

## 해안사구의 토착식물로부터 분리된 근권세균의 내염능과 식물성장촉진능 평가

홍선화 · 이미향 · 김지슬 · 이은영\*  
수원대학교 환경에너지공학과

Received : August 10, 2012 / Revised : September 4, 2012 / Accepted : September 5, 2012

### An Evaluation of Plant Growth Promoting Activities and Salt Tolerance of Rhizobacteria Isolated from Plants Native to Coastal Sand Dunes. Hong, Sun Hwa, Mi Hyang Lee, Ji Seul Kim, and Eun Young Lee\*.

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

Coastal sand dunes are important for ecosystems due to the variety of rare species that can be found in this kind of habitat, and the beautiful landscapes they create. For environmental remediation, a potential strategy is phytoremediation using the symbiotic relationship of plants and microbes in the rhizosphere, which has proven ecologically sound, safe, and cost effective. Ninety-five colonies were isolated from the rhizosphere soil (RS) or rhizoplane (RP) of *Rorippa islandica*, *Rumex crispus*, *Artemisia princeps* var. *orientalis*, *Lilium* sp *Stellaria media*, and Gramineae. These colonies were then tested for plant growth promoting activities (PGPAs) such as 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase activity, and siderophores synthesis ability. In addition, salt tolerance was evaluated at 4% and 8% salt concentrations. It was observed that amongst the test subjects about 50% of the strains had a high resistance to salinity. Many of them could produce indole-3-acetic acid (IAA) IAA (in RS 13.9% and in RP 7.6%), exhibited ACC deaminase activity (55.8% in RS and 36.6% in RP), and could synthesize siderophores (62.7% in RS and 50% in RP). Correlation coefficient analyses were carried out for the three kinds of plant growth promoting abilities (PGPA) and salt tolerance. A positive correlation was found between an ability to synthesize siderophores and ACC deaminase activity ( $r=0.605$ ,  $p<0.037$ ). Similarly, positive correlations were noted between salt tolerance and ACC deaminase activity ( $r=0.762$ ,  $p<0.004$ ,  $r=0.771$ ), and salt tolerance and an ability to synthesize siderophores ( $r=0.771$ ,  $p<0.003$ ).

**Keywords:** ACC deaminase, coastal sand dune, IAA, rhizobacteria, salt tolerance, siderophores

### 서 론

해안 사구는 해양과 육상이 경계를 이루는 지역으로 해안 지역 보호와 식물자원의 보존을 위해 중요시되고 있으며 [29], 서식지로서의 중요성과 경제적 가치를 가지고 있다 [20, 22]. 해안사구는 특이적 환경조건(빠른 지형 변화, 강한 바람, 강한 일조량, 염도, 토성, 모래침식, 모래증가, 강한 건조 등)으로 식생의 종류가 매우 제한적이지만, 열악한 환경에도 불구하고 다양한 종류의 자생식물이 존재하고 있어 생태자원 및 관광자원으로 보존가치가 뛰어난 지역이다 [20, 21]. 그러나 난개발과 오염, 인위적 훼손, 자연재앙에 의해 사구지역이 훼손되거나 사라지고 있기 때문에 전세계적으로 해안사구의 보존에 심혈을 기울이고 있다 [18, 24].

훼손된 사구의 복원은 여러가지 인위적인 방법이 사용될 수 있지만, 경관적 특성을 고려하여 친환경적인 복원이 많

이 이루어지고 있다. 그러나 특이적 환경 조건 때문에 식물을 이용한 환경친화적인 사구 안정화에 관한 연구는 주로 온대지방에서 제한적으로 연구되고 있다 [30, 31]. 또한, 전자수용체, 탄소와 같은 에너지원과 영양물질이 결핍된 환경에서는 식물 성장뿐만 아니라 미생물 활성화에도 저해를 받기 때문에 이들 요소들의 조절은 훼손된 해안사구 복원의 성공여부를 좌우한다 [1].

