정화되어 중금속의 이동성이 낮게 된다. 이렇게 되면 식물에 의한 중금속 흡수량이 감소되므로, 중금속 독성으로부터 식물을 보호하는 효과를 얻을 수 있다[49].

PGPB에 의해 생산된 유기산은 식물의 성장을 촉진시키는 영양분으로 이용될 수 있다[49]. 또한, 이러한 유기산은 중금속과 복합 화합물을 형성할 수 있는데, 특히 metal-oxalate 결정물로 되면 독성도가 낮아진다[49]. 대표적인 유기산 생성 세균으로 *Pseudomonas*, *Paenibacillus* 및 *Bacillus* 등이 보고되고 있다[50, 51].

1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC)는 식물 스트레스 호르몬인 ethylene의 전구물질인데[52, 53], PGPB 중에서 ACC를 암모니아와 2-oxobutanoate로 분해하는 ACC deaminase를 생산하는 세균이 있다[54]. ACC deaminase를 생산하는 세균은 식물 뿌리 성장을 촉진하고 식물에 의한 영양분 흡수를 증가시킬 수 있다[49, 55]. 대표적인 ACC deaminase를 생산하는 세균으로 *Microbispora*, *Streptomyces*, *Variovorax*, *Mesorhizobium*, *Bradyrhizobium* 및 *Rhizobium* 등이 보고되고 있다[56-58].

PGPB 중 일부는 식물 성장을 촉진하는 phytohormone을 생산할 수 있다. Phytohormone을 생산하는 세균은 식물에 대한 중금속의 독성 영향을 감소시킬 수 있고, 뿌리 성장을 촉진하여 영양분과 중금속 흡수를 향상시키고, 식물의 항산화 효소 활성을 촉진시킬 수 있다[49, 55]. 대표적인 phytohormone인 Indole-3-acetic acid (IAA)을 생산하는 세

Table 2. Overall benefic mechanisms of plant-growing promoting bacteria on plants.

Mechanisms	Effects on plants and heavy metal dynamics	Representative microorganisms and References
Improvement of uptake of nutrients	<ul style="list-style-type: none"> - Enhancement of the availability of macronutrients (N, P, K) - Increase of the availability of micronutrients (Fe, Mn, Zn, Si) 	<ul style="list-style-type: none"> - Symbiotic N₂ fixing: <i>Rhizobium</i> sp., <i>Bradyrhizobium</i> sp. [38] - Free living N₂ fixing: <i>Azospirillum</i> sp., <i>Pseudomonas putida</i>, <i>P. fluorescens</i> [39] - Increase of P uptake: <i>Bacillus amyloliquefaciens</i>, <i>B. pumilus</i> [40] - K-solubilization: <i>Mesorhizobium</i> sp., <i>Paenibacillus</i> sp., <i>Arthrobacter</i> sp. [41] - Zn-solubilization: <i>Bacillus</i> sp., <i>B. aryabhatai</i>, <i>B. subtilis</i> [42]; <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Ralstonia pickettii</i>, <i>Burkholderia cepacia</i>, <i>Klebsiella pneumonia</i> [43] - Si-solubilization: <i>Burkholderia eburnean</i> [44]
Solubilization of insoluble phosphate	<ul style="list-style-type: none"> - Enhancement of P availability to plants - Immobilization of heavy metals by the formation of insoluble metal phosphates - Reduction of heavy metal uptake and translocation 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Pseudomonas putida</i>, <i>P. fluorescens</i> [38] - <i>Bacillus</i> sp. [45]; <i>B. thuringiensis</i> [46] - <i>Rahnella</i> sp. [47] - <i>Burkholderia</i> sp. [48]
Production of organic acid	<ul style="list-style-type: none"> - Provided benefits in acquisition of nutrients - Formation of complexes with heavy metals - Provided tolerance to toxic metals due to formation of metal-oxalate crystals 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Pseudomonas</i> sp. [50] - <i>Paenibacillus macerans</i> [51] - <i>Bacillus endophyticus</i>, <i>B. pumilus</i> [51]
Production of ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) deaminase	<ul style="list-style-type: none"> - Decrease of stress-induced ethylene production - Promoted root growth - Increase of uptake of nutrients 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Microbispora</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp. [56] - <i>Variovorax paradoxus</i> [57] - <i>Mesorhizobium loti</i>, <i>Bradyrhizobium japonicum</i>, <i>Rhizobium</i> sp. [58]
Production of phytohormones	<ul style="list-style-type: none"> - Alleviated the metal induced-stress - Promoted absorption of nutrients and metals by proliferating plant roots - Stimulated antioxidant enzymes - Increased the availability of nutrients - Decreased the availability of heavy metals by chelating agents present in root exudates (bacterial IAA-mediated increase of root exudates) 	<ul style="list-style-type: none"> - IAA (Indole-3-acetic acid) production: <i>Microbispora</i> sp., <i>Streptomyces</i> sp. [56]; <i>Pseudomonas alcaligenes</i>, <i>Bacillus polymyxa</i>, <i>Mycobacterium phlei</i> [59] - Gibberellic acid production: <i>Burkholderia cepacia</i>, <i>Promicromonospora</i> sp., <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>, <i>P. putida</i> [60, 61] - Cytokines production: <i>Bacillus subtilis</i> [62]
Production of siderophores	<ul style="list-style-type: none"> - Provided nutrients particularly Fe to metal-stressed plants - Improvement of plant growth - Reduction of heavy metal uptake 	<ul style="list-style-type: none"> - Fe providing: <i>Chryseobacterium</i> sp. [64] - Improvement of Fe uptake: <i>Micrococcus yunnanensis</i>, <i>Stenotrophomonas chelatiphaga</i> [65]
Production of biosurfactants and exopolymers	<ul style="list-style-type: none"> - Increase of heavy metals tolerance and metal removal efficiency - Bound preferentially toxic metals 	<ul style="list-style-type: none"> - Exopolysaccharides production: <i>P. putida</i> [66]; <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Acinetobacter</i> sp. [67]; <i>B. amyloliquefaciens</i>, <i>B. insolitus</i>, <i>Microbacterium</i> sp., <i>P. syringae</i> [68]; <i>Cupriavidus taiwanensis</i> [69] - Surfactants production: <i>B. subtilis</i>, <i>Torulopsis bombicola</i> [70]; <i>P. aeruginosa</i> [71, 72]; <i>Rhodococcus erythropolis</i> [73]
Decreased of heavy metals uptake by plants	<ul style="list-style-type: none"> - Conversion of bioavailable heavy metals into inert species - Change of the speciation of heavy metals from bioavailable forms to non-bioavailable ones - Biosorption, bioaccumulation and sequestration of heavy metals 	<ul style="list-style-type: none"> - Immobilization of heavy metals: <i>Ralstonia eutropha</i> [74] - Biosorption of heavy metals: <i>Bacillus</i> sp. [75] - Sequestration of heavy metals: <i>Bacillus cereus</i> [76]
Change of heavy metals speciation	<ul style="list-style-type: none"> - Reduction of heavy metals toxicity 	<ul style="list-style-type: none"> - Reduction of Cr⁶⁺ to Cr³⁺: <i>P. aeruginosa</i> [77]
Induced production of antioxidant enzymes by plant	<ul style="list-style-type: none"> - Enhancement of tolerance to environmental stress 	<ul style="list-style-type: none"> - <i>Enterobacter</i> sp. [78] - <i>Bacillus</i> sp. [79] - <i>B. thuringiensis</i> [80] - <i>P. aeruginosa</i> [81]

균은 *Microbispora*, *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Bacillus* 및 *Mycobacterium* 등이 있다[56, 59]. 또 다른 phytohormone인 gibberellic acid을 생산할 수 있는 세균으로 *Burkholderia*, *Promicromonospora*, *Acinetobacter* 및 *Pseudomonas* 등이 보고되었고[60, 61], cytokine을 생산하는 세균으로 *Bacillus subtilis*가 있다[62].

철은 모든 생명체에 필수적으로 요구되는 미량영양분이나, 호기적인 토양 환경에서 철은 hydroxides 혹은 oxyhydroxides와 같은 bioavailability가 매우 낮은 불용성 철화합물로 존재한다[63]. 미생물은 철과 매우 높은 친화력을 가진 저분자 킬레이터(chelator)인 siderophores를 분비하여 환경으로부터 철을 획득할 수 있다[49, 55]. Siderophores를 분비하는 *Chryseobacterium*는 식물에 철을 제공하여 식물 성장을 촉진할 수 있었다[64]. 또한, *Micrococcus yunnanensis*와 *Stenotrophomonas chelatiphaga* 등의 siderophores 생산균의 공존에 의해 식물에 의한 철 흡수가 향상되는 효과가 있었다[65].

세포 외부에 다당류와 계면활성제를 생산하는 세균의 공존은 중금속에 대한 식물의 내성을 증가시키고 중금속 제거 효율을 향상시킬 수 있다[49, 55]. 다당류를 생산하는 PGPB로 *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Microbacterium*, *P. syringae* 및 *Cupriavidus* 등이 있다[66–69]. 또한, 계면활성제를 생산하는 PGPB로는 *B. subtilis*, *Torulopsis bombicola*, *P. aeruginosa* 및 *Rhodococcus erythropolis* 등이 보고되고 있다[70–73].

PGPB 중에서 생물학적으로 이용할 수 있는 중금속화합물을 불활성 화합물 혹은 생물학적으로 이용 불가능한 중금속으로 변환하거나, 세균의 세포 표면 혹은 내부로 중금속을 흡착·흡수하여 식물에 의한 중금속 흡수량을 감소시킬 수 있다[49, 55]. 이러한 기능을 가진 PGPB로 *Ralstonia eutropha*, *Bacillus* sp. 및 *B. cereus* 등이 보고되고 있다[74–76]. 또한, *P. aeruginosa* 등의 세균은 독성이 강한 Cr^{6+} 을 Cr^{3+} 로 환원하여 무독화시킬 수 있다[77]. 식물은 항산화 효소를 이용하여 중금속에 대해 내성을 가지게 되거나, 중금속독성을 무독화시킬 수 있다[49, 55]. *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp., *B. thuringiensis* 및 *P. aeruginosa* 등은 중금속 오염 토양에서 식물에 의한 항산화 효소 생산을 유도하여 식물생장촉진 활성을 가지고 있었다[78–81].

단일 중금속 오염 토양의 phytoremediation에서 PGPB 활용 사례

중금속 오염 토양 정화를 위해 식물을 이용한 식물상복원법에 PGPB를 활용한 사례 중 최근 10년간 진행된 연구동향을 Table 3–6에 정리하였다. 전세계적으로 수 백만명 이상

의 사람이 비소로 오염된 경작지와 식수 등으로 인해 비소 독성의 영향을 받고 있는 것으로 알려져 있다[82]. 특히, 유럽, 멕시코, 방글라데시, 파키스탄, 인도, 중국 등에서는 비소 오염이 광범위하게 발견되고 있다[82]. 국제암연구기구(International Agency of Research on Cancer, IARC), 국제보건기구(World Health Organization, WHO) 및 미국 환경청(Environmental Protection Agency, EPA) 등은 비소를 발암물질로 분류하고 있다[83].

비소로 오염된 토양의 식물상정화법에 PGPB의 활용 효과를 연구한 결과를 Table 3에 정리하였다. 고사리(*Pteris vittata* L.)는 뿌리 삼출물로 불용성 비소화합물을 용해하여 비소를 식물조직내에 축적할 수 있는 대표적인 식물이다[84]. 철과 착화합물을 형성할 수 있는 siderophore를 생산할 수 있는 PGPB (*Pseudomonas* sp., *Comamonas* sp. 및 *Stenotrophomonas* sp.)을 고사리에 접종하면 고사리 생장이 증가되고 정화 효율도 향상되는 효과를 얻을 수 있었다[84]. 미루나무(*Populus deltoids*), 갯(*Brassica juncea* L.), 병아리콩(*Cicer arietinum* L.) 및 녹두(*Vigna Radiata*)에 PGPR을 접종하여 식물 성장과 비소 정화 효율이 향상된 연구들도 보고되고 있다[85–89]. 벼에 *Bacillus flexus*, *Kocuria flava*, *Bacillus vietnamensis*, *Pseudomonas mosselii* 및 *Bacillus thuringiensis* 등과 같은 PGPB를 접종하면 벼 생장이 향상되고, 토양으로부터 비소 흡수량도 증가하였다[90–92]. PGPB는 식물의 성장과 식물조직 체내로의 비소 축적을 향상시킬 뿐 아니라, 식물에 의한 비소 휘발 제거능도 향상시킬 수 있었다[93].

