

사구식물 연관 세균 군집의 분자계통학적 연구

도진옥·박성주·김승범^{1*}

대전대학교 산업과학대학 미생물생명공학과,

¹충남대학교 생명과학부 미생물학전공Molecular Systematic Study of Bacterial Community
Associated with Sand Dune PlantsJin Ok Do, Seong Joo Park and Seung Bum Kim^{1,*}Department of Microbiology and Biotechnology, Daejeon University,
Daejeon 300-716, Korea¹Department of Microbiology, Chungnam National University,
Daejeon 305-764, Korea

Abstract - The rhizobacterial diversity associated with 9 native plant species inhabiting coastal sand dunes in Tae-an area, Chungnam Province, was studied using the denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) fingerprinting analysis over three times from October 2003 to March 2004. One dominant band commonly occurred in all of the rhizosphere samples, which was identified as that of *Lysobacter enzymogenes*. The other common bands included those derived from species of *Pseudomonas* and *Bacillus*. It was notable that *L. enzymogenes* was dominant in all of the 9 plant species and such dominance was consistent throughout the whole sampling period, which confirms the previous study by Lee *et al.* (2006a). The *Bacillus* bands were detected in all of the three samplings, and those of *Pseudomonas* were notable in the samples of December 2003. By the DGGE analysis alone, the significance of *Lysobacter* to the sand dune plants is not clear. However, considering their presence in healthy plants and the dominance in all plant species, *Lysobacter* may have positive roles in the survival or growth of the plants in sand dune area.

Key words : rhizobacteria, sand dune, denaturing gradient gel electrophoresis, *Lysobacter*

서론

사구는 모래언덕을 지칭하며 해안이나 사막 등지에 형성되어 있는 지형으로서 독특한 생태계가 관찰되어지는 환경이다. 사구에는 다양한 동·식물이 존재하는 것으로 알려져 있으며, 국내에는 주로 서해안 지역에 사구

가 비교적 잘 발달되어 있다. 사구는 생태적 중요성뿐만 아니라 관광자원으로서의 가치 역시 인정받고 있으며 최근에는 개발과 환경 보전의 상반된 입장이 대립하는 가운데 점차 주목받고 있는 환경이다. 사구 생태계는 상대적으로 다른 육상 환경에 비하여 척박한 환경임에도 불구하고 다양한 사구식물이 자생하고 있으며 이중 해당화, 순비기나무, 갯완두, 갯방풍 등 일부는 실용적 가치를 인정받고 있다.

현재까지 국내 사구 생태계에 대한 연구동향을 살펴

* Corresponding author: Seung Bum Kim, Tel. 042-821-6412,
Fax. 042-822-7367, E-mail. sbk01@cnu.ac.kr

보면 경북의 해안사구(정과 김 1998), 신두리(안 2003), 우이도(변과 박 2002), 안마도(Im *et al.* 2003), 그리고 남해안 및 서해안(이와 전 1983, 1984) 등에서의 사구 식생에 대한 연구가 이루어진 바 있다.

국외에서 이루어진 사구 관련 미생물에 대한 연구로는 사구에 서식하는 식물체 중 일부가 arbuscular mycorrhiza를 형성하는 진균류(AMF)와의 상리공생을 통하여 안정하게 착생할 수 있게 된다는 사실에 대한 보고사례가 있는 등 균근균에 대한 연구가 주를 이루고 있다(Clough and Sutton 1978; Kowalchuk *et al.* 2002; Marenmani *et al.* 2003; Matekwor Ahlulu *et al.* 2005). 특이한 점은 AMF는 사구 토양에는 일반적으로 검출되지 않았으나 식물체의 상당수가 이미 이를 보유하고 있어 환경에 식목되었을 때 mycorrhiza를 형성하는 것이 관찰되었다. 야외 현장실험에서도 AMF가 접종된 식물체들이 그렇지 않은 식물체들 보다 더 효율적으로 착생에 성공했음을 보였다. 한편 원핵생물로는 뿌리혹을 형성하는 *Frankia* sp. (Huguet *et al.* 2001), 장내세균(Hagler *et al.* 1993), 암모니아 산화세균(Kowalchuk *et al.* 1997), 항생제에 내성을 가지는 중속영양세균(Mudryk 2005) 등이 연구된 바 있다. 효모로는 주로 꽃에서 발견되는 다양한 효모에 대한 연구사례가 보고되어 있다(Morais *et al.* 1994; Rosa *et al.* 1999).