최근에는 식물상 복원 시 식물의 발아, 개화 및 성장에 대한 연구와 식물과 공생 및 공존하는 미생물에 관한 연구가 진행되고 있으며 [10, 13, 14, 15], 새로운 균주의 개발 등으로 사구식물의 안정화를 도모하고 있다 [13]. 그 중 식물의 근권세균은 항생물질을 생산하여 식물병원균으로부터 식물을 보호하거나, 대기 중의 질소가스를 고정하여 식물에게 질소원을 공급하거나, 식물의 성장을 조절하는 호르몬을 생산하거나, 여러 대사를 통하여 토양 내의 인과 같은 미네랄을 가용화 시켜 식물 흡수하기 쉽게 도와주는 등의 영향을 미친다 [12, 16]. 식물의 성장과 관련된 근권세균에는 식물에게 해로운 작용을 하는 유해 근권세균(deleterious rhizobacteria;

\*Corresponding author

Tel: +82-31-220-2614, Fax: +82-31-220-2533

E-mail: ley@suwon.ac.kr

DRB)과 식물에 이로운 영향을 미치는 식물 성장 촉진 근권 세균(plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR)으로 나누어진다[23]. PGPR은 Kloepper과 Schroth에 의해 처음으로 정의 되었으며, 이는 토양에 있는 세균이 식물 근권에서 식하면서 식물의 성장을 증진 시키는 세균을 의미한다[12]. 이들은 식물 뿌리에 흡착하거나, 뿌리에 군락을 형성하고 뿌리 삼출물을 이용하여 성장하게 된다.

이에 본 연구에서는 해안사구에서 서식하고 있는 6종의 토착식물 중에 식물성장촉진 능력이 있으면서 동시에 염분에 강한 내성을 가지는 근권세균을 분리하여 colony library를 구축 하였고, 그들의 식물성장촉진 활성을 확인하여 염분내성능력과 식물성장촉진능력의 상관관계를 분석하였다.

## 재료 및 방법

### 시료 채취

내염성이 강하고 식물성장촉진 능력이 있는 근권세균을 분리하기 위해 경기도 화성시의 궁평항의 사구지역에서 서식하고 있는 속속이풀(*Rorippa islandica*), 소리쟁이(*Rumex crispus*), 사초(*Cyperaceae*), 쭉(*Artemisia princeps var. orientalis*), 나리류(*Lilium sp.*), 그리고 별꽃(*Stellaria media*)의 근권토양을 식물체와 함께 채취하여 실험실로 옮겨 4°C에서 보관하였다. 본 식물은 아주대학교 최홍근 교수님의 도움으로 동정이 이루어졌다.

### 식물의 뿌리와 근권토양으로부터 colony library구축

사구토양에서 채취한 식물의 뿌리(rhizoplane, RP)와 근권토양(rhizosphere soil, RS)을 대상으로 각각의 시료에 서식하고 있는 세균의 library를 다음과 같이 준비하였다. 뿌리는 멸균수로 차례로 처리한 다음, 막자 사발을 이용하여 각 식물의 뿌리 1 g을 분쇄하였다. 여기에 멸균수 9 mL을 넣고 30 분간 250 rpm으로 교반하고 30분간 정치 한 후, 상등액을 멸균수로 희석( $10^0$ - $10^6$ ) 하였다. 각각의 희석용액을 LB-agar 배지(Difco, USA)에 100 µL씩 접종하여 도말 한 후, 30°C에서 3일간 배양하였다. 배양된 colony 중에서 모양 및 색 등 형태적 특성에 따라 세균을 선별한 후 새로운 배지에 옮겼다. 속속이풀의 근권에서는 6개, 뿌리에서는 8개, 소리쟁이의 근권에서는 4개, 뿌리에서는 7개, 사초의 근권토양에서는 12개, 뿌리에서는 10개, 쭉의 근권토양에서는 8개, 뿌리에서는 6개, 나리류의 근권토양에서는 8개, 뿌리에서는 13개, 별꽃의 근권토양에서는 5개 그리고 뿌리에서는 8개로 총 95개 colony가 선별 되었다.