Yang et al. (2020)은 비소 오염 토양 현장에서 비소 과축적식물인 고사리(*Pteris vittata* L.)의 비소 정화효율에 미치는 근권세균인 *Pseudomonas vancouverensis*의 활용 효과를 조사하였다[94]. 고사리는 As(III)보다는 As(V)를 효율적으로 축적할 수 있는데, *P. vancouverensis*는 As(III)을 As(V)로 산화함으로써 고사리에 의한 비소 흡수효율을 향상할 수 있었다. 즉, 이 균주를 접종한 조건에서 고사리의 조직에 축적된 비소량은 이 균주를 접종하지 않은 조건에서 재배한 고사리의 조직에 축적된 비소량보다 높았다. 또한, 이러한 비소 정화 효율 증가에 미치는 *P. vancouverensis*의 접종 효과는 3년동안 현장에서 안정적으로 관찰되었고, 고사리 근권 토양에서 비소 산화에 관여하는 효소인 arsenite oxidase (*aiOA*-like) 유전자도 검출되었다.

카드뮴은 농경지와 산업단지 토양의 주요 오염 중금속으로[95], 특히 카드뮴으로 오염된 농경지에서 재배된 작물은 이를 소비하는 인간에게까지 카드뮴 중독 문제를 야기할 수 있다[96]. Prapagdee et al. (2013)은 중금속 축적 식물로 알려진 해바라기(*Helianthus annuus*)의 성장과 카드뮴 흡수 효율에 미치는 *Micrococcus* sp. MU1 and *Klebsiella* sp.

Table 3. Plant-growing promoting bacteria (PGPB)-assisted phytoremediation of As-contaminated soils.

Heavy metal conc. (mg/kg)	PGPB	Plant growth-promoting trait	Plant	Effect of PGPB	References
4.4-46.3	<i>Pseudomonas</i> sp., <i>Comamonas</i> sp., <i>Stenotrophomonas</i> sp.	- Siderophore	<i>Pteris vittata</i> L.	- Increase of plant growth - Enhancement of phytoremediation performance	[84]
300	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	- IAA - Siderophore	<i>Populus deltoids</i>	- Promotion of phytoremediation performance	[85]
10	<i>Staphylococcus arlettae</i>	- IAA - Siderophore - ACC deaminase	<i>Brassica juncea</i> L.	- Increase of biomass, carotenoid, chlorophyll and protein content - Increase of As accumulation in the root	[86]
10	<i>Acinetobacter</i> sp.	- IAA - Siderophore - P solubilization - ACC deaminase	<i>Cicer arietinum</i> L.	- Enhancement of plant growth - Decrease of As toxicity	[87]
100	<i>Exiguobacterium</i> sp.	- IAA - P solubilization - EPS	<i>Vigna Radiata</i>	- Increase of As uptake - Increase of shoot and root biomass	[88, 89]
18	<i>Bacillus flexus</i> ASO-6	- IAA - Siderophore - P solubilization - ACC deaminase	<i>Oryza sativa</i> L.	- Increase of plant growth	[90]
10	<i>Kocuria flava</i> AB402, <i>Bacillus vietnamensis</i> AB403	- IAA - Siderophore - EPS	<i>Oryza sativa</i> L.	- Promotion of plant growth	[91]
41, 138	<i>Pseudomonas mosselii</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i>	- IAA - Siderophore - P solubilization - ACC deaminase	<i>Oryza sativa</i> L.	- Promotion of plant growth - Increase of As uptake	[92]
13	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Agrobacterium</i> sp.	- As tolerance	<i>Arundo donax</i> L.	- Enhancement of As volatilization	[93]
11	<i>Pseudomonas vancouverensis</i> m318	- As mobilization by the oxidation of As(III) to As(V)	<i>Pteris vittata</i>	- Increase of plant biomass, and As accumulation in plant	[94]

IAA, Indole-3-acetic acid; EPS, exopolysaccharide; ACC deaminase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase.

BAM1의 접종 효과를 평가하였다[97]. MU1과 BAM1 균주는 IAA를 생산하고 카드뮴에 내성을 가진 PGPB이다. 이들 균주를 접종하지 않은 대조군에 비해, 이들 균주 접종에 의해 카드뮴 오염 토양에서의 해바라기 뿌리 생장은 21-68% 향상되었고, 뿌리와 잎에서의 카드뮴 축적 농도가 1.3배 증가하였다[97].

IAA와 siderophore를 생산하고 ACC deaminase 활성을 가진 *Bradyrhizobium* sp.을 벼과 식물인 쥐보리(*Lolium multiflorum* L.)에 접종한 결과, 카드뮴의 뿌리 축적량이 증가하였다[98]. 카드뮴을 과축적할 수 있는 2종류의 비름과 식물(*Amaranthus hypochondriacus*, *A. Mangostanus*)에, 카드뮴에 내성이 있고 카드뮴을 유동화 할 수 있으며 식물 조직 내에서 서식하는 PGPB인 *Rahnella* sp. JN27을 접종한 결과, 식물 생장과 카드뮴 흡수량이 증가하였다[99].

Rahnella sp. JN27은 왕자의깃털(*A. hypochondriacus*) 근권토양과 뿌리조직내에서 안정적으로 균락을 형성함이 확인되어, 이들 사이에 symbiont 관계 형성이 카드뮴 정화 효율 향상에 기여한 것으로 보인다[99].

벼과 식물인 큰개기장(*Panicum virgatum* L.)에 PGPB (*Pantoea vagans*, *Pseudomonas grimontii*, *P. veronii*, *P. fluorescens*)를 접종한 결과, 큰개기장의 생체량과 카드뮴 흡수량이 증가하는 효과를 얻을 수 있었다[100]. 우리나라와 중국에서 많이 자생하고 있는 소래풀(*Orychophragmus violaceus*)을 대상으로, 카드뮴 오염 토양에서 소래풀의 생장과 카드뮴 흡수량의 영향을 미치는 여러 종의 PGPB 접종 효과를 비교 분석하였다[101]. 그 결과, *Bacillus megaterium*을 접종한 경우, 무접종 대조군에 비해 소래풀 뿌리와 지상부에 축적된 카드뮴 농도가 각각 2.29배와 2.86배 증가하여,

이 균주가 소래풀을 이용한 카드뮴 정화를 위한 최적의 PGPB임을 확인하였다.

옥수수(*Zea mays* L.)는 중금속 정화를 위해 많이 활용되고 있는 식물이다. 카드뮴 오염 토양(30–80 mg/kg)에 심은 옥수수에 PGPB (*Ralstonia eutropha*, *Chryseobacterium humi*, *Klebsiella* sp. CIK-518, *Enterobacter* sp. CIK-521R)를 접종하여 옥수수의 성장과 카드뮴 흡수량이 모두 향상되었다[74, 102, 103]. IAA 및 siderophore 생산능, ACC deaminase 활성 및 질소고정능을 지닌 *Enterobacter aerogenes* MCC 3092을 벼(*Oryza sativa* L.) 모종에 접종한 효과를 분석한 결과, 에틸렌에 의한 식물의 스트레스가 감소하고 벼 모종에

카드뮴 흡수량이 감소하여 모종의 생장이 향상되었다[104]. IAA, siderophore 및 EPS생산능, 인산염 가용화 활성 및 ACC deaminase 활성 등 다양한 식물생장촉진 능력을 지닌 *Paenibacillus* sp. ISTP10을 목화(*Gossypium hirsutum* L.)에 접종하면 광합성 색소인 chlorophyll 함량이 증가하여 식물 생장이 향상되었다[105].

크롬은 다양한 산업과 화학공정에서 사용되는 중금속으로, 산화가가 6가인 Cr(VI)는 맹독 중금속이다. IAA와 siderophore를 생산할 수 있는 *Bacillus* sp. PSB 10는 크롬 오염 토양에서 병아리콩(*Cicer arietinum* L.)의 성장을 증가시켜 콩 생산량을 향상시킬 수 있었다[106]. 식물 성장을 촉

Table 4. Plant-growing promoting bacteria (PGPB)-assisted phytoremediation of Cd-contaminated soils.

Heavy metal conc. (mg/kg)	PGPB	Plant growth-promoting trait	Plant	Effect of PGPB	Ref.
65.2	<i>Micrococcus</i> sp. MU01, <i>Klebsiella</i> sp. BAM1	- IAA - ACC deaminase	<i>Helianthus annuus</i>	- Enhancement of root growth and Cd accumulation in root and leaf	[97]
20	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	- IAA - Siderophore - ACC deaminase	<i>Lolium multiflorum</i> L.	- Increase of Cd accumulation in root	[98]
25	<i>Rahnella</i> sp.	- IAA - Siderophore - P solubilization - ACC deaminase	<i>Amaranthus hypochondriacus</i> , <i>A. Mangostanus</i>	- Enhancement of growth and Cd uptake	[99]
35	<i>Pseudomonas grimontii</i> , <i>Pantoea vagans</i> , <i>Pseudomonas veronii</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i>	- IAA - Siderophore - P solubilization	<i>Panicum virgatum</i> L.	- Increase of biomass and Cd uptake	[100]
100	<i>Bacillus megaterium</i>	- Cd tolerance - Root elongation	<i>Orychophragmus violaceus</i>	- Enhancement of Cd accumulation in root and shoot	[101]
30	<i>Ralstonia eutropha</i> , <i>Chryseobacterium humi</i>	- IAA - HCN - Siderophore - ACC deaminase	<i>Zea mays</i> L.	- Enhancement of plant growth and Cd accumulation in root	[74]
80	<i>Klebsiella</i> sp. CIK-518, <i>Enterobacter</i> sp. CIK-521R	- P solubilization - EPS - Auxin	<i>Zea mays</i> L.	- Increase of Cd uptake	[102]
500	<i>Pseudomonas putida</i> (ATCC 39213)	- IAA - Siderophore - ACC deaminase	<i>Eruca sativa</i>	- Increase of root and shoot length, plant dry weight and chlorophyll contents	[103]
3 mg/l	<i>Enterobacter aerogenes</i> MCC 3092	- IAA - Siderophore - ACC deaminase - N ₂ fixation	<i>Oryza sativa</i> L.	- Reduction of oxidative stress, stress ethylene and Cd uptake in rice seedlings - Increase of rice seedling growth	[104]
60	<i>Paenibacillus</i> sp. ISTP10	- IAA - Siderophore - P solubilization - ACC deaminase - EPS - HCN	<i>Gossypium hirsutum</i> L.	- Increase of chlorophyll contents, plant height and root length - Increase of plant fresh and dry weight	[105]

IAA, Indole-3-acetic acid; EPS, exopolysaccharide; ACC deaminase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase.

진하는 phytohormone인 IAA 생산능을 가진 *Paenibacillus lentimorbus*는 EPS를 생산하여 생물막(biofilm)을 형성하여 200 mg-Cr/L의 고농도 크롬에 대해 내성을 가지게 된다[107]. 크롬으로 오염된 토양에서 병아리콩(*Cicer arietinum* L.)에 이 세균을 접종하며, 이 세균의 바이오필름은 크롬 독성으로부터 식물 조직을 보호하고 보호막으로 작용하여 궁극적으로 크롬이 식물 조직 내부로 흡수되는 것을 감소시킬 수 있다[107]. ACC deaminase 활성 및 질소고정능이 있는 *Bacillus cereus*을 밀(*Triticum aestivum* L.) 종자의 발아율을 향상시킬 수 있었다[108].

크롬이 고농도로 함유된 가죽공장폐수로 인해 오염된 토양에서 옥수수(*Zea mays*)의 생장과 크롬 흡수량을 향상시킬 수 있는 균주를 분리하여 동정한 결과, *Agrobacterium tumefaciens*로 동정되었다[109]. 이들 균주의 접종에 의해 옥수수 생장은 2.3-4배 증가하였고, 크롬 흡수량은 7-14배 증가하였다. 또한, *Microbacterium* sp.와 *Agrobacterium fabrum* 도 크롬 오염 토양 조건에서 옥수수 생장을 향상시킬 수 있었는데, 이들 균주는 siderophore 생산능, 인산염 가용화 활성, 질소고정능, ACC deaminase 활성 등의 식물생장촉진 특성을 가지고 있음이 확인되었다[110, 111].

Maqbool *et al.* (2015)는 독성이 강한 Cr(VI)를 독성이 낮은 Cr(III)로 환원할 수 있는 *Brucella* sp. K12을 순수 분리하여, 아욱과 다년생초인 오크라(*Hibiscus esculentus* L.)에 접종한 효과를 조사하였다[112]. K12 균주를 미접종한 대조군에 비해, K12균주 접종한 조건에서 오크라의 지상부 높이, 뿌리길이, 식물 한 개체당 열매 수확량이 각각 77.5%, 72.6%, 1.4배 그리고 2.9배 증가하였다. 또한, 토양 중 크롬 농도도 최대 69.6% 감소하였다.