국내에서는 사구 식물 관련 균근에 관한 연구가 이루어진 바 있으며(김 등 1993; 고와 박 2003), 한편 본 연구실에서 행한 사구식물에서 분리한 미생물의 다양성(Park *et al.* 2005), 사구식물 내생세균의 유전학적 다양성(Lee *et al.* 2006a) 및 사구식물 분리 미생물에 대한 식물생장촉진 활성 조사(Shin *et al.* 2007) 등이 있다.

아직도 많은 경우 환경에서의 미생물 군집에 대한 조사는 주로 배양에 의존한 방법을 이용하고 있는데, 이렇게 이루어지는 조사는 한정된 범위의 자료를 제공할 수밖에 없다. 현재의 배양 기술로는 환경에 존재하는 미생물 중 극히 일부만 배양가능함을 고려할 때 배양비의존적인 분자생물학적 분석기법의 도입이 필수라고 할 수 있다.

1990년대 이후 다양한 배양 비의존적 연구방법이 개발되고 활발히 이용되어져 왔으며 denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) 등을 이용한 분자적 핑거프린팅에 의한 미생물 군집의 다양성 분석, 클로닝을 통한 미생물 군집의 구성 분석, 특이 분자표적을 이용한 특정 미생물 분류군의 FISH (fluorescent *in situ* hybridization) 검출법 등은 다양한 생태계에서의 미생물 군집 구조 분석에 널리 이용되고 있는 연구기법들이다(Ko-

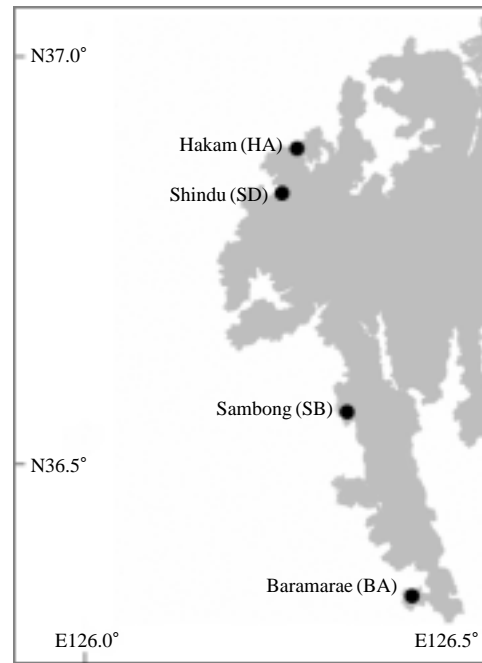


Fig. 1. Sampling locations of Taean area, Chungnam Province.

walchuk *et al.* 1997, 2002).

본 연구에서는 분자생태학적 기법을 이용한 미생물 군집의 구조 분석을 시도하였다. 3차에 걸쳐 denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) 핑거프린팅 기법을 이용한 조사를 통하여 사구 식생에 연관된 근권세균 군집의 구조 및 변동과 식생에 따른 분포를 파악하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 시료 채취 및 DNA 추출

시료채취 대상 지역은 Fig. 1에 표시하였으며, 지역 및 식물종 별 채취 시료는 Table 1에 나타난 바와 같다. 각각의 식생에 따라 근권 토양 시료를 채취하여 다음과 같이 처리하였다. 토양 5g을 정량하여 PBS 25 mL을 첨가하고 150~200 rpm으로 1시간 교반 하였고 교반액을 5분 동안 10,000 rpm으로 원심분리하여 cell pellet만 얻었다. 얻은 pellet에 DNA extraction buffer 0.8 mL을 첨가하였고, 다시 원심분리하여 pellet을 얻었으며, -70°C 에서 완전히 얼리고 65°C 에서 완전히 녹이는 과정을 5~10번 반복 수행하였다. 여기에 achromopeptidase (10,000 units mL^{-1} TE)와 lysozyme (50 mg lysozyme in 10 mM Tris-HCl [pH 8.0], 1 mM EDTA, 10 mM NaCl)을 각각

Table 1. Sand dune plants from which root samples were taken for isolation of endophytic bacteria

Plant species	Common name	Sample code ^a
1. <i>Calystegia soldanella</i>	갯메꽃 (beach morning glory)	BA1 SB1 SD1
2. <i>Lathyrus japonica</i>	갯완두 (wild pea)	BA2 HA2 SB2
3. <i>Elymus mollis</i>	갯그렁 (wild rye)	HA3 SB3
4. <i>Vitex rotundifolia</i>	순비기나무 (roundleaf chastetree)	HA4 SB4
5. <i>Carex kobomugi</i>	툭보리사초 (Asiatic sand sedge)	SB5 SD5
6. <i>Rosa rugosa</i>	해당화 (Sweetbrier)	HA6
7. <i>Artemisia fukudo</i>	갯쑥 (Beach mugwort)	SB7
8. <i>Messerschmidia sibirica</i>	모래지치 (Sea rosemary)	SB8
9. <i>Glehnia littoralis</i>	갯방풍 (Beach silvertop)	BA9

^aThe codes denote the sampling areas. BA, Baramarae (바람아래); HA, Hakam (학암포); SB, Sambong (삼봉); SD, Shindu (신두리). The numbers indicate the plant species.