### 내염성 평가

선별된 균주의 염분 내성을 평가하기 위해 LB broth 10 mL에 colony를 접종 한 후, 1일간 전배양하였다. NaCl 농도가 0.0, 4.0, 그리고 8.0%가 되도록 주입한 LB broth를 제

조한 후 10 mL culture tube에 배지 3 mL씩 분주한 후 전배양액을 5%가 되도록 접종하였다. 접종 후, shaking incubator에서 30°C, 180 rpm으로 4일간 배양하며, 매일 시료를 채취하여 600 nm 파장의 흡광광도계(HACH, USA)에서 흡광도를 측정하여 colony의 성장 여부를 평가하였다.

### PGPAs의 평가

분리한 colony들을 대상으로 식물성 호르몬인 IAA 생산능을 다음과 같은 방법으로 평가하였고, 모든 실험은 3반복하였다. 0.5 mg/mL의 tryptophane을 첨가한 DF 배지[5] 5 mL에 균주를 접종하여 30°C에서 180 rpm으로 5일간 배양하였다. DF 배지의 조성은 다음과 같다:  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ , 2 g;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 4 g;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ , 15 g;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 0.2 g;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1.0 mg; B (as  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ), 10 µg; Mn (as  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ), 11 µg; Zn (as  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ), 125 µg; Cu (as  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ), 78 µg; Mo (as  $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ), 17 µg; 증류수, 1 L. 배양이 진행되는 과정에서 채취한 배양액과 Salkowski's reagent (진한  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 150 mL; 증류수, 250 mL; 0.5 M  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , 7.5 mL)를 1:2(v/v)의 비율로 섞은 후 상온에서 20분간 정치하였다. 분홍색으로 발색되는 정도는 530 nm의 파장영역에서 흡광광도계(HACH, USA)를 이용하여 측정하였다. 3-Indoleacetic acid ( $\text{C}_8\text{H}_6\text{N}-\text{CH}_2\text{COOH}$ , SHOWA chemical Co., Japan)를 이용하여 동일한 방법으로 실험을 수행한 후 검량선을 작성하여 OD값을 IAA 농도로 환산하였다.

ACC deaminase 활성은 다음과 같은 방법으로 평가하였다(실험에 사용된 배지는  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  대신 3 mM의 ACC를 넣은 DF medium이다). 분리된 각각의 colony들을 배지에 접종하여 30°C에서 180 rpm으로 48시간 동안 배양하였다. 배양기간 동안 흡광광도계를 이용하여 4시간마다 600 nm에서 흡광도를 측정하였다[4].

Siderphores 합성능은 chrom azurol S (CAS) blue agar plate assay 방법을 이용하였다 [28]. siderphores indicator인 dark-blue dye solution의 제조방법은 다음과 같다: 50 mL 증류수에 60.5 mg의 CAS를 녹인 다음 1 mM  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 과 10 mM HCl이 첨가된 iron (III) solution을 10 mL 첨가한다. 이후 40 mL 증류수에 72.9 mg HDTMA를 녹인 solution을 위의 용액에 첨가하여 멸균한다. medium solution은 750 mL 증류수에 15 g agar, 30.24 g PIPES를 넣은 후 10×MM9 salts 용액(60 g/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; 0.9 g/L  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ; 5 g/L NaCl; 10 g/L  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ) 100 mL, 50%(w/w) NaOH solution 6 mL를 넣고 멸균하여 50°C로 식힌다. 이후 각각 멸균하여 준비된 30 mL casamino acids (10%, w/v), 10 mL glucose (20%, w/v), 1 mL thiamine·HCl (0.2%, w/v), 그리고 3 mL L-tryptophan (1%, w/v)를 위의 용액에 첨가한다. 위의 방법에 따라 1 L의 CAS agar가 제조된다.

각각의 세균을 CAS blue agar plate에 접종하여 30°C에서 24시간 동안 배양하였으며, colony 주변에 orange halo가

형성되는 경우를 siderophores 합성 양성으로 평가하였다.

**통계 분석**

각각의 근권토양과 식물뿌리 조직으로부터 분리한 세균의 식물 성장 촉진 능력(plant growth promoting ability, PGPA)의 특성을 내염능의 차이에 따라 비교하기 위하여 이변량 상관관계수(bivariate correlation coefficient) 분석을 수행하였다(SPSS 14.0K).