구리, 납 혹은 아연으로 오염된 토양의 식물상복원법에서 PGPB 활용 사례를 Table 4에 정리하였다. 구리 오염 토양에 식물생장촉진 특성을 가진 *Microbacterium* sp.를 옥수수에 접종하여 식물 생장 향상 효과를 얻을 수 있었다[110]. PGPB인 *Paenibacillus mucilaginosus*와 구리에 내성을 가진 rhizobium인 *Sinorhizobium meliloti*을 접종하고 생분해성 킬레이트 물질인 S,S-ethylenediaminedisuccinic acid (EDDS)를 첨가한 조건에서 알파파에 의한 구리 제거 효율을 가장 높았다[113]. EDDS만 첨가한 조건에서 알파파에 의한 구리 제거 효율에 비해, EDDS 첨가와 동시에 이들 균주를 접종했을 때 구리 제거효율이 1.2배 높았다. EDDS만 첨가하면 알파파 근권의 미생물군집 다양성이 낮아졌지만, 이들 균주를 접종하면 근권 미생물군집 다양성이 증가하는 효과도 관찰되었다.

식물 생장 향상 능력이 있는 *Azotobacter chroococum*와 *Rhizobium leguminosarum* 균주를 동시에 접종한 경우가 각각의 균주만을 접종한 결과에 비해 옥수수(*Zea mays* L.)

생장과 옥수수 조직내 납의 축적량이 크게 증가하였다[114]. 또한, 납 오염 토양(300-900 mg/kg)에서 해바라기(*Helianthus annuus* var Hisun-33)에 3종의 PGPB (*Pseudomonas gessardii* BLP141, *P. fluorescens* A506, *P. fluorescens* LMG 2189)을 접종한 결과, 옥수수의 산화방지(antioxidant) 활성이 증가하고 생장이 향상되었다[115].

아연으로 오염된 토양에서 들나물과 다년생풀인 민밀푼비름(*Sedum alfredii*)의 생장과 아연 흡수율을 향상시키기 위해 식물 조직 내부에 서식하는 PGPB인 *Pseudomonas veronii*을 접종하면 뿌리와 지상부 생체량이 각각 80-525% 및 11-47% 증가하였다. 또한, 뿌리와 지상부에 축적된 아연 농도도 각각 44%와 39% 증가하였다[116]. 아연 오염 토양에서의 밀(*Triticum aestivum* L.)의 생장은 IAA와 siderophore 생산능과 ACC deaminase 활성을 가진 *Pseudomonas aeruginosa* 접종에 의해 향상되었다[81]. 겨자과 식물인 갓(*Brassica juncea*)을 활용한 납 오염 토양 정화 과정에서 *Rhizobium leguminosarum*을 접종하면 식물 성장과 갓 조직내 아연의 축적량은 증가하였다[117]. 또 다른 PGPB인 *Pseudomonas brassicacearum*만을 접종하면 갓의 생장 촉진 효과가 관찰되지 않았으나, *P. brassicacearum*와 *R. leguminosarum*을 동시에 접종하면 식물생장촉진과 아연 정화 효율 향상 효과가 관찰되었다. PGPB 공존 여부에 따라 식물체내 축적된 아연화합물의 형태도 차이가 있었다. PGPB가 없는 조건에서는 갓 조직내 아연은 oxalate 혹은 sulfate 염 형태로 축적되었으나, PGPB 공존시 독성이 적은 아연 킬레이트 형태로 갓 조직 내부에 축적되었다. 즉, PGPB는 아연 킬레이트 화합물 형성에 기여한 것으로 평가되었다.

혼합 중금속 오염 토양의 phytoremediation에서 PGPB 활용 사례

실제 중금속 오염 토양은 여러 종류의 중금속이 혼합된 상태로 오염되어 있으므로, 2종 이상의 혼합 중금속 오염 토양을 대상으로 식물상복원법에 있어 PGPB 활용에 대한 연구 사례를 Table 5에 정리하였다. 비소와 수은으로 오염된 토양에서 갓(*Brassica juncea*)과 화이트루핀(*Lupinus albus*)의 생장은 *Gordonia* 등을 비롯한 여러 종의 PGPB 접종에 의해 향상되었다[118]. 풀완두(*Lathyrus sativus*)를 이용하여 카드뮴과 납으로 오염된 토양을 정화함에 있어 *Rhizobium leguminosarum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Luteibacter* sp. 및 *Variovorax* sp.로 구성된 컨소시움의 접종 효과를 평가하였다[119]. 대조군(컨소시움 무접종)에 비해, PGPB 컨소시움 접종에 의해 카드뮴과 납의 제거 효율은 각각 61%와 46% 증가하였다. 또한, 풀완두 뿌리 건조중량과 뿌리흡 개수가 각각 22%와 31% 증가하였다.

Table 5. Plant-growing promoting bacteria (PGPB)-assisted phytoremediation of Cr-contaminated soils.

Heavy metal conc. (mg/kg)	PGPB	Plant growth-promoting trait	Plant	Effect of PGPB	Ref.
67.5	<i>Bacillus</i> sp. PSB 10	- IAA - Siderophore	<i>Cicer arietinum</i> L.	- Increase of nodulation and seed yield - Enhancement of plant growth	[106]
136	<i>Paenibacillus lentimorbus</i>	- EPS	<i>Cicer arietinum</i> L.	- Bacterial biofilm on plant root acts as a shield in preventing the direct access of toxic Cr to plant tissues, thus reducing its uptake in plants	[107]
6	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	N.D.	<i>Zea mays</i>	- Enhancement of growth and Cr uptake	[109]
35	<i>Microbacterium</i> sp.	- Siderophore - P solubilization - N ₂ fixation - Production of plant growth regulators	<i>Zea mays</i>	- Enhancement of plant growth and yields	[110]
30.46	<i>Brucella</i> sp. K12	- Cr(VI) reduction	<i>Hibiscus esculentus</i> L.	- Increased of plant height, root length, fruit weight and number of fruits per plant - Decrease of Cr concentration in soil	[112]
100	<i>Bacillus cereus</i>	- ACC deaminase - N ₂ fixation	<i>Triticum aestivum</i> L.	- Increase of seed germination and yield	[108]
50, 100	<i>Agrobacterium fabrum</i>	- IAA - Siderophore - P solubilization - K solubilization - ACC deaminase	<i>Zea mays</i>	- Improvement of plant growth - Improvement of N, P and K uptake	[111]

IAA, Indole-3-acetic acid; EPS, exopolysaccharide; ACC deaminase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase; N.D., not determined.

돌나물과 식물인 세덤(*Sedum plumbizincicola*)을 이용하여 카드뮴과 아연으로 오염된 토양 정화 효율은 *Bacillus pumilus* E2S2, *Bacillus* sp. E1S2의 접종으로 향상되었다 [75]. 특히, *Bacillus pumilus* E2S2 균주 접종에 의해 뿌리와 총 건조중량은 각각 146% 및 32% 증가되었다. 또한, 카드뮴과 아연 복합 오염 조건에서 뽕단지(*Helianthus tuberosus*)의 생장은 *Pseudomonas* sp. 228, *Serratia* sp. 246 및 *Pseudomonas* sp. 262의 공존 조건에서 향상되었다 [120].

Siderophore, 계면활성제 및 저분자의 유기산을 생산할 수 있는 *Pseudomonas* sp. LK9는 카드뮴, 구리 및 아연 복합 오염 조건에서 까마중(*Solanum nigrum*)에 의한 이들 중금속의 흡수량이 증가되는 효과를 보였다[50]. 또한, 카드뮴, 납, 아연 복합 오염 토양에서 호랑버들(*Salix Caprea*), 유채(*Brassica napus*) 및 바보여뀌(*Polygonum pubescens*)의 생장과 중금속 정화 효율 향상에 PGPB 접종 효과가 보고되었다[47, 121, 122].

카드뮴, 구리, 니켈 및 아연 4중 복합 중금속 오염 토양에서 서양겨자(*Sinapis alba* L.)의 생장과 카드뮴 흡수량은

Brevibacterium casei MH8a의 접종에 의해 향상되었다 [123]. IAA와 EPS 생산능이 있고 ACC deaminase 활성이 가진 *Bacillus gibsonii* PM11 및 *Bacillus xiamenensis* PM14는 카드뮴, 구리, 크롬 및 아연 4중 복합 중금속 오염 토양에서 아마(*Linum usitatissimum* L.)의 생장을 촉진시킬 수 있었다[124]. *Burkholderia* sp. D54는 카드뮴, 구리, 납 및 아연 4중 복합 중금속 오염 토양에서 스피루리나(*Spirulina Platensis*) 및 민말뽕비름(*Sedum alfredii* Hance)의 생장을 촉진하여 중금속 흡수량을 증가시킬 수 있었다[125, 126].

Phytoremediation에서 PGPB 활용 한계 및 과제

농업에서 식물의 생장을 촉진하기 위해 사용하고 있는 일반적이면서 가장 검증된 방법이 화학비료의 사용이다[15]. 따라서, 중금속 오염 토양의 식물상복원법에서 식물의 생장을 촉진하기 위해서는 화학비료를 사용하는 것이 신뢰성 있는 방법으로 생각할 수 있으나, 화학비료 사용으로 인한 2차 환경오염문제 뿐 아니라 식물 생장 촉진이 중금속 제거 효율 향상으로 직접 연결되지 않는 경우도 종종 있기 때문에,

PGPB 활용 기술이 도입되고 있다. Phytoremediation에 활용되는 PGPB는 식물 성장 촉진 활성도 중요하지만, 토양 환경에 도입할 시 토성, 기온, 수분함량 등과 같은 무생물인자와 식물 종류, 식물뿌리 및 토양에 토착하고 있는 미생물 등과 같은 생물인자에 영향을 받는 환경 조건에서 생존하고 군락을 형성할 수 있는 능력을 가지고 있어야 한다[127]. 예를 들어, 중금속 오염 토양에서 PGPB는 중금속에 어느 정도 내성을 가지고 있어야 하고, 식물뿌리 근권 혹은 비근권 토양의 토착미생물이 존재하는 조건에서 군집을 형성할 수 있어야 하며, 중금속과 킬레이트를 형성할 수 있는 siderophore를 생산하거나 phytohormone인 IAA를 생산하거나 ACC deaminase 활성을 발휘할 수 있어야 한다. PGPB가 식물 근권토양에서 군집을 형성하지 못하는 경우도 있었다[128]. 또한, 일부 PGPB는 실험실 혹은 온실 실험 조건에서는 식물 성장촉진 활성을 보이거나, 현장 토양 조건에서는 활성이 나타나지 못하는 경우가 있다. 예를 들면, 인산염 가용화 활성을 보유한 PGPB를 실제 토양 환경에 적용한 경우에는 인산염 가용화 활성이 확인되지 않았다[129].

PGPB를 중금속 오염 토양 정화를 위한 식물상복원법에 활용하기 위해서는 무생물인자와 생물인자에 의한 스트레스

환경하에서도 식물 성장과 중금속 제거 효율 향상 효과를 발휘할 수 있는지를 다음과 같은 절차를 통해 엄격하게 검증해야 한다. 첫째, PGPB를 적용할 중금속 오염 토양의 현지 정보를 수집하거나 정보가 불충분할 경우 직접 조사하는 것이 필요하다. 오염 중금속 종류 및 농도, 토성을 비롯한 토양 환경 특성 및 대상 지역의 기후 조건 등에 정보를 수집한다. 둘째, 현지 조건에 적합한 식물종과 PGPB를 선별한다. 기후와 토양 조건에 서식 가능한 식물을 우선적으로 선정하고, 선정된 식물은 물론 기후 및 토성 조건에 적합한 PGPB를 선별한다. 여러 종류의 PGPB로 이루어진 컨소시움으로 제공할 경우, PGPB 균주 사이의 상호관계도 고려해야 한다. 예를 들어 *Bacillus amyloliquefaciens*는 *Pseudomonas* sp.와 같은 다른 PGPB의 성장을 저해하는 것으로 알려져 있다[130]. 셋째, 선별된 PGPB를 현장 적용이 가능한 형태인 미생물 제제로 개발하는 단계이다. PGPB 생존과 활성을 장기간 안정적으로 유지하면서, 보관, 수송 및 토양 적용이 편리한 형태로 PGPB 제제 개발이 필요하다. 일반적으로 액체 제제는 보관성이 떨어지고 무겁기 때문에 수송 단가도 높아지므로, 적절한 담체에 PGPB를 고정화한 고상 미생물 제제로 대량 생산하는 것이 바람직하다[130]. 마지막으로 선정

Table 6. Plant-growing promoting bacteria (PGPB)-assisted phytoremediation of contaminated soils with Cu, Pb or Zn.