50 mL씩 첨가하여, 37°C에서 2~3시간 처리하였다. 다시 20% SDS를 섞은 뒤에 65°C에서 1시간 배양하였다. Tube에 전체 volume의 1/2의 phenol-chloroform & chloroform-isoamyl alcohol을 반복하여 두 번 처리하였고, 처리한 시료에 0.54 부피의 isopropanol을 첨가하였다. 12,000 rpm으로 5분간 원심분리하여 상등액을 제거하였다. 70% ethanol을 1 mL 넣고 세척하는 과정을 두 번 반복하였고, 감압 건조기를 이용하여 DNA pellet을 완전히 건조시킨 뒤 적당한 부피의 증류수로 재부유 시키고 이를 주형으로 다음 실험에 사용하였다.

2. PCR 증폭

위에서 추출된 DNA로부터 PCR을 실시한 후 DGGE 분석을 수행하였다. PCR에 사용된 primer는 16S rDNA의 V3 부분 중 보존적인 염기서열로 알려져 있고, 대부분의 Eubacteria에 특이적으로 부착하는 40 base의 GC clamp가 포함된 GC341f (5'-CGC CCG CCG CGC CCC GCG CCC GGC CCG CCG CCC CCG CCC GCC TAC GGG AGG CGC AG-3')와 518r (5'-ATT CCG CGG CTG CTG G-3')을 사용하였다.

PCR 증폭은 I-Cycler (Bio-Rad, USA)로 수행하였다. PCR 반응 혼합물의 조성은 5 µL 10× reaction buffer, 5 µL의 25 mM dNTP, 5 unit의 *Taq* polymerase (Bioneer, Korea)를 첨가한 후 10 pmol GC357f와 518r 및 1 µL의

DNA를 첨가하였다. 95°C로 1분간 처리하고 초기 annealing 온도는 최적온도보다 10°C가 높은 65°C에서 시작하고 매 2 cycle마다 0.5°C씩 감소되도록 설정하고 최적온도인 55°C에 도달하면 5 cycle을 더 수행하도록 설정하였다. 최종적으로 72°C에서 5분간 반응시킨 후 4°C에 보관하였다. 증폭산물은 1% agarose gel에서 전기영동을 실시하였고 ethidium bromide로 염색하여 단일 밴드를 확인하였다.

3. DGGE 분석

Denaturing gradient gel electrophoresis는 Dcode System (Bio-Rad, USA)을 이용하여 수행하였다. Polyacrylamide gel의 크기는 20 × 13 cm (width × height), 젤의 두께는 1 mm이었으며 10% (w/v) polyacrylamide gel을 이용하였고, urea와 formamide 변성제가 35%에서 65%까지 농도 구배가 수직으로 일정하게 형성되도록 제작하였다. PCR 산물을 gel loading dye를 혼합한 후 1× TAE buffer에서 80V로 16시간 전기영동을 하였다. 젤은 ethidium bromide로 염색한 후 관찰하였다.

4. 염기서열 분석

주요 DGGE 밴드들을 육안으로 선별하여 DNA 염기서열을 분석하였다. 구체적인 과정은 젤에서 해당 밴드를 잘라 증류수에 현탁하여 하루밤을 추출한 후에 341f와 518r의 primer를 이용, PCR 증폭을 하였으며 증폭된 PCR 산물을 PCR Purification Kit (Promega, USA)으로 정제하였다. 유전자 서열분석은 Big-Dye cycle sequencing kit (PE Applied Biosystems, USA)과 ABI Prism 310 Genetic analyzer (PE Applied Biosystems)를 이용하여 수행하였으며, 얻은 DNA 염기서열을 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)을 이용하여 동정하였다.