**결과 및 고찰**

**염분 내성 평가**

분리한 colony들을 대상으로 염분 내성도를 평가한 결과를 Table 1에 나타내었다. 총 95개의 균주 중 4.0%의 염분이 함유된 배지에서 58개의 균주가 성장하였다. 그 중에서 OD값이 0.5 이상인 균주는 40개였다. 또한, 8.0%의 염분이 함유된 배지에서는 22개의 균주가 성장하였고 그 중에서 10개의 균주가 0.5 이상 성장하였다. 공평향 사구에서 채취한 시료의 염분 농도를 측정된 결과 4.0%의 염분을 가지고 있었기 때문에 분리된 colony의 50% 이상이 염분에 강한 내성을 가지고 있다고 판단된다. 또한 근권토양과 뿌리에서 서식하는 균주 중 4.0%의 염분 조건에서 OD 0.5 이상 성장을 보인 균주가 각각 21개와 19개로 서식지에 별 영향을 받지 않고 비슷하게 나타났다. 이러한 경향은 8.0%의 염분조건에서도 마찬가지였다. 이는 식물이 서식하는 환경이 이미 염분에 장기간 노출되었고, 그로 인해 미생물의 서식지인 근권토양과 식물뿌리에서 염분에 강한 내성을 가지는 균이 모두 존재하는 것으로 사료된다.

**식물성장촉진능력평가**

6종의 식물 근권토양과 뿌리로부터 분리한 95개의 근권세균 colony들을 대상으로 식물성장촉진 능력을 비교 평가하였다. Fig. 1에서는 식물성 호르몬인 IAA 생산능을 가지는 대표적인 균을 선별하고 도시하였다. 균주에 따라 0.4~84.7 mg·L<sup>-1</sup>의 범위에서 IAA를 생산하였고 그 중에서 JS2RP2 균주는 84.7±2.1 mg·L<sup>-1</sup>로 다른 균주에 비해 많은 양의 IAA를 생산하였다. 소리쟁이에서 분리한 균주 중 IAA 생산능을 가진 균주는 18.2% (2/11)로 가장 높은 비율을 보였으며, 나리류 (9.5%), 사초과 (9.1%)의 순서로 높았다(Table 2). 이를 다시 근권토양(RS)과 뿌리(RP)로 나누어 비교하였을 경우에는 JS2RP가 28.6% (2/7)로 가장 높았고, SH1RP가 7.7% (1/13)로 가장 낮았다. 전체적으로 근권토양에서 분리된 균주 중 IAA를 생산할 수 있는 비율은 7.0% (3/43)였고, 뿌리에서 분리된 균주에서는 5.8% (3/52)로 서로 비슷하였다.

IAA는 식물성 호르몬으로 식물이 뿌리를 통해 흡수하면서 식물의 성장을 촉진하는 물질이다[7]. Gutierrez Mañero의 연구에서는 분리된 근권세균이 생산해낸 IAA 농도의 농도