Heavy metal conc. (mg/kg)	PGPB	Plant growth-promoting trait	Plant	Effect of PGPB	Ref.
Cu, 35	<i>Microbacterium</i> sp.	- Siderophore - P solubilization - N ₂ fixation - Production of plant growth regulators	<i>Zea mays</i>	- Enhancement of plant growth and yields	[110]
Cu, 687	<i>Paenibacillus mucilaginosus</i>	- Siderophore	<i>Alfalfa</i>	- Increase of Cu uptake	[113]
Pb, 800	<i>Azotobacter chroococum</i> , <i>Rhizobium leguminosarum</i>	- IAA - Lowering pH of soil	<i>Zea mays</i> L.	- Increase of plant growth, biomass and Pb accumulation	[114]
Pb, 300-900	<i>Pseudomonas gessardii</i> BLP141, <i>Pseudomonas fluorescens</i> A506, <i>Pseudomonas fluorescens</i> LMG 2189	- Siderophore - P solubilization - Phytohormones	<i>Helianthus annuus</i> var Hisun-33	- Enhancement of antioxidant activity, proline, plant yield and growth	[115]
Zn, 500	<i>Pseudomonas veronii</i>	- IAA - Lowering pH of soil - Supplement of P and Fe	<i>Sedum alfredii</i>	- Increase of root and shoot biomass - Increase of Zn accumulation in root and shoot	[116]
Zn, 1500	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	- IAA - Siderophore - ACC deaminase	<i>Triticum aestivum</i> L.	- Improvement of N and P uptake - Increase of chlorophyll content - Enhancement of antioxidative enzyme activities	[81]
Zn, 400	<i>Rhizobium leguminosarum</i>	- Metal chelation	<i>Brassica Juncea</i>	- Increase of root growth and Zn accumulation	[117]

IAA, Indole-3-acetic acid; EPS, exopolysaccharide; ACC deaminase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase.

Table 7. Plant-growing promoting bacteria (PGPB)-assisted phytoremediation of the contaminated soils with the mixed heavy metals.

Heavy metal conc. (mg/kg)	PGPB	Plant growth-promoting trait	Plant	Effect of PGPB	Ref.
As, 41 + Hg, 67	<i>Gordonia alkanivorans</i> , <i>Microbacterium paraoxydans</i> , <i>Rhodococcus equi</i> , <i>Cupriavidus necator</i> , <i>Achromobacter denitrificans</i> , <i>Bacillus megaterium</i> , <i>Lysinibacillus macroides</i> , <i>Sporosarcina luteola</i>	- IAA - Siderophore - Mineral solubilization - Proteases - Exopolysaccharides - N ₂ fixation	<i>Brassica juncea</i> , <i>Lupinus albus</i>	- Positive effect on plant biomass	[118]
Cd, 2.2 + Pb, 895	<i>Rhizobium leguminosarum</i> M5, <i>Pseudomonas fluorescens</i> K23, <i>Luteibacter</i> sp., <i>Variovorax</i> sp.	- IAA - Siderophore - P solubilization - HCN	<i>Lathyrus sativus</i>	- Improvement of biomass and nodules number - Enhancement of phytoremediation	[119]
Cd, 5.9 + Zn 736	<i>Bacillus pumilus</i> E2S2, <i>Bacillus</i> sp. E1S2	- IAA - Siderophore - P solubilization - ACC deaminase	<i>Sedum plumbizincicola</i>	- Improvement of metal uptake by plant	[75]
Cd, 0.1 mM + Zn, 1 mM	<i>Pseudomonas</i> sp. 228, <i>Serratia</i> sp. 246, <i>Pseudomonas</i> sp. 262	- IAA - P solubilization - ACC deaminase - N ₂ fixation	<i>Helianthus tuberosus</i>	- Improvement of plant growth - Decrease of metal-induced stress	[120]
Cd, 20 + Cu, 500 + Zn, 500	<i>Pseudomonas</i> sp. LK9	- Siderophore - Biosurfactants - Organic acids	<i>Solanum nigrum</i>	- Improvement of Cd, Cu and Zn uptake	[50]
Cd, 4.9 + Pb 98.5 + Zn, 608.2	Proteobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes/Chlorobi	- IAA - Siderophore - ACC deaminase	<i>Salix Caprea</i>	- Increase of metals uptake	[121]
Cd, 25 + Pb, 200 + Zn, 500	<i>Rahnella</i> sp. JN6	- IAA - Siderophore - P solubilization - ACC deaminase	<i>Brassica napus</i>	- Enhancement of plant growth and Cd, Pb, Zn uptake	[47]
Cd, 50 + Pb, 200 Zn, 200	<i>Enterobacter</i> sp. JYX7, <i>Klebsiella</i> sp. JYX10	- IAA - Siderophore - P solubilization - ACC deaminase	<i>Polygonum pubescens</i>	- Increase of plant dry weight and metal uptake in root and shoot	[122]
Cd, 32 + Cu, 60 + Ni, 150 + Zn, 926	<i>Brevibacterium casei</i> MH8a	- IAA - ACC deaminase	<i>Sinapis alba</i> L.	- Increase of plant biomass - Increase of Cd accumulation	[123]
Cd, 11.7 + Cu, 5.8 + Cr, 128.2 + Zn, 90.6 +	<i>Bacillus gibsonii</i> PM11, <i>Bacillus xiamenensis</i> PM14	- IAA - ACC deaminase - EPS	<i>Linum usitatissimum</i> L.	- Enhancement of plant growth and nutrient availability	[124]
Cd, 20 + Cu, 589 + Pb, 1223 + Zn, 534	<i>Burkholderia</i> sp. D54	- IAA - Siderophore - P solubilization - ACC deaminase	<i>Spirulina Platensis</i>	- Increase of plant growth and metals uptake	[125]
Cd, 46 + Cu, 29 + Pb, 790 + Zn 4131	<i>Burkholderia</i> sp. D54, <i>Burkholderia</i> sp. D416	- IAA - Siderophore - P solubilization - ACC deaminase	<i>Sedum alfredii</i> Hance	- Increase of photosynthetic rate, glutathione and phytochelatin (PC) contents	[126]

IAA, Indole-3-acetic acid; EPS, exopolysaccharide; ACC deaminase, 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase.

식물과 PGPB 제제의 성능을 화분 실험 혹은 온실 실험을 통해 식물 생장율, 중금속 제거 효율 및 PGPB 군집 안정성 등의 성능 평가 연구를 통해 문제점 개선 후, 현장 적용을 통해 PGPB 적용 효능을 검증한다.

PGPB의 모니터링 방법 및 특성

토양 환경 혹은 식물 조직체 내부에서 PGPB 거동은 생물학적 혹은 미생물학적 요소에 의해 좌우된다. 즉, 기후인자(기온, 강수량, 햇빛 강도 등), 토양 특성(토성, pH, 수분함량, 유기물함량 등), 토양 관리(경작 여부, 비료 사용량, 살충제/제초제 사용량 등), 식물 특성(종류, 발달단계, 뿌리삼출물 등), 섭식자 존재(nematodes, protozoa 등), 타 미생물 군집(세균, 곰팡이, 바이러스 등) 등은 PGPB의 거동에 직간접적으로 영향을 미칠 수 있다[127, 131-133]. 예를 들면 PGPB인 *Pseudomonas putida* W619는 멸균한 토양에서는 군집을 잘 형성하였으나, 비 멸균 토양에서는 자생하고 있는 미생물과의 경쟁 때문에 군집 형성이 낮았다[134]. 한편, 특정 미생물 공존 시 PGPB의 생장이 촉진되는 경우도 있는데, 옥수수 근권에 공생 곰팡이인 *Piroformospora indica* 공존 시 PGPB인 *Pseudomonas striata*의 생장은 증가하였다[131]. 밀의 근권 토양에서 *Azospirillum brasilense* Sp245의 군집 형성은 질소 비료 첨가에 의해 촉진되었다[135]. 그런데, 비료 첨가에 의해 PGPB의 군집 형성이 감소되기도 했는데, 근권 토양에서 *Azospirillum* sp.의 군집 형성은 질소 첨가에 의해 저해되었다[136].

PGPB를 접종하는 방법에 따라 토양에서의 PGPB의 군집 형성과 거동에 차이가 생길 수도 있다. PGPB 접종 방법은 식물 종자 코팅법, 모종 뿌리 토양에 PGPB 용액 주입법, PGPB를 고정된 담체에 고정·건조한 후 토양 주입법 등이 있다[137]. PGPB를 식물에 직접 주입하는 경우와 PGPB 고정 담체 주입한 경우 토양에서의 PGPB 생존율을 비교한 결과 17%의 차이가 있었다[138].

중금속 오염 토양의 식물상복원법에 있어 PGPB 활용에 대한 연구는 대부분 실험실 혹은 온실 실험을 통해 식물 생장 특성, 식물조직체내 중금속 축적 및 토양 중 중금속 제거 효율 등을 평가하여 PGPB의 역할을 고찰하였다. 식물복원 과정에서 PGPB를 접종한 이후 식물 조직 내부, 근권 토양 혹은 토양 중에서 PGPB가 시간에 따라 어떻게 군락을 형성하는지, 토양에 자생하고 있는 미생물들에 의해 어떤 영향을 받고 상호관계를 형성하는지 등 식물 조직 내부 혹은 토양에서의 PGPB의 거동을 모니터링하는 것이 필요하다.

Table 7에 PGPB를 모니터링할 수 있는 주요 방법의 특성 및 검출한계를 정리하였다. PGPB 모니터링 방법은 크게 핵산분석법, 면역법 및 기능성 유전자 분석법으로 구분할 수

있다. 핵산분석법은 PCR 비의존 방법과 PCR 의존 방법이 있는데, Fluorescent *in situ* hybridization (FISH)은 PCR 비의존 방법이다[139, 140]. *A. brasilense* Sp245와 Sp7가 밀 조직 내에서 거동을 FISH 방법으로 분석한 결과, Sp245 균주는 식물 세포와 세포 사이 공간인 apoplast에, Sp7 균주는 뿌리 표면인 rhizoplane에 분포하였다[141]. 또한, 사탕수수, 밀 및 포도의 근권에서 PGPB를 검출을 위해 FISH 방법을 활용하였다[142-144].

토양 혹은 식물 시료에서 DNA를 추출하고, PCR로 DNA 시료를 증폭한 후, denaturant gradient gel electrophoresis (DGGE), terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP), amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA) 등과 같은 DNA fingerprinting 방법으로 PGPB를 모니터링 할 수 있다[145]. 유체를 이용한 카드뮴 오염 토양 정화 효율 향상을 위해 접종한 PGPB *Burkholderia* sp. J62와 *P. thivervalensis* Y139를 검출하기 위해 DGGE 방법이 활용되었다[146]. DGGE 밴드로부터 DNA를 추출한 후 염기서열 분석을 통해 접종한 균주를 확인할 수도 있다[147]. 정량적 PCR(quantitative PCR, qPCR)은 PGPB를 정량적으로 모니터링 하기 위해 활용된다[148]. 사탕수수 근권토양에서 *G. diazotrophicus*을, 옥수수의 근권토양에서 *A. brasilense*와 *H. seropedicae*를 정량분석하는데 이 기법이 활용되었다[149-151].

고속염기서열 분석법은 접종한 PGPB를 포함하여 전체 미생물 군집 거동을 모니터링할 수 있는 방법으로 최근에 많이 사용되고 있는 방법이다[95, 152]. 복합 중금속(Cu, Pb, Cd, Zn, As, Mo 등) 오염 토양을 갖(*Brassica juncea*)과 PGPB (*Pseudomonas* sp. S2-3과 *Burkholderia* sp. S6-1)을 이용하여 정화하는 과정에서 Illumina Miseq sequencing 방법으로 복원 시간 경과에 따라 세균의 군집구조를 조사하고 네트워크 분석법으로 PGPB의 역할을 고찰하였다[153]. 접종 1일 후 토양 세균의 군집 구조는 변화하였으나, 10일 후에는 세균 군집 구조의 변화가 그지 많지 않았다. 이는 접종한 PGPB가 토양에서 총 군집 구조를 변화시킬 정도로 증식하지 않는 것을 시사한다. 또한, PGPB 접종은 토양 복원 과정에서 토착 토양 미생물 간의 상호 연관성을 강화시켜 주는 역할을 하였다. Liu *et al.* (2020)은 토끼풀(*Trifolium repens* L.)을 이용하여 카드뮴 오염 토양을 정화하는 동안 근권토양의 미생물 군집 변화와 다양성 변화를 16S rRNA 고속 염기서열분석법(high throughput sequencing technique)과 ecoplate를 활용한 기질이용도 분석법으로 조사하였다[95]. 그 결과, 식물상복원이 진행됨에 따라 근권토양의 생물다양도는 증가하고 *Kaistobacter*와 *Flavisolibacter* 등과 같은 PGPB의 상대적 우점도가 증가하였다.

항원-항체반응 기작을 이용하는 면역적 검출법도 PGPB의

Table 8. Methods for tracking and monitoring of Plant-growing promoting bacteria (PGPB) [127].