결 과

1. 해안사구 식물상

해안사구는 일반 토양에서 자라는 식물과는 여러 면에서 다른 독특한 식생을 가지고 있다. 사구는 투수성이 좋으므로 상대적으로 건조한 환경이라고 할 수 있으며, 이러한 환경에서 의 적응을 위하여 지하경이 잘 발달되어 있다. 충청남도 태안군 일대의 신두리, 학암포, 삼봉 및 바람아래 등 4개 지역에서 관찰된 주요 사구식물은

초본 7종, 목본 2종이었다(Table 1). 갯메꽃(*Calystegia soldanella*)은 사구 전 지역에서 고루 발견되는 주요 사구식물 중으로 군락을 이루고 있거나, 개체들이 넓게 퍼져 있음을 관찰하였다. 갯그렁(*Elymus mollis*)의 경우 신두리 및 학암포 사구의 해안쪽 전면에서 대규모의 군락을 이루는 것을 볼 수 있었으며, 갯완두(*Lathyrus japonica*)의 경우 학암포에서 대규모의 군락을 형성하고 있었다. 통보리사초(*Carex cobomugi*)는 신두리의 사구 배후의 둔덕에 넓은 군락을 형성하였고, 해당화(*Rosa rugosa*)는 학암포 및 삼봉에서, 순비기나무(*Vitex rotundifolia*)는 삼봉에서, 그리고 갯방풍(*Glehnia littoralis*)은 바람아래에서 각각 군락을 이루고 있었다. 삼봉에서 가장 다양한 종류의 사구식물이 채집되었으나, 본 조사에서는 사구식물의 종 및 지역별 분포를 정밀조사 하지는 않았으므로 삼봉의 사구 식생이 가장 다양하다고 단정할 수는 없었다. 전반적으로 개체수가 가장 많고 널리 분포하는 사구식물 종은 갯메꽃과 갯그렁으로 관찰되었다.

2. Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) 분석

3차에 걸친 분석에 이용된 시료는 태안군 내 4개 사구지역의 총 16개 시료로서, 바람아래의 갯메꽃(BA1), 갯완두(BA2) 및 갯방풍(BA9), 학암포의 갯완두(HA2), 갯그렁(HA3), 순비기나무(HA4) 및 해당화(HA6), 삼봉의 갯메꽃(SB1), 갯완두(SB2), 갯그렁(SB3), 순비기나무(SB4), 통보리사초(SB5), 갯쭉(SB7) 및 모래지치(SB8), 신두리의 갯메꽃(SD1) 및 통보리사초(SD5) 식물체를 채취하였다(Table 1). 단 2003년 10월 및 12월의 시료는 바람아래 갯방풍 시료를 반복채취하였다(BA10).

토양 시료에서 추출한 DNA로부터 보다 깨끗한 PCR 증폭산물을 얻고자 DGGE-PCR은 touch-down 방식을 이용하여 수행하였으며, 그 결과 agarose gel 상에서 단일 밴드의 양호한 PCR 산물을 얻음을 확인할 수 있었다. Formamide와 urea를 이용한 젤 내 수직 변성 농도구배 조건은 35~64%였으며, 변성 농도는 formamide 40% 및 urea 7.5 M의 농도 조합을 100%로 하였다.

3차에 걸친 조사 결과 단일 밴드가 식물종, 지역, 또는 채취 시기에 관계 없이 모두 공통으로 나타났으며, 따라서 한 종류의 세균이 다양한 사구식물 종의 근원에서 계절에 관계없이 우점적으로 존재하고 있는 것으로 조사되었다(Fig. 2). 전체적으로는 식생 별 차이가 뚜렷하지 않은 경우가 대부분이었으며, 지역 별 차이도 관찰되지 않았다. 식생별, 계절별 차이를 명확하게 확인하기 위하여 각 band의 DNA 염기서열을 결정하였다.