**Table 1. Cell growth under salt condition.**

Sample		Salt concentration(%)	
Source plant of PGPRs	PGPR.	4.0	8.0
<i>Rorippa islandica</i>	JS1RS 3	0.917 ± 0.002	0.047 ± 0.001
	JS1RS 4	0.950 ± 0.005	0.001 ± 0.000
	JS1RP 1	1.047 ± 0.003	1.346 ± 0.005
	JS1RP 2	1.114 ± 0.002	0.303 ± 0.002
	JS1RP 3	1.034 ± 0.003	0.001 ± 0.000
	JS1RP 4	0.915 ± 0.004	0.060 ± 0.000
<i>Rumex crispus</i>	JS1RP 6	1.017 ± 0.002	0.027 ± 0.000
	JS2RS 2	0.723 ± 0.001	0.034 ± 0.000
	JS2RS 3	0.846 ± 0.000	0.000 ± 0.000
	JS2RS 4	0.767 ± 0.002	0.008 ± 0.000
	JS2RP 1	0.756 ± 0.013	0.000 ± 0.000
	JS2RP 2	0.870 ± 0.005	0.776 ± 0.004
<i>Cyperaceae</i>	JS2RP 3	0.543 ± 0.002	0.002 ± 0.000
	JS2RP 4	0.745 ± 0.004	0.757 ± 0.000
	JS2RP 6	0.634 ± 0.002	0.040 ± 0.000
	MH1RS 1	1.206 ± 0.000	0.612 ± 0.001
	MH1RS 2	1.136 ± 0.003	0.036 ± 0.000
	MH1RS 3	1.175 ± 0.000	0.031 ± 0.000
<i>Artemisia princeps var. orientalis</i>	MH1RS 4	1.261 ± 0.004	0.162 ± 0.001
	MH1RS 6	0.549 ± 0.000	0.095 ± 0.000
	MH2RS 1	0.926 ± 0.000	0.975 ± 0.003
	MH2RS 3	0.406 ± 0.003	0.194 ± 0.003
	MH2RS 4	0.593 ± 0.001	0.772 ± 0.001
	MH2RS 5	1.006 ± 0.001	0.137 ± 0.001
<i>Lilium sp.</i>	MH2RS 6	0.681 ± 0.002	0.211 ± 0.001
	MH2RP 1	1.007 ± 0.002	1.015 ± 0.002
	MH2RP 3	1.077 ± 0.002	0.184 ± 0.001
	SH1RS 1	1.051 ± 0.051	1.301 ± 0.002
	SH1RS 2	1.026 ± 0.002	0.04 ± 0.000
	SH1RS 3	1.907 ± 0.006	0.783 ± 0.001
<i>Stellaria media</i>	SH1RS 4	1.784 ± 0.000	0.098 ± 0.000
	SH1RP 2	1.027 ± 0.002	0.017 ± 0.000
	SH1RP 4	0.771 ± 0.001	0.012 ± 0.000
	SH1RP 8	1.633 ± 0.001	0.023 ± 0.000
	SH1RP 9	0.625 ± 0.001	0.734 ± 0.001
	SH1RP 10	0.585 ± 0.006	0.021 ± 0.002
<i>Stellaria media</i>	SH1RP 11	1.325 ± 0.001	0.125 ± 0.013
	SH2RS 1	1.599 ± 0.373	0.015 ± 0.001
	SH2RS 2	1.057 ± 0.002	0.340 ± 0.002
	SH2RP 6	0.168 ± 0.017	0.157 ± 0.001

RS, rhizosphere soil; RP, rhizoplane; cell growth (OD at 600 nm)

가 1.736 mg·L<sup>-1</sup>와 1.790 mg·L<sup>-1</sup>였고[9], *Brassica campestris* ssp *pekinensis*의 근권세균은 6.02~29.75 mg·L<sup>-1</sup>의 IAA를 생산할 수 있었으며[25], 돌피(*Echinochloa crus-galli*)에서 분리한 *Serratia* sp. K1RP-49는 38.0 µg·mg<sup>-1</sup>의 IAA를 생산하는 것으로 보고되었다[17]. 본 연구에서 분리한 JS2RP2

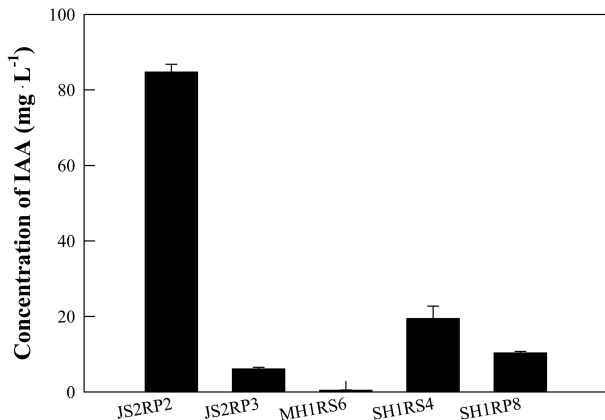


Fig. 1. IAA production ability of the representative PGPR.