	Method	Characteristics	Detection limits	References
Nucleic acid based	Fluorescent in situ hybridization (FISH)	- Probe hybridization - Fluorescence microscopy - <i>In situ</i> detection - Semi-quantitative - Low resolution in small cells	10 ² CFU/mm ²	[140]
	DNA Fingerprinting (DGGE, T-RFLP, ARDRA, etc)	- Inexpensive - Qualitative - Laborious	Not applicable	[145]
	Quantitative PCR (qPCR)	- Qualitative - High number of target sequences - Unaffected by cell size	10 ² CFU/g	[148]
	High-throughput sequencing	- Qualitative and semi-quantitative - Unaffected by cell size - High resolution and sensitivity - Expensive equipment (sequencer)	10 ¹ -10 ² CFU/ml	[95, 152]
Immuno based	Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	- Enzyme reaction - Easy to use - Inexpensive - Semi-quantitative	10 ² CFU/ml	[154]
	Immunofluorescence	- Fluorescence microscopy - <i>In situ</i> detection - Semi-quantitative	Single-cell detection	[155]
	Immunoblot	- Probe hybridization - Qualitative - Time consuming - Laborious - Expensive	Not applicable	[156]
Functional gene	β -galactosidase (<i>lacZ</i>)	- Plate and indigenous bacteria with β -D-galactosidase activity - Culture dependent quantification - <i>In situ</i> detection	10 ³ -10 ⁵ CFU/g	[161, 162]
	β -glucuronidase (<i>gusA</i>)	- Culture dependent quantification - Substrate dependent - <i>In situ</i> detection - Semi-quantitative - Endophytic detection	10 ³ -10 ⁵ CFU/g	[163]
	Bacterial luciferase (<i>lux</i>)	- Culture dependent quantification - Substrate and metabolism dependent - <i>In situ</i> detection - Semi-quantitative - No endogenous and indigenous activity - Inexpensive substrate	10 ³ -10 ⁴ CFU/cm	[164, 165]

DGGE, Denaturant gradient gel electrophoresis; T-RFLP, terminal restriction fragment length polymorphism; ARDRA, amplified ribosomal DNA restriction analysis.

모니터링에 활용되었다[154–156]. 형광 발광 기반 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)를 사용하여 밀의 근권 토양 추출물 시료에서 *A. brasilense*를 검출할 수 있었다[157]. 또한, 이 방법을 이용해서 옥수수, 클로버, 완두콩 등의 시료에서 *R. leguminosarum*을 검출할 수 있었고[158], 고추 뿌리에 접종한 *P. fluorescens* Aur6을 모니터링할 수

있었다[159]. Immunofluorescence 방법을 활용하여 토마토 뿌리에서 *A. brasilense*의 군집 형성 특성이 밝혀졌다[160]. Immunoblot (Western blot) 방법을 이용하여 벼농사 토양에서 3종의 PGPB (*P. fluorescens*, *A. brasilense* 및 *R. Leguminosarum*)을 검출할 수 있었다[156]. 이와 같이 면역법 기반 PGPB 검출방법은 *in situ* 적용이 가능하고 특정 세

균을 검출할 수 있는 특이성이 높은 장점은 있으나, 검출 대상 PGPB 맞춤형 항체 개발을 위해 시간과 경비가 많이 소요되는 문제가 있다[127].

β -galactosidase (*lacZ*), β -glucuronidase (*gusA*) 및 Bacterial luciferase (*lux*) 등과 같은 기능성 유전자가 포함된 plasmid를 형질전환기술을 통해 PGPB에 삽입한 후, 토양 혹은 식물 조직체로부터 이들 유전자 발현을 검출하는 방법으로 PGPB를 모니터링 하는 연구가 수행되었다[161-165]. 예를 들면 대두의 근권토양에서 인산염 가용화 활성을 지닌 *Pseudomonas striata* str.을 거동을 모니터링 하기 위해 *lacZ* 유전자를 활용하였다[161]. 붉은 토끼풀(*Trifolium pretense* L.)의 근권 토양에서 *R. leguminosarum*을 모니터링 하기 위해 *gusA* 유전자를 활용하였다[166]. Wang *et al.* (2004)은 *gusA*와 *luxAB* 유전자를 이용하여 목화 근권 토양에서 *P. fluorescens* CS85의 거동 특성을 연구하였다[167]. 그런데, 형질전환된 PGPB를 토양 환경에 도입하면 기능성 유전자가 있는 plasmid가 탈락되거나, 다른 미생물 체내로 유전자 이동(gene transfer) 현상이 일어날 수 있다[127, 168]. 따라서, 이러한 방법은 실험실이나 온실실험 등과 같은 제한된 조건만 사용 가능하고, 실제 현장 토양에서 PGPB를 모니터링 하기에는 많은 한계가 있다[127].

Table 7에 제시한 바와 같이 PGPB 모니터링 하기 위해 다양한 방법이 개발되었지만, 토양 혹은 식물 시료 존재시 간섭효과, 측정값 오류 및 재현성이 낮은 문제가 있기 때문에 실제 현장 토양 조건에서 활용하기에는 많은 어려움이 있다[127]. 따라서, 식물생장촉진 활성을 보이는 기능성 유전자인 질소 고정 유전자(*nifH*) [169], 인산염 가용화 유전자(pyrroloquinoline quinone, *pqqE*) [170], IAA 생산 유전자(*ipdC*) [171], ACC deaminase(*acdS*) [172]을 검출하는 방법을 기존의 PGPB 모니터링 방법과 함께 사용하는 것을 고려해 볼 수 있다. 아직까지는 이들 유전자 정보에 대한 데이터베이스가 적기 때문에 이러한 기능성 유전자를 이용하여 PGPB를 선별하기에는 제한이 많지만[173], 향후 관련 정보가 축적된다면 이들 기능성 유전자 추적 방법은 PGPB의 거동을 해석하는데 유용한 방법이 될 것으로 기대된다.

결론

중금속 오염 토양을 식물을 이용하여 정화하는 식물상복원법에서 PGPB의 활용 효과는 식물생장촉진과 중금속 제거 효율 향상 측면에서는 많은 연구결과가 축적되고 있다. 중금속 오염 토양은 여러 종류의 중금속이 혼재되어 있을 뿐만 아니라, 유류 및 다환방향족탄화수소 등과 같이 유기성 물질과 함께 존재하는 경우도 많다. PGPB은 이러한 유기성 오염물질을 생분해 할 수 있으므로, 중금속-유기물 복합 오염

토양의 식물상 복원 과정에서 PGPB의 역할을 보다 더 중요하게 된다. 따라서, 앞으로 식물과 PGPB의 시너지 효과를 이용한 중금속-유기물 복합 오염토양 정화 기술에 관한 활발한 연구를 통한 기술 혁신이 필요하다.

실제 오염 환경 조건에서 토양 혹은 식물 조직 내에서 PGPB의 거동에 관한 정보는 그리 많이 축적되어 있지 않은데, 이는 현재까지 개발된 PGPB의 모니터링 방법은 현장 적용이 곤란하거나, 결과의 신뢰성이 낮거나, 시간이 많이 걸리고, 비용이 너무 많이 소요되기 때문이다. 따라서, 실제 현장에서 적용 가능한 빠르고 쉽고 저렴한 방법의 개발 및 확립에 관한 연구 개발이 요구된다. 한편, 식물과 PGPB 사이의 상호작용, PGPB와 토양 자생미생물 군집 사이의 상호작용에 대한 정보가 부족하기 때문에, PGPB 거동을 모니터링 한 결과를 해석함에 많은 제약이 발생한다. 즉, 중금속 오염 토양의 식물상복원법에서 PGPB를 보다 효과적으로 활용하기 위해서는 현장에서 PGPB의 거동과 식물-PGPB-자생미생물 군집에 미치는 영향 또는 상호 작용에 대한 이해가 필요하다. 따라서, metagenomics, metatranscriptomics 및 proteomics 등과 같은 오믹스 기반 연구가 활발히 진행되어야 한다.

요약

도시화 및 산업화로 인해 발생된 중금속으로 오염된 토양의 정화는 인간의 건강 뿐 아니라 지구생태계의 지속성을 위해 매우 중요하다. 중금속 오염 토양 정화 기술 중 식물상복원법은 타 방법에 비해 처리 단가가 저렴하고, 토양 비옥도 및 생물 다양성이 영향을 덜 받는 환경친화적인 방법이다. 이러한 식물상복원법에 식물생장촉진세균(plant growth promoting bacteria, PGPB)을 도입하여 중금속 독성 하에서 식물 생장을 촉진하고 중금속 정화 효율을 향상시킬 수 있다. 본 논문에서는 주요 토양오염물인 중금속의 발생원, 미생물·식물·인간에 미치는 중금속 영향 및 PGPB의 식물생장촉진 기작을 정리하였다. 중금속 오염 토양 정화를 위하여 식물상복원에 PGPB의 활용에 관한 최근 10년 동안의 연구 동향을 분석하였다. 또한, PGPB의 실제 적용시 중금속 제거 효율에 미치는 다양한 환경 인자와 PGPB의 접종 방법의 영향을 고찰하였다. PGPB 활용 식물상복원 기술의 혁신을 위해서는 실제 현장에서 PGPB의 거동과 식물-PGPB-자생미생물 사이의 상호작용에 대한 이해가 필요하다.

Acknowledgments

This research was supported by the Basic Science Research Pro-

gram through the National Research Foundation of Korea (NRF) funded by the Ministry of Science and ICT (NRF-2019R1A2C2006701).

Conflict of Interest

The authors have no financial conflicts of interest to declare.

References

- Shah V, Daverey A. 2020. Phytoremediation: A multidisciplinary approach to clean up heavy metal contaminated soil. *Environ. Technol. Inno.* **18**: 100774.
- Zeng P, Guo Z, Cao X, Xiao X, Liu Y, Shi L. 2018. Phytostabilization potential of ornamental plants grown in soil contaminated with cadmium. *Int. J. Phytoremediation* **20**: 311-320.
- Ali H, Khan E, Ilahi I. 2019. Environmental chemistry and ecotoxicology of hazardous heavy metals: Environmental persistence, toxicity, and bioaccumulation. *J. Chem.* **2019**: 6730305.
- Mao X, Jiang R, Xiao W, Yu J. 2015. Use of surfactants for the remediation of contaminated soils: A review. *J. Hazard. Mater.* **285**: 419-435.
- Ye S, Zeng G, Wu H, Zhang C, Dai J, Liang J, et al. 2017. Biological technologies for the remediation of co-contaminated soil. *Crit. Rev. Biotechnol.* **37**: 1062-1076.
- Hamid Y, Tang L, Irfan M, Cao X, Hussain B, Zahir M, et al. 2019. An explanation of soil amendments to reduce cadmium phytoavailability and transfer to food chain. *Sci. Total Environ.* **660**: 80-96.
- Rodrı ID, Dary M, Palomares AJ. 2008. Toxic effects of arsenic on *Sinorhizobium - Medicago sativa* symbiotic interaction. *Environ. Poll.* **54**: 203-211.
- Chen C, Chiou I. 2008. Remediation of heavy metal-contaminated farm soil using turnover and attenuation method guided with a sustainable management framework. *Environ. Eng. Sci.* **25**: 11-32.
- Inoue Y, Katayama A. 2011. Two-scale evaluation of remediation technologies for a contaminated site by applying economic input-output life cycle assessment: Risk-cost, risk-energy consumption and risk-CO₂ emission. *J. Hazard. Mater.* **192**: 1234-1242.
- Day SJ, Morse GK, Lester JN. 1997. The cost effectiveness of contaminated land remediation strategies. *Sci. Total Environ.* **201**: 125-136.
- Khalid S, Shahid M, Niazi NK, Murtaza B, Bibi I, Dumat C. 2017. A comparison of technologies for remediation of heavy metal contaminated soils. *J. Geochem. Explor.* **182**: 247-268.
- Liu L, Li W, Song W, Guo M. 2018. Remediation techniques for heavy metal-contaminated soils: Principles and applicability. *Sci. Total Environ.* **633**: 206-219.
- Wan X, Lei M, Chen T. 2016. Cost-benefit calculation of phytoremediation technology for heavy-metal-contaminated soil. *Sci. Total Environ.* **563-564**: 796-802.
- Megharaj M, Naidu R. 2017. Soil and brownfield bioremediation. *Microb. Biotechnol.* **10**: 1244-1249.
- Guo J, Muhammad H, Lv X, Wei T, Ren X, Jia H, et al. 2020. Prospects and applications of plant growth promoting rhizobacteria to mitigate soil metal contamination: A review. *Chemosphere* **246**: 125823.
- Ahemad M. 2019. Remediation of metalliferous soils through the heavy metal resistant plant growth promoting bacteria: Paradigms and prospects. *Arab. J. Chem.* **12**: 1365-1377.
- Asad SA, Farooq M, Afzal A, West H. 2019. Integrated phytobial heavy metal remediation strategies for a sustainable clean environment - A review. *Chemosphere* **217**: 925-941.
- Rascio N, Navari-Izzo F. 2011. Heavy metal hyperaccumulating plants: how and why do they do it? And what makes them so interesting? *Plant Sci.* **180**: 169-181.
- Baby R, Saifullah B, Hussein MZ. 2019. Carbon nanomaterials for the treatment of heavy metal-contaminated water and environmental remediation. *Nanoscale Res. Lett.* **14**: 341.
- Kumar V, Singh J, Kumar P. 2019. Heavy metals accumulation in crop plants: Sources, response mechanisms, stress tolerance and their effects. pp. 38-59. *In: Contaminants in agriculture and environment: Health risks and remediation.*
- Breton J, Daniel C, Vignal C, Body-Malapel M, Garat A, Plé C, Foligné B. 2016. Does oral exposure to cadmium and lead mediate susceptibility to colitis? The dark-and-bright sides of heavy metals in gut ecology. *Sci. Rep.* **6**: 19200.
- Lal S, Ratna S, Said OB, Kumar R. 2018. Biosurfactant and exopolysaccharide-assisted rhizobacterial technique for the remediation of heavy metal contaminated soil: An advancement in metal phytoremediation technology. *Environ. Technol. Inno.* **10**: 243-263.
- Singh PC, Srivastava S, Shukla D, Bist V, Tripathi P, Anand V, et al. 2018. Mycoremediation mechanisms for heavy metal resistance/tolerance in plants. *In: Prasad R. (eds) Mycoremediation and environmental sustainability.* Fungal Biology. Springer, Cham. pp. 351-381. https://doi.org/10.1007/978-3-319-77386-5_14.
- Vashishth A, Tehri N, Kumar P. 2019. The potential of naturally occurring bacteria for the bioremediation of toxic metals pollution. *Braz. J. Biol. Sci.* **6**: 39-51.
- Mudgal V, Madaan N, Mudgal A, Singh RB, Mishra S. 2010. Effect of toxic metals on human health. *Open Nutraceuticals J.* **3**: 94-99.
- Alloway BJ. 1990. Heavy Metals in Soils. Blackie Academic and Professional/Chapman and Hall.
- Salt D, Blaylock M, Kumar N, Dushenkov V, Ensley BD, Chet I, et al. 1995. Phytoremediation: A Novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants. *Nat. Biotechnol.* **13**: 468-474.
- Hashim MA, Mukhopadhyay S, Sahu JN, Sengupta B. 2011. Remediation technologies for heavy metal contaminated groundwater. *J. Environ. Manag.* **92**: 2355-2388.
- Shakya AK, Ghosh PK. 2019. Stability against arsenic leaching