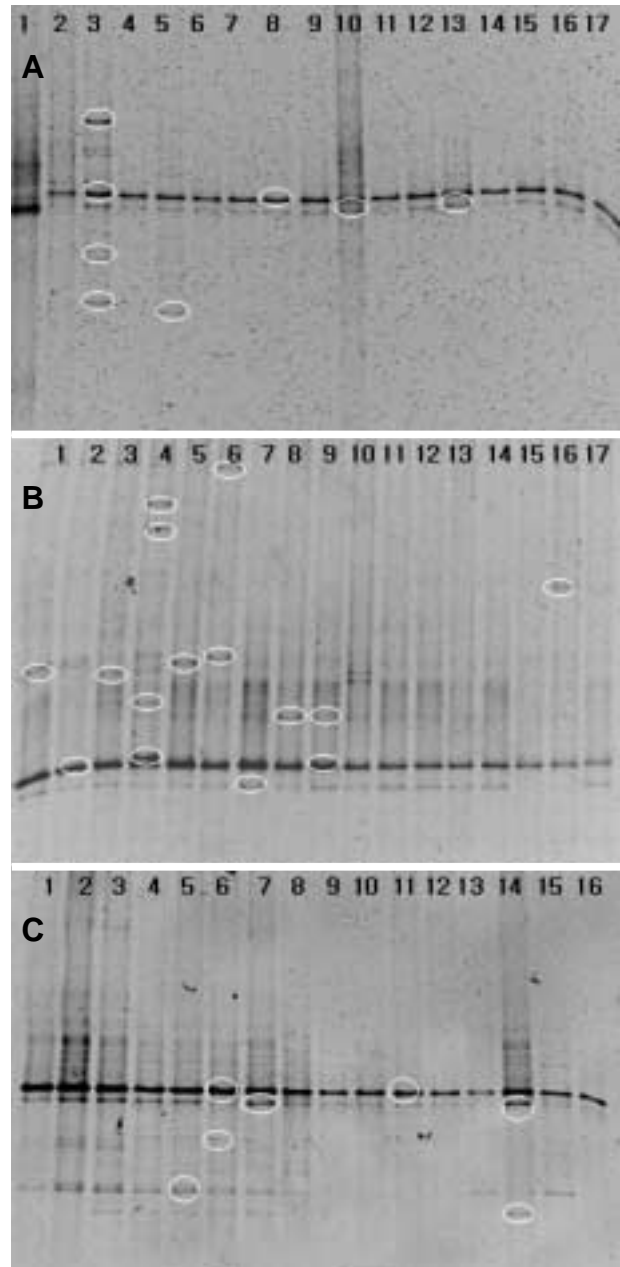


Fig. 2. DGGE profiles of rhizosphere bacterial communities. A, October 2003; B, December 2003; C, March 2004. The samples are 1, BA1; 2, SB1; 3, SD1; 4, BA2; 5, SB2; 6, HA2; 7, SB3; 8, HA3; 9, SB4; 10, HA4; 11, SB5; 12, SD5; 13, HA6; 14, SB7; 15, SB8; 16, BA9; 17, BA9. Refer to the legend of Table 1 for the sample codes.

3. DGGE band의 동정

젤 상의 band를 분리하여 DNA 염기서열을 알아내고 이를 기존 세균들의 DNA 염기서열과 비교, 동정하였다(Table 2). 모든 DGGE profile에서 우점적으로 출현하였던 band는 추계, 동계 및 춘계의 시료에서 모두 동일한

Table 2. Identification of individual DGGE bands by sequence comparison

Sample ^a	Organism	Similarity	Accession no.
October 2003			
SD1-1	<i>Lycopersicon esculentum</i>	99%	BT014415
SD1-2	<i>Lysobacter enzymogenes</i>	100%	AJ298291
SD1-3	uncultured angiosperm	99%	AF526941
SD1-4	<i>Bacillus</i> sp. TB4-8-1	87%	AY599745
SB2-1	uncultured embryophyte	88%	AY043966
HA3-1	uncultured marine eukaryote isolate	90%	AY191345
HA4-1	<i>Chaetosphaeridium globosum</i>	89%	AF494278
HA6-1	<i>Lysobacter enzymogenes</i>	100%	AJ298291
December 2003			
BA1-1	<i>Pseudomonas</i> sp. 4	92%	AY269867
SB1-1	<i>Lysobacter enzymogenes</i>	100%	AJ298291
SD1-1	<i>Pseudomonas borealis</i>	87%	AF321013
BA2-1	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	98%	AY604848
BA2-2	<i>Pseudomonas viridiflava</i>	98%	AF364097
BA2-3	<i>Lysobacter</i> sp.	88%	AY074793
BA2-4	<i>Pseudomonas putida</i>	91%	AY332610
SB2-1	<i>Cytophagales</i> str. MBIC4147	89%	AB022889
HA2-1	<i>Pseudomonas putida</i>	90%	D85997
HA2-2	<i>Pseudomonas</i> sp.	88%	AY269867
SB3-1	<i>Bacillus</i> sp. 12	99%	AY269875
HA3-1	<i>Lysobacter enzymogenes</i>	90%	AJ298291
SB4-1	<i>Lysobacter enzymogenes</i>	100%	AJ298291
HA4-1	<i>Inquilius limosus</i>	96%	AY043373
BA9-1	Antarctic bacterium	98%	AJ440979
March 2004			
SB2-1	<i>Arthrobacter</i> sp. 34/47	98%	AY571799
HA2-1	<i>Lysobacter enzymogenes</i>	98%	AJ298291
HA2-2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	95%	AJ318898
SB3-1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	94%	AJ581966
SD5-1	<i>Lysobacter enzymogenes</i>	99%	AJ298291
SB7-1	<i>Bacillus thuringiensis</i>	94%	AJ581966
SB7-2	<i>Streptomyces scabies</i>	99%	Y15497

^aThe multiple bands in a lane were numbered in the descending order.

DNA 염기서열을 가졌으며, 동정 결과 *Lysobacter*의 한 종인 *Lysobacter enzymogenes*와 98~100%의 유사도를 가지는 것으로 나타났다 (nucleotide accession number AJ298291).

그 외의 *Bacillus* 속에 속한 균주들이 3 계절의 시료에서 모두 출현하였으나 종류는 다양한 것으로 나타났으며, 특히 미동정 균주들과 높은 유사도를 가진 것으로 나타나 사구지역 근권에서 출현하는 *Bacillus* 속 세균들은 기존에 알려지지 않은 종들이 다수인 것으로 보인다. 2004년 3월의 시료에서는 *B. thuringiensis* (AJ581966)가 해당화(HA6), 모래지치(SB8) 및 갯방풍(BA9)을 제외한 전 시료에서 *Lysobacter*에 뒤이은 주요 종으로 출현하였다. 2003년 12월의 시료에서는 *Pseudomonas* 속 종들의 출현이 특징적이었는데, *P. borealis*, *P. viridiflava*, *P. puti-*

da 등 다양한 종들이 검출되었으며, 주로 갯메꽃과 갯완두에서 집중적으로 출현하였다. 2004년 3월 시료에서는 *Arthrobacter* 및 *Streptomyces* 등 방선균의 출현이 두드러졌다. 방선균들은 유전체의 G+C 함량이 높으므로, 이로부터 유래된 DNA 절편은 DGGE 젤에서의 이동성이 상대적으로 빠를 것이며, 따라서 2004년 3월의 DGGE profile은 타 시료보다 상대적으로 방선균 유래 band들이 풍부하게 있음을 보여준다.

고 찰

Lysobacter, 특히 *L. enzymogenes*의 우점은 2개 사구식물종을 대상으로 한 근권 토양의 16S rDNA 클론 분석 결과와도 일치하고 있으며, 정량적인 표시는 어려우나 클론 분석에서의 결과 못지 않은 *Lysobacter*의 우점적 지위가 확인되었다(Lee *et al.* 2006a). 동 조사에서 *Lysobacter*가 전체 클론에서 차지하는 비중은 갯메꽃(*Calystegia soldanella*)의 근권에서는 50.6%, 갯그렁(*Elymus mollis*)의 근권에서는 62.5%로 나타난 바 있다. *Lysobacter* 속에는 현재 *L. enzymogenes*를 비롯하여 모두 11종이 알려져 있으며, 특히 국내의 경작지 토양에서 분리된 종들이 많은 것이 주목된다(Bae *et al.* 2005; Lee *et al.* 2006b; Weon *et al.* 2006). *Lysobacter*는 세포외 고분자물 분해효소를 내는 것으로 잘 알려져 있으며 생물학적 방제에의 용도로도 이용되고 있다(Christensen and Cook 1978; David *et al.* 1988).

특이한 점은 *Lysobacter*가 배양에 의한 방법으로는 전혀 검출되지 않았다는 점이다(Park *et al.* 2005). 배양의 존적 방법에 의한 세균 분리주의 종 조성은 특정한 종에 치우치지 않고 다양하게 분포하였으며, 특히 *Pseudomonas*의 다양한 종들이 많은 경우 우세하였고, 그 외에 *Chryseobacterium* 속 균주들이 많이 분리되었으며 *Arthrobacter*, *Microbacterium* 등의 Actinobacteria, 그리고 *Bacillus*, *Paenibacillus* 등의 Firmicutes 소속 균주들이 다수 분리되었다. 따라서 *Lysobacter*를 제외하면 상당수의 분류군들이 배양법 및 배양 비의존적 방법 모두에서 검출되었다.

사구환경 서식 미생물들이 사구 식생에 대해 지니는 중요성은 이들 분리주로부터 나타난 식물생장촉진활성으로부터 알 수 있다. 즉 다수의 분리주가 4개 주요 식물 병원균, 즉 *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* 및 *Pythium ultimum*에 대한 길항작용을 보였고, 이 중 indole acetic acid (IAA), siderophore, protease, pectinase, chitinase 등의 물질을 분비하는 세균이 상당수 있었다(Shin *et al.* 2007). 따라서 식물 연관 미생물 중 병

원균에 대한 길항작용 및 식물생장촉진물질의 분비 등을 통하여 식물 생장에 직접적인 영향을 줄 수 있는 미생물이 다수 존재함을 확인할 수 있었다. 이러한 사실들은 사구 미생물들이 사구 식물에게는 매우 중요한 존재가 됨을 알 수 있다.