- from biogenic arsenosulphides generated under reduced environment. *J. Cleaner Prod.* **208**: 1557-1562.
30. Ahemad M. 2015. Enhancing phytoremediation of chromium-stressed soils through plant-growth-promoting bacteria. *J. Genet. Eng. Biotechnol.* **13**: 51-58.
 31. Yan A, Wang Y, Tan SN, Yusof MLM, Ghosh S, Chen Z. 2020. Phytoremediation: A promising approach for revegetation of heavy metal-polluted land. *Front. Plant Sci.* **11**: 359.
 32. Dalvi AA, Bhalerao SA. 2013. Response of plants towards heavy metal toxicity: an overview of avoidance, tolerance and uptake mechanism. *Ann. Plant Sci.* **2**: 362-368.
 33. Subhashini V, Swamy AVVS. 2013. Phytoremediation of Pb and Ni contaminated soils using *Catharanthus roseus* (L.). *Univers. J. Environ. Res. Technol.* **3**: 465-472.
 34. Rigoletto M, Calza P, Gaggero E, Malandrino M, Fabbri D. 2020. Bioremediation methods for the recovery of lead-contaminated Soils: A Review. *Appl. Sci.* **10**: 3528.
 35. Yadav BK, Siebel MA, van Bruggen JJA. 2011. Rhizofiltration of a heavy metal (lead) containing wastewater using the wetland plant *Carex pendula*. *Clean-Soil Air Water* **39**: 467-474.
 36. Ali H, Khan E, Sajad MA. 2013. Phytoremediation of heavy metals-concepts and applications. *Chemosphere* **91**: 869-881.
 37. Lago-Vila M, Arenas-Lago D, Rodriguez-Seijo A, Andrade ML, Vega FA. 2019. Ability of *Cytisus scoparius* for phytoremediation of soils from a Pb/Zn mine: Assessment of metal bioavailability and bioaccumulation. *J. Environ. Manag.* **235**: 152-160.
 38. Souza RD, Ambrosini A, Passaglia LM. 2015. Plant growth-promoting bacteria as inoculants in agricultural soils. *Genet. Mol. Biol.* **38**: 401-419.
 39. Lin SY, Hameed A, Liu YC, Hsu YH, Lai WA, Shen FT, et al. 2015. *Azospirillum soli* sp. nov., a nitrogen-fixing species isolated from agricultural soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **65**: 4601-4607.
 40. Xiao-Hui FAN, Zhang SA, Xiao-Dan MO, Yun-Cong LI, Yu-Qing FU, Zhi-Guang LIU. 2017. Effect of PGPR and N source on plant growth and N, P uptake by tomato grown in calcareous soils. *Pedosphere* **27**: 1027-1036.
 41. Xiao Y, Wang X, Chen W, Huang Q. 2017. Isolation and identification of three potassium-solubilizing bacteria from rape rhizospheric soil and their effects on ryegrass. *Geomicrobiol. J.* **34**: 873-880.
 42. Mumtaz MZ, Ahmad M, Jamil M, Hussain T. 2017. Zinc solubilizing *Bacillus* spp. potential candidates for biofortification in maize. *Microbiol. Res.* **202**: 51-60.
 43. Gontia-Mishra I, Sapre S, Tiwari S. 2017. Zinc solubilizing bacteria from the rhizosphere of rice as prospective modulator of zinc biofortification in rice. *Rhizosphere* **3**: 185-190.
 44. Kang SM, Waqas M, Shahzad R, You YH, Asaf S, Khan MA, et al. 2017. Isolation and characterization of a novel silicate-solubilizing bacterial strain *Burkholderia eburnea* CS4-2 that promotes growth of japonica rice (*Oryza sativa* L. cv. Dongjin). *Soil Sci. Plant Nutr.* **63**: 233-241.
 45. Sharma SB, Sayyed RZ, Trivedi MH, Gobi TA. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus* **2**: 587.
 46. Babu AG, Kim JD, Oh BT. 2013. Enhancement of heavy metal phytoremediation by *Alnus firma* with endophytic *Bacillus thuringiensis* GDB-1. *J. Hazard. Mater.* **250**: 477-483.
 47. He H, Ye Z, Yang D, Yan J, Xiao L, Zhong T, et al. 2013. Characterization of endophytic *Rahnella* sp. JN6 from *Polygonum pubescens* and its potential in promoting growth and Cd, Pb, Zn uptake by *Brassica napus*. *Chemosphere* **90**: 1960-1965.
 48. Jiang C, Sheng X, Qian M, Wang Q. 2008. Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil. *Chemosphere* **72**: 157-164.
 49. Etesami H, Maheshwari DK. 2018. Use of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) with multiple plant growth promoting traits in stress agriculture: Action mechanisms and future prospects. *Ecotox. Environ. Safe.* **156**: 225-246.
 50. Chen L, Luo S, Li X, Wan Y, Chen J, Liu C. 2014. Interaction of Cd hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and functional endophyte *Pseudomonas* sp. Lk9 on soil heavy metals uptake. *Soil Biol. Biochem.* **68**: 300-308.
 51. Tiwari S, Singh SN, Garg SK. 2012. Stimulated phytoextraction of metals from fly ash by microbial interventions. *Environ. Technol.* **33**: 2405-2413.
 52. Saleem M, Arshad M, Hussain S, Bhatti AS. 2007. Perspective of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) containing ACC deaminase in stress agriculture. *J. Indian Microbiol. Biotechnol.* **34**: 635-648.
 53. Kang BG, Kim WT, Yun HS, Chang SC. 2010. Use of plant growth-promoting rhizobacteria to control stress responses of plant roots. *Plant Biotechnol. Rep.* **4**: 179-183.
 54. Arshad M, Saleem M, Hussain S. 2007. Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. *Trends Biotechnol.* **25**: 356-362.
 55. Ahemad M, Kibret M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *J. King Saud Univ. Sci.* **26**: 1-20.
 56. Glick BR. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiol. Res.* **169**: 30-39.
 57. Belimov AA, Dodd IC, Hontzeas N, Theobald JC, Safronova VI, Davies WJ. 2009. Rhizosphere bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signalling. *New Phytol.* **181**: 413-423.
 58. Okazaki S, Nukui N, Sugawara M, Minamisawa K. 2004. Rhizobial strategies to enhance symbiotic interactions: rhizobitoxine and 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase. *Microbes Environ.* **19**: 99-111.
 59. Egamberdiyeva D. 2007. The effect of plant growth promoting bacteria on growth and nutrient uptake of maize in two different soils. *Appl. Soil Ecol.* **36**: 184-189.
 60. Kang SM, Khan AL, Waqas M, You YH, Kim JH, Kim JG, et al.

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.
61. Kang SM, Radhakrishnan R, Khan AL, Kim MJ, Park JM, Kim BR, et al. 2014. Gibberellin secreting rhizobacterium, *Pseudomonas putida* H-2-3 modulates the hormonal and stress physiology of soybean to improve the plant growth under saline and drought conditions. *Plant Physiol. Biochem.* **84**: 115-124.
62. Liu F, Xing S, Ma H, Du Z, Ma B. 2013. Cytokinin-producing, plant growth-promoting rhizobacteria that confer resistance to drought stress in *Platycladus orientalis* container seedlings. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **97**: 9155-9164.
63. Rajkumar M, Ae N, Prasad MNV, Freitas H. 2010. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends Biotechnol.* **28**: 142-149.
64. Radzki W, Mañero FJG, Algar E, García JAL, García-Villaraco A, Solano BR. 2013. Bacterial siderophores efficiently provide iron to iron-starved tomato plants in hydroponics culture. *Antonie Leeuwenhoek* **104**: 321-330.
65. Ghavami N, Alikhani HA, Pourbabaei AA, Besharati H. 2017. Effects of two new siderophore-producing rhizobacteria on growth and iron content of maize and canola plants. *J. Plant Nutr.* **40**: 736-746.
66. Wei X, Fang L, Cai P, Huang Q, Chen H, Liang W, et al. 2011. Influence of extracellular polymeric substances (EPS) on Cd adsorption by bacteria. *Environ. Pollut.* **159**: 1369-1374.
67. Rolli E, Marasco R, Vigani G, Ettoumi B, Mapelli F, Deangelis ML, et al. 2015. Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. *Environ. Microbiol.* **17**: 316-331.
68. Ashraf M, Hasnain S, Berge O, Mahmood T. 2004. Inoculating wheat seedlings with exopolysaccharide-producing bacteria restricts sodium uptake and stimulates plant growth under salt stress. *Biol. Fertil. Soils* **40**: 157-162.
69. Chen WM, Wu CH, James EK, Chang JS. 2008. Metal biosorption capability of *Cupriavidus taiwanensis* and its effects on heavy metal removal by nodulated *Mimosa pudica*. *J. Hazard. Mater.* **151**: 364-371.
70. Pacwa-Płociniczak M, Plaza GA, Piotrowska-Seget Z, Cameotra SS. 2011. Environmental applications of biosurfactants: recent advances. *Int. J. Mol. Sci.* **12**: 633-654.
71. Juwarkar AA, Nair A, Dubey KV, Singh SK, Devotta S. 2007. Biosurfactant technology for remediation of cadmium and lead contaminated soils. *Chemosphere* **68**: 1996-2002.
72. Venkatesh NM, Vedaraman N. 2012. Remediation of soil contaminated with copper using rhamnolipids produced from *Pseudomonas aeruginosa* MTCC 2297 using waste frying rice bran oil. *Ann. Microbiol.* **62**: 85-91.
73. Pacheco GJ, Ciapina EMP, Gomes EdB, Pereira Junior N. 2010. Biosurfactant production by *Rhodococcus erythropolis* and its application to oil removal. *Braz. J. Microbiol.* **41**: 685-693.
74. Moreira H, Marques APGC, Franco AR, Rangel AOSS, Castro PML. 2014. Phytomanagement of Cd-contaminated soils using maize (*Zea mays* L.) assisted by plant growth-promoting rhizobacteria. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **21**: 9742-9753.
75. Ma Y, Oliveira RS, Wu L, Luo Y, Rajkumar M, Rocha I, et al. 2015. Inoculation with metal-mobilizing plant-growth-promoting rhizobacterium *Bacillus* sp. SC2b and its role in rhizoremediation. *J. Toxicol. Environ. Health Part A* **78**: 931-944.
76. Azcón R, del Carmen Perálvarez M, Roldán A, Barea JM. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi, *Bacillus cereus*, and *Candida parapsilosis* from a multicontaminated soil alleviate metal toxicity in plants. *Microb. Ecol.* **59**: 668-677.
77. Oves M, Khan MS, Zaidi A. 2013. Chromium reducing and plant growth promoting novel strain *Pseudomonas aeruginosa* OSG41 enhance chickpea growth in chromium amended soils. *Eur. J. Soil Biol.* **56**: 72-83.
78. Kim K, Jang YJ, Lee SM, Oh BT, Chae JC, Lee KJ. 2014. Alleviation of salt stress by *Enterobacter* sp. EJ01 in tomato and Arabidopsis is accompanied by upregulation of conserved salinity responsive factors in plants. *Mol. Cells* **37**: 109.
79. Damodaran T, Rai RB, Jha SK, Kannan R, Pandey BK, Sah V, et al. 2014. Rhizosphere and endophytic bacteria for induction of salt tolerance in gladiolus grown in sodic soils. *J. Plant Interact.* **9**: 577-584.
80. Timmusk S, El-Daim IAA, Copolovici L, Tanilas T, Kännaste A, Behers L, et al. 2014. Drought-tolerance of wheat improved by rhizosphere bacteria from harsh environments: enhanced biomass production and reduced emissions of stress volatiles. *PLoS One* **9**: e96086.
81. Islam F, Yasmeen T, Ali Q, Ali S, Arif MS, Hussain S, et al. 2014. Influence of *Pseudomonas aeruginosa* as PGPR on oxidative stress tolerance in wheat under Zn stress. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **104**: 285-293.
82. Abbas G, Murtaza B, Bibi I, Shahid M, Niazi NK, Khan MI, et al. 2018. Arsenic uptake, toxicity, detoxification, and speciation in plants: Physiological, biochemical, and molecular aspects. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **15**: 59.
83. Marinho BA, Cristóvão RO, Boaventura RAR, Vilar VJP. 2019. As (III) and Cr (VI) oxyanion removal from water by advanced oxidation/reduction processes - a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **26**: 2203-2227.
84. Ghosh P, Rathinasabapathi B, Ma LQ. 2011. Arsenic-resistant bacteria solubilized arsenic in the growth media and increased growth of arsenic hyperaccumulator *Pteris Vittata* L.. *Bioresour. Technol.* **102**: 8756-8761.
85. Wang Q, Xiong D, Zhao P, Yu X, Tu B, Wang G. 2011. Effect of applying an arsenic-resistant and plant growth-promoting rhizobacterium to enhance soil arsenic phytoremediation by *Populus Deltoides* Lh05-17. *J. Appl. Microbiol.* **111**: 1065-1074.
86. Srivastava S, Verma PC, Chaudhry V, Singh N, Abhilash PC, Kumar KV, et al. 2013. Influence of inoculation of arsenic-resistant *Staphylococcus arlettae* on growth and arsenic uptake in *Brassica Juncea* (L.) Czern. Var. R-46. *J. Hard Mater.* **262**: 1039-1047.

87. Srivastava S, Singh N. 2014. Mitigation approach of arsenic toxicity in chickpea grown in arsenic amended soil with arsenic tolerant plant growth promoting *acinetobacter* sp. *Ecol. Eng.* **70**: 146-153.
88. Pandey N, Bhatt R. 2016. Role of soil associated exiguobacterium in reducing arsenic toxicity and promoting plant growth in vigna radiata. *Eur. J. Soil Biol.* **75**: 142-150.
89. Pandya M, Rajput M, Rajkumar S. 2015. Exploring plant growth promoting potential of non rhizobial root nodules endophytes of *Vigna radiata*. *Microbiology* **84**: 80-89.
90. Das S, Jean JS, Chou ML, Rathod J, Liu CC. 2016. Arsenite-oxidizing bacteria exhibiting plant growth promoting traits isolated from the rhizosphere of *Oryza Sativa* L.: Implications for mitigation of arsenic contamination in paddies. *J. Hard Mater.* **302**: 10-18.
91. Mallick I, Bhattacharyya C, Mukherji S, Dey D, Sarkar SC, Mukhopadhyay UK, et al. 2018. Effective rhizoinoculation and biofilm formation by arsenic immobilizing halophilic plant growth promoting bacteria (PGPB) isolated from mangrove rhizosphere: A step towards arsenic rhizoremediation. *Sci. Total Environ.* **610**: 1239-1250.
92. Xiao AW, Li Z, Li WC, Ye ZH. 2020. The effect of plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) on arsenic accumulation and the growth of rice plants (*Oryza sativa* L.). *Chemosphere* **242**: 125136.
93. Guarino F, Miranda A, Castiglione S, Cicatelli A. 2020. Arsenic phytovolatilization and epigenetic modifications in *Arundo donax* L. assisted by a PGPR consortium. *Chemosphere* **251**: 126310.
94. Yang C, Ho YN, Inoue C, Chien MF. 2020. Long-term effectiveness of microbe-assisted arsenic phytoremediation by *Pteris vittata* in field trials. *Sci. Total Environ.* **740**: 140137.
95. Liu C, Lin H, Li B, Dong Y, Yin T. 2020. Responses of microbial communities and metabolic activities in the rhizosphere during phytoremediation of Cd-contaminated soil. *Ecotox. Environ. Safe.* **202**: 110958.
96. Moreno JL, Hernandez T, Perez A, Garcia C. 2002. Toxicity of cadmium to soil microbial activity: effect of sewage sludge addition to soil on the ecological dose. *Appl. Soil Ecol.* **21**: 149-158.
97. Prapagdee B, Chanprasert M, Mongkolsuk S. 2013. Bioaugmentation with cadmium-resistant plant growth-promoting rhizobacteria to assist cadmium phytoextraction by *Helianthus annuus*. *Chemosphere* **92**: 659-666.
98. Guo J, Chi J. 2014. Effect of Cd-tolerant plant growth-promoting rhizobium on plant growth and Cd uptake by *Lolium multiflorum* Lam. and *Glycine max* (L.) Merr. in Cd-contaminated soil. *Plant Soil* **375**: 205-214.
99. Yuan M, He H, Xiao L, Zhong T, Liu H, Li S, et al. 2014. Enhancement of Cd phytoextraction by two *Amaranthus* species with endophytic *Rahnella* sp. JN27. *Chemosphere* **103**: 99-104.
100. Begum N, Afzal S, Zhao H, Lou L, Cai Q. 2018. Shoot endophytic plant growth-promoting bacteria reduce cadmium toxicity and enhance switchgrass (*Panicum Virgatum* L.) biomass. *Acta Physiol. Plant.* **40**: 170.
101. Liang X, He CQ, Ni G, Tang GE, Chen XP, Lei YR. 2014. Growth and Cd accumulation of *Orychopragmus violaceus* as affected by inoculation of Cd tolerant bacterial strains. *Pedosphere* **24**: 322-329.
102. Ahmad I, Javed M, Hafiz A, Asghar N. 2015. Differential effects of plant growth promoting rhizobacteria on maize growth and cadmium uptake. *J. Plant Growth Regul.* **32**: 303-315.
103. Kamran MA, Syed JH. 2015. Effect of plant growth-promoting rhizobacteria inoculation on cadmium (Cd) uptake by *Eruca Sativa*. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **22**: 9275-9283.
104. Pramanik K, Mitra S, Sarkar A, Maiti TK. 2018. Alleviation of phytotoxic effects of cadmium on rice seedlings by cadmium resistant PGPR strain *Enterobacter aerogenes* MCC 3092. *J. Hazard. Mater.* **351**: 317-329.
105. Kumari M, Thakur IS. 2018. Biochemical and proteomic characterization of *Paenibacillus* sp. ISTP10 for its role in plant growth promotion and in rhizostabilization of cadmium. *Bioresour. Technol. Reports* **3**: 59-66.
106. Wani PA, Khan MS. 2010. Bacillus species enhance growth parameters of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in chromium stressed soils. *Food Chem. Toxicol.* **48**: 3262-3267.
107. Khan N, Mishra A, Chauhan PS, Sharma YK, Nautiyal CS. 2012. *Paenibacillus lentimorbus* enhances growth of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in chromium-amended soil. *Antonie Leeuwenhoek* **101**: 453-459.
108. Hassan W, Bashir S, Ali F, Ijaz M, Hussain M, David J. 2016. Role of ACC deaminase and/or nitrogen fixing rhizobacteria in growth promotion of wheat (*Triticum aestivum* L.) under cadmium pollution. *Environ. Earth Sci.* **75**: 1-14.
109. Rosariastuti R, Prijambada ID, Ngadiman, Prawidyarini GS, Putri AR. 2013. Isolation and identification of plant growth promoting and chromium uptake enhancing bacteria from soil contaminated by leather tanning industrial waste. *J. Basic Appl. Sci.* **9**: 243-251.
110. Soni SK, Singh R, Awasthi A, Kalra A. 2014. A Cr (Vi)-reducing *Microbacterium* Sp. Strain suc140 enhances growth and yield of *Zea mays* in Cr (Vi) amended soil through reduced chromium toxicity and improves colonization of arbuscular mycorrhizal fungi. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **21**: 1971-1979.
111. Danish S, Zafar-ul-Hye M. 2019. Co-application of ACC-deaminase producing PGPR and timber-waste biochar improves pigments formation, growth and yield of wheat under drought stress. *Sci. Rep.* **9**: 5999.
112. Maqbool Z, Asghar HN, Shahzad T, Hussain S, Riaz M, Ali S, et al. 2015. Isolating, screening and applying chromium reducing bacteria to promote growth and yield of okra (*Hibiscus esculentus* L.) in chromium contaminated soils. *Ecotox. Environ. Safe.* **114**: 343-349.
113. Ju W, Liu L, Jin X, Duan C, Cui Y, Wang J, et al. 2020. Co-inoculation effect of plant-growth-promoting rhizobacteria and rhizobium on EDDS assisted phytoremediation of Cu contaminated