실제로 근권 세균 중 식물의 생장을 촉진할 수 있는 활성을 가진 종류들이 많으며 이를 식물생장촉진 근권세균 (plant growth promoting rhizobacteria)이라 칭하고 있다. 이들 근권세균들이 식물 생장촉진에 관여하는 기작은 인, 질소 등 무기양분의 섭취 증진, 질소고정, auxin, gibberellin 등 식물생장호르몬의 분비, 철의 흡수에 의한 경쟁미생물의 억제, 식물병원균에 대한 항생작용, 식물병원균의 효소적 용해 등 매우 다양하다 (Shin *et al.* 2007).

본 연구에서 나타난 주요 분류군인 *Lysobacter*, *Pseudomonas* 및 *Bacillus*는 이러한 식물생장촉진 활성을 가지는 대표적인 세균군들로서 사구식물에서 이들의 존재는 식생의 유지 및 발달에 매우 중요한 기여를 하고 있음을 암시한다. 향후 각각의 세균군들과 식물 간 상호작용, 특히 *Lysobacter enzymogenes*와 식물 간의 상호작용 유형은 매우 관심있는 연구주제가 될 것으로 기대된다.

적 요

충남 태안군 일대 4곳의 해안사구 지역에서 자생하는 9종의 사구식물 연관 근권세균 다양성을 2003년 10월부터 2004년 3월까지의 기간 동안 3차례에 걸쳐 denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) 기법을 이용하여 조사하였다. 그 결과 한 밴드가 계속 모든 시료에서 우점하는 것으로 나타났으며, DNA 염기서열 분석에 의하여 *Lysobacter enzymogenes*와 가장 유사한 것으로 나타났다. 기타 주요 밴드들은 *Pseudomonas*와 *Bacillus* 속의 균주들로 동정되었다. *L. enzymogenes*가 9종의 식물 모두에서 지역이나 조사시기에 관계없이 우점적으로 나타난 것은 이전의 클론 분석을 통한 결과와 일치한다 (Lee *et al.* 2006a). *Bacillus*에 속한 밴드들이 모든 조사에서 출현하였으며, *Pseudomonas* 속 밴드들은 2003년 12월 조사에서 두드러졌다. DGGE 분석만으로는 *Lysobacter*가 사구식물에 가지는 중요성을 파악할 수는 없으나 건강한 개체에 지속적으로 발견되는 것으로 보아 *Lysobacter*의 존재는 식물에 긍정적인 영향을 가지는 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2005년도 충남대학교 학술연구비 지원에

의하여 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- 고성덕, 박주영. 2003. 충남 보령군 신두리 사구의 arbuscular mycorrhizal fungi (AMF)의 종조성과 분포에 관한 연구. *Bullet. Sci. Edu.* 19:189-203.
- 김준태, 리기현, 정병철, 김종균. 1993. 사구식물과 Arbuscular 내생 균근균의 공생 특성. *Kor. J. Mycol.* 21:235-245.
- 변무섭, 박준모. 2002. 우이도 사구의 식물상 및 비오톱 보전에 관한 연구. *한국산림휴양학회지* 6:93-101.
- 안영희. 2003. 신두리 해안 사구지 식생의 식물사회학적 연구. *J. Kor. Env. Res. Reveg. Tech.* 6:29-40.
- 이우철, 전상근. 1983. 한국 해안식물의 생태학적 연구-남해안의 사구식물 군락의 종조성과 현존량. *Kor. J. Ecol.* 6:177-186.
- 이우철, 전상근. 1984. 한국 해안식물의 생태학적 연구-서해안의 사구식물에 관하여. *Kor. J. Ecol.* 7:74-84.
- 정용규, 김종원. 1998. 한국의 해안사구 식생. *Kor. J. Ecol.* 21:257-262.
- Bae HS, WT Im and ST Lee. 2005. *Lysobacter concretionis* sp. nov., isolated from anaerobic granules in an upflow anaerobic sludge blanket reactor. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55:1155-1161.
- Christensen P and FD Cook. 1978. *Lysobacter*, a new genus of nonfruiting, gliding bacteria with a high base ratio. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 28:367-393.
- Clough KS and JC Sutton. 1978. Direct observation of fungal aggregates in sand dune soil. *Can. J. Microbiol.* 24:333-335.
- Epstein DM and PC Wensink. 1988. The alpha-lytic protease gene of *Lysobacter enzymogenes*. The nucleo-tide sequence predicts a large prepro-peptide with homology to pro-peptides of other chymotrypsin-like enzymes. *J. Biol. Chem.* 263:16586-16590.
- Hagler AN, CA Rosa, PB Morais, LC Mendonca-Hagler, GM Franco, FV Araujo and CA Soares. 1993. Yeasts and coliform bacteria of water accumulated in bromeliads of mangrove and sand dune ecosystems of southeast Brazil. *Can. J. Microbiol.* 39: 973-977.
- Huguet V, JM Batzli, JF Zimpfer, P Normand, JO Dawson and MP Fernandez. 2001. Diversity and specificity of *Frankia* strains in nodules of sympatric *Myrica gale*, *Alnus incana* and *Shepherdia canadensis* determined by *rrs* gene polymorphism. *Appl. Environ. Microbiol.* 67:2116-2122.
- Im BS, JS Lee and HS Kim. 2003. Changes of the coastal sand dune vegetation after the construction of embankment in Anmado. *Kor. J. Ecol.* 26:103-108.
- Kowalchuk GA, JR Stephen, W De Boer, JI Prosser, TM Emb-

- ley and JW Woldendorp. 1997. Analysis of ammonia-oxidizing bacteria of the beta subdivision of the class *Proteobacteriain* coastal sand dunes by denaturing gradient gel electrophoresis and sequencing of PCR-amplified 16S ribosomal DNA fragments. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 1489-1497.
- Kowalchuk GA, FA deSouza and JA van Veen. 2002. Community analysis of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Ammophila arenaria* in Dutch coastal sand dune. *Mol. Ecol.* 11:571-581.
- Lee MS, JO Do, MS Park, S Jung, KH Lee, KS Bae, SJ Park and SB Kim. 2006a. Dominance of *Lysobacter* sp. in the rhizosphere of two coastal sand dune plant species, *Calystegia soldanella* and *Elymus mollis*. *Antonie Leeuwenhoek* 90:19-27.
- Lee JW, WT Im, MK Kim and DC Yang. 2006b. *Lysobacter koreensis* sp. nov., isolated from a ginseng field. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56:231-235.
- Maremmani A, S Bedini, I Matosevic, PE Tomei and M Giovannetti. 2003. Type of mycorrhizal associations in two coastal nature reserves of the Mediterranean basin. *Mycorrhiza* 13:33-40.
- Matekwor Ahulu E, M Nakata and M Nonaka. 2005. Arum- and Paris-type arbuscular mycorrhizas in a mixed pine forest on sand dune soil in Niigata Prefecture, central Honshu, Japan. *Mycorrhiza* 15:129-136.
- Morais PB, CA Rosa, AN Hagler and LC Mendonca-Hagler. 1994. Yeast communities of the cactus *Pilo-socereus arrabida* as resources for larval and adult stages of *Drosophila serido*. *Antonie Leeuwenhoek* 66:313-317.
- Mudryk ZJ. 2005. Occurrence and distribution antibiotic resistance of heterotrophic bacteria isolated from a marine beach. *Mar. Pollut. Bull.* 50:80-86.
- Park MS, SR Jung, KH Lee, MS Lee, JO Do, SB Kim and KS Bae. 2005. Isolation and characterization of bacterial associated with two sand dune plants species, *Calystegia soldanella* and *Elymus mollis*. *J. Microbiol.* 43:219-227.
- Rosa CA, MA Lachance, WT Starmer, JS Barker, JM Bowles and B Schlag-Edler. 1999. *Kodamaea nitidulidarum*, *Candida restingae* and *Kodamaea anthophila*, three new related yeast species from ephemeral flowers. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 49:309-318.
- Shin DS, MS Park, SR Jung, MS Lee, KH Lee, KS Bae and SB Kim. 2007. Plant growth-promoting potential of endophytic bacteria isolated from roots of coastal sand dune plants. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17:1361-1368.
- Weon HY, BY Kim, YK Baek, SH Yoo, SW Kwon, E Stackebrandt and SJ Go. 2006. Two novel species, *Lysobacter daejeonensis* sp. nov. and *Lysobacter yangpyeongensis* sp. nov., isolated from Korean greenhouse soils. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56:947-951.

Manuscript Received: October 24, 2007

Revision Accepted: November 5, 2007

Responsible Editor: Sun Il Kwon