- soils. *Chemosphere* **254**: 126724.
114. Hadi F, Bano A. 2010. Effect of diazotrophs (*Rhizobium* and *Azobacter*) on growth of maize (*Zea mays* L.) and accumulation of Lead (Pb) in different plant parts. *Pak. J. Bot.* **42**: 4363-4370.
 115. Saleem M, Asghar HN, Zahir ZA, Shahid N. 2018. Impact of lead tolerant plant growth promoting rhizobacteria on growth, physiology, antioxidant activities, yield and lead content in sunflower in lead contaminated soil. *Chemosphere* **195**: 606-614.
 116. Long XX, Chen XM, Wong JWC, Wei ZB, Wu QT. 2013. Feasibility of enhanced phytoextraction of Zn contaminated soil with Zn mobilizing and plant growth promoting endophytic bacteria. *T. Nonferr. Metal Soc.* **23**: 2389-2396.
 117. Adediran GA, Ngwenya BT, Mosselmans JFW, Heal KV, Harvie BA. 2015. Mechanism behind bacteria induced plant growth promotion and Zn accumulation in *Brassica juncea*. *J. Hazard. Mater.* **283**: 490-499.
 118. Franchi E, Rolli E, Marasco R, Agazzi G, Borin S, Cosmina P, et al. 2017. Phytoremediation of a multi contaminated soil: Mercury and arsenic phytoextraction assisted by mobilizing agent and plant growth promoting bacteria. *J. Soils Sediments* **17**: 1224-1236.
 119. Abdelkrim S, Jebara SH, Saadani O, Abid G, Taamalli W, Zemni H, et al. 2020. In situ effects of *Lathyrus sativus*- PGPR to remediate and restore quality and fertility of Pb and Cd polluted soils. *Ecotox. Environ. Safe.* **192**: 110260.
 120. Montalbán B, Thijs S, Lobo MC, Weyens N, Ameloo M, Vangronsveld J, et al. 2017. Cultivar and metal-specific effects of endophytic bacteria in *Helianthus tuberosus* exposed to Cd and Zn. *Int. J. Mol. Sci.* **18**: 2026.
 121. Kuffner M, De Maria S, Puschenreiter M, Fallmann K, Wieshammer G, Gorfer M, et al. 2010. Culturable bacteria from Zn-and Cd-accumulating *Salix caprea* with differential effects on plant growth and heavy metal availability. *J. Appl. Microbiol.* **108**: 1471-1484.
 122. Jing YX, Yan JL, He HD, Yang DJ, Xiao L, Zhong T, et al. 2014. Characterization of bacteria in the rhizosphere soils of *Polygonum pubescens* and their potential in promoting growth and Cd Pb, Zn uptake by *Brassica napus*. *Int. J. Phytorem.* **16**: 321-333.
 123. Płociniczak T, Sinkkonen A, Romantschuk M, Sułowicz S, Piotrowska-Seget Z. 2016. Rhizospheric bacterial strain *Brevibacterium casei* MH8a colonizes plant tissues and enhances Cd, Zn, Cu phytoextraction by white mustard. *Front. Plant Sci.* **7**: 1-10.
 124. Zainab N, Amna Din BU, Javed MT, Afridi MS, Mukhtar T, Kamran MA, et al. 2020. Deciphering metal toxicity responses of flax (*Linum usitatissimum* L.) with exopolysaccharide and ACC-deaminase producing bacteria in industrially contaminated soils. *Plant Physiol. Biochem.* **152**: 90-99.
 125. Guo J, Tang S, Ju X, Ding Y, Liao S, Song N. 2011. Effects of inoculation of a plant growth promoting rhizobacterium *Burkholderia* Sp. D54 on plant growth and metal uptake by a hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance grown on multiple metal contaminated soil. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **27**: 2835-2844.
 126. Guo J, Lv X, Jia H, Hua L, Ren X, Muhammad H, et al. 2019. Effects of EDTA and plant growth-promoting rhizobacteria on plant growth and heavy metal uptake of hyperaccumulator *Sedum alfredii* Hance. *J. Environ. Sci.* **88**: 361-369.
 127. Rilling JI, Acuña JJ, Nannipieri P, Cassane F, Maruyama F, Jorquera MA. 2019. Current opinion and perspectives on the methods for tracking and monitoring plant growth-promoting bacteria. *Soil Biol. Biochem.* **130**: 205-219.
 128. Compant S, Clément C, Sessitsch A. 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol. Biochem.* **42**: 669-678.
 129. Gyaneshwar P, Naresh Kumar G, Parekh LJ, Poole PS. 2002. Role of soil microorganisms in improving P nutrition of plants. *Plant Soil* **245**: 83-93.
 130. Tabassum B, Khan A, Tariq M, Ramzan M, Khan MSI, Shahid N, et al. 2017. Bottlenecks in commercialisation and future prospects of PGPR. *Appl. Soil Ecol.* **121**: 102-117.
 131. Singh G, Singh N, Marwaha TS. 2009. Crop genotype and a novel symbiotic fungus influences the root endophytic colonization potential of plant growth promoting rhizobacteria. *Physiol. Mol. Biol. Plants* **15**: 87-92.
 132. Depret G, Laguerre G. 2008. Plant phenology and genetic variability in root and nodule development strongly influence genetic structuring of *Rhizobium leguminosarum* biovar viciae populations nodulating pea. *New Phytol.* **179**: 224-235.
 133. Burns JH, Anacker BL, Strauss SY, Burke DJ. 2015. Soil microbial community variation correlates most strongly with plant species identity, followed by soil chemistry, spatial location and plant genus. *AoB PLANTS* 7 plv030-plv030.
 134. Weyens N, Boulet J, Adriaensen D, Timmermans JP, Prinsen E, Oevelen S, et al. 2012. Contrasting colonization and plant growth promoting capacity between wild type and a gfp-derivative of the endophyte *Pseudomonas putida* W619 in hybrid poplar. *Plant Soil* **356**: 217-230.
 135. Vande Broek A, Michiels J, van Gool A, Vanderleyden J. 1993. Spatial-temporal colonization patterns of *Azospirillum brasilense* on the wheat root surface and expression of the bacterial *nifH* gene during association. *Mol. Plant Microbe Interact.* **6**: 592-600.
 136. Ramirez KS, Craine JM, Fierer N. 2012. Consistent effects of nitrogen amendments on soil microbial communities and processes across biomes. *Glob. Change Biol.* **18**: 1918-1927.
 137. Afzal M, Yousaf S, Reichenauer T, Sessitsch A. 2012. The inoculation method affects colonization and performance of bacterial inoculant strains in the phytoremediation of soil contaminated with diesel oil. *Int. J. Phytoremediation* **14**: 35-47.
 138. Sirohi G, Upadhyay A, Srivastava PS, Srivastava S. 2015. PGPR mediated zinc biofertilization of soil and its impact on growth and productivity of wheat. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **15**: 202-216.
 139. Gamalero E, Lingua G, Berta G, Lemanceau P. 2003. Methods for studying root colonization by introduced beneficial bacteria. *Agronomie* **23**: 407-418.

140. Watt M, Hugenholtz P, White R, Vinall K. 2006. Numbers and locations of native bacteria on field-grown wheat roots quantified by fluorescence *in situ* hybridization (FISH). *Environ. Microbiol.* **8**: 871-884.
141. Rothballer M, Schmid M, Hartmann A. 2003. In situ localization and PGPR-effect of *Azospirillum brasilense* strains colonizing roots of different wheat varieties. *Symbiosis* **34**: 261-279.
142. Oliveira AL, Stoffels M, Schmid M, Reis VM, Baldani JI, Hartmann A. 2009. Colonization of sugarcane plantlets by mixed inoculations with diazotrophic bacteria. *Eur. J. Soil Biol.* **45**: 106-113.
143. Wu CH, Hwang YC, Lee W, Mulchandani A, Wood TK, Yates MV, et al. 2008. Detection of recombinant *Pseudomonas putida* in the wheat rhizosphere by fluorescence in situ hybridization targeting mRNA and rRNA. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **79**: 511-518.
144. Compant S, Mathieu F. 2013. Use of DOPE-FISH tool to better visualize colonization of plants by beneficial bacteria? An example with *Saccharothrix algeriensis* NRRL B-24137 colonizing grapevine plants. In: *Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA, pp. 929-931.
145. Podile AR, Kishore K. 2006. Plant growth-promoting rhizobacteria. In: *Plant-associated Bacteria*, pp. 195-230.
146. Chen Z, Sheng X, He L, Huang Z, Zhang W. 2013. Effects of root inoculation with bacteria on the growth, Cd uptake and bacterial communities associated with rape grown in Cd-contaminated soil. *J. Hazard. Mater.* **244-245**: 709-717.
147. Menezes-Blackburn D, Inostroza NG, Gianfreda L, Greiner R, Mora ML, Jorquera MA. 2016. Phytase-producing *Bacillus* sp. inoculation increases phosphorus availability in cattle manure. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* **16**: 200-210.
148. Jansson JK. 1995. Tracking genetically engineered microorganisms in nature. *Curr. Opin. Biotechnol.* **6**: 275-283.
149. Fernandes P, Simões-Araujo J, Varial de Melo LH, Souza Galisa P, Leal L, Baldani J, et al. 2014. Development of a real-time PCR assay for the detection and quantification of *Gluconacetobacter diazotrophicus* in sugarcane grown under field conditions. *Afr. J. Microbiol. Res.* **8**: 2937-2946.
150. Couillerot O, Poirier MA, Prigent-Combaret C, Mavingui P, Caballero-Mellado J, Moëne-Loccoz Y. 2010. Assessment of SCAR markers to design real-time PCR primers for rhizosphere quantification of *Azospirillum brasilense* phytostimulatory inoculants of maize. *J. Appl. Microbiol.* **109**: 528-538.
151. Pereira TP, Do Amaral FP, Dall'Asta P, Brod FC, Arisi AC. 2014. Real-time PCR quantification of the plant growth promoting bacteria *Herbaspirillum seropedicae* strain SmR1 in maize roots. *Mol. Biotechnol.* **56**: 660-670.
152. Brandt J, Albertsen M. 2018. Investigation of detection limits and the influence of DNA extraction and primer choice on the observed microbial communities in drinking water samples using 16S rRNA gene amplicon sequencing. *Front Microbiol.* **9**: 2140.
153. Kong Z, Wu Z, Glick BR, He S, Huang C, Wu L. 2019. Co-occurrence patterns of microbial communities affected by inoculants of plant growth-promoting bacteria during phytoremediation of heavy metal contaminated soils. *Ecotoxicol. Environ. Safe.* **183**: 109504.
154. Quadt-Hallmann A, Kloepper J. 1996. Immunological detection and localization of the cotton endophyte *Enterobacter asburiae* JM22 in different plant species. *Can. J. Microbiol.* **42**: 1144-1154.
155. Hansen M, Kragelund L, Nybroe O. 1997. Early colonization of barley roots by *Pseudomonas fluorescens* studied by immunofluorescence technique and confocal laser scanning microscopy. *FEMS Microbiol. Ecol.* **23**: 353-360.
156. Krishnen G, Kecskés ML, Rose MT, Geelan-Small P, Amprayn K, Pereg L, et al. 2011. Field monitoring of plant-growth-promoting rhizobacteria by colony immunoblotting. *Can. J. Microbiol.* **57**: 914-922.
157. Schloter M, Borlinghaus R, Bode W, Hartmann A. 1993. Direct identification, and localization of *Azospirillum* in the rhizosphere of wheat using fluorescence-labelled monoclonal antibodies and confocal scanning laser microscopy. *J. Microsc.* **171**: 173-177.
158. Schloter M, Wiehe W, Assmus B, Steindl H, Becke H, Höflich G, et al. 1997. Root colonization of different plants by plant-growth-promoting *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii R39 studied with monospecific polyclonal antisera. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**: 2038-2046.
159. Garcia J, Schloter M, Durkaya T, Hartmann A, Manero F. 2003. Colonization of pepper roots by a plant growth promoting *Pseudomonas fluorescens* strain. *Biol. Fert. Soils* **37**: 381-385.
160. Grilli-Caiola MG, Canini A, Botta A, Gallo MD. 2004. Localization of *Azospirillum brasilense* Cd in inoculated tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) roots. *Ann. Microbiol.* **54**: 365-380.
161. Mourya S, Jauhri KS. 2002. lacZ tagging of phosphate solubilizing *Pseudomonas striata* for rhizosphere colonization. *Indian J. Biotechnol.* **1**: 275-279.
162. Solanki M, Garg FC. 2014. The use of lacZ marker in enumeration of *Azotobacter chroococcum* in carrier based inoculants. *Braz. J. Microbiol.* **45**: 595-601.
163. Compant S, Reiter B, Sessitsch A, Clément C, Barka EA, Nowak J. 2005. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**: 1685-1693.
164. De Weger L, Kuiper I, Van Der Bij A, Lugtenberg BJ. 1997. Use of a lux-based procedure to rapidly visualize root colonisation by *Pseudomonas fluorescens* in the wheat rhizosphere. *Antonie Leeuwenhoek* **72**: 365-372.
165. Kragelund L, Hosbond C, Nybroe O. 1997. Distribution of metabolic activity and phosphate starvation response of lux-tagged *Pseudomonas fluorescens* reporter bacteria in the barley rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**: 4920-4928.
166. Batista L, Irisarri P, Rebuffo M, Cuitiño MJ, Sanjuán J, Monza J. 2015. Nodulation competitiveness as a requisite for improved

- rhizobial inoculants of *Trifolium pratense*. *Biol. Fert. Soils* **51**: 11-20.
167. Wang C, Wang D, Zhou Q. 2004. Colonization and persistence of a plant growth promoting bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain CS85, on roots of cotton seedlings. *Can. J. Microbiol.* **50**: 475-481.
168. De Weger LA, Dunbar P, Mahafee WF, Lugtenberg BJ, Sayler GS. 1991. Use of bioluminescence markers to detect *Pseudomonas* spp. in the rhizosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* **57**: 3641-3644.
169. Gaby JC, Buckley DH. 2014. A comprehensive aligned *nifH* gene database: a multipurpose tool for studies of nitrogen-fixing bacteria. *Database* **2014**: bau001, doi:10.1093/database/bau001.
170. Ludueña LM, Anzuay MS, Angelini JG, Barros G, Luna MF, Monge MP, et al. 2017. Role of bacterial pyrroloquinoline quinone in phosphate solubilizing ability and in plant growth promotion on strain *Serratia* sp. S119. *Symbiosis* **72**: 31-43.
171. Jijón-Moreno S, Marcos-Jiménez C, Pedraza RO, Ramírez-Mata A, de Salamone IG, Fernández-Scavino A, et al. 2015. The *ipdC*, *hisC1* and *hisC2* genes involved in indole-3-acetic production used as alternative phylogenetic markers in *Azospirillum brasilense*. *Antonie Van Leeuwenhoek* **107**: 1501-1517.
172. Peng J, Wu D, Liang Y, Li L, Guo Y. 2019. Disruption of *acdS* gene reduces plant growth promotion activity and maize saline stress resistance by *Rahnella aquatilis* HX2. *J. Basic Microbiol.* **59**: 402-411.
173. Jorquera MA, Inostroza NG, Lagos LM, Barra PJ, Marileo LG, Rilling JI, et al. 2014. Bacterial community structure and detection of putative plant growth-promoting rhizobacteria associated with plants grown in Chilean agro-ecosystems and undisturbed ecosystems. *Biol. Fert. Soils* **50**: 1141-1153.