균주는 지금까지 보고된 균주들에 비해 월등히 많은 양의 IAA ( $84.76 \pm 2.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )를 생산하였고(Fig. 1) 동시에 염분에 강한 내성을 가지고 있었다(Table 1). 또한, JS2RP3, SH1RS4, 그리고 SH1RP8도  $6.1 \pm 0.5 \sim 19.4 \pm 3.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 으로 높은 농도의 IAA를 생산하였고(Fig. 1) 동시에 염분에 강한 내성을 가지고 있었다(Table 1). 따라서 이들 균주는 사구토양 식생의 성장을 촉진할 수 있는 가능성을 가진 미생물이라 사료된다.

95개의 균주를 대상으로 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC)를 제거하는 ACC deaminase 활성을 비교 평가하였다. 실험한 균주 중 JS1RS3, MH1RS8, 그리고 SH1RP8가  $0.40 \pm 0.00$ ,  $0.44 \pm 0.00$ , 그리고  $0.44 \pm 0.00$ 으로 ACC deaminase 활성이 가장 우수하였다(Fig. 2). 또한, 각 식물 별로 ACC deaminase 활성을 가지고 있는 PGPR의 비율을 비교하면 소리쟁이가 45.5% (5/11)로 가장 높았으며, 그 다음으로는 속속이풀로 30% (3/10)였고, 쭉, 나리류, 사초과가 비슷한 수준으로 각각 28.6% (4/14), 28.6% (6/21) 그리고 27.3% (6/22) 이었다. 별꽃의 경우, ACC deaminase 활성을 지닌 세균의 비율은 7.7% (1/13)로, 실험한 시료 중에서 가장 낮았다(Table 2). 근권토양과 뿌리로 나누어 비교하였을 경우, JS2RS가 50% (2/4)로 매우 높은 비율을 나타내었고, SH1RP가 0% (0/8)로 가장 낮았다. 전체적으로 근권토양에서는 32.6% (14/43), 뿌리에서는 21.2% (11/52)로 ACC deaminase 활성을 가지는 PGPR의 비율은 뿌리에서보다 근권토양에서 더 높은 것으로 나타났다.

에틸렌은 식물성장에 중요한 요소이며[3], 식물이 성장하는 동안 과도한 에틸렌에 노출되면 그로 인한 스트레스로 식물의 성장이 저해된다[16]. PGPR은 ACC를 질소원으로 이용하여 뿌리 주변의 ACC농도를 조절하고, 에틸렌의 전구체인 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC)를 분해하여 에틸렌 생성으로 인한 식물의 스트레스를 감소시켜준다[26, 27]. 기존 연구자의 보고에 의하면 콩과 식물의 근권에서 분리한 세균 중 ACC활성을 가지고 있는 근권세균은 6.0% (7/

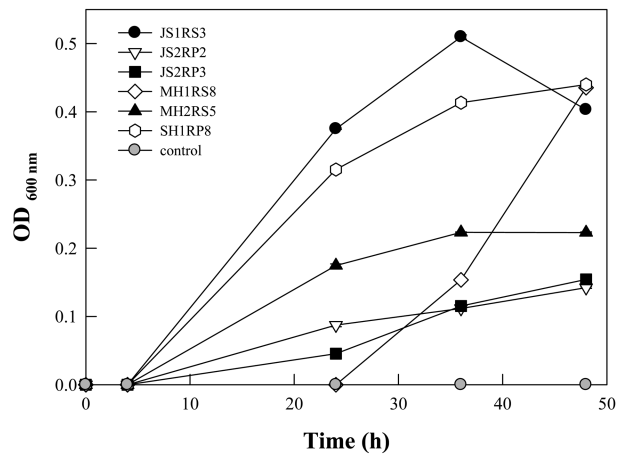


Fig. 2. ACC deaminase activity of the representative PGPR.

116)였고[2], 벼과 식물에서 분리한 근권세균은 5% (5/84)였다[4]. 본 연구에서도 식물로부터 분리한 총 95개의 근권세균 중 25개로 26%의 근권세균이 ACC deaminase 활성을 가지고 있는 것으로 나타났다(Table 2). 이러한 결과는 기존에 보고된 연구 보다 높은 비율이었다.

또한, 식물 종류에 따라서는 10~50%의 근권세균이 ACC deaminase 활성을 가지고 있었고 서식지 별로는 근권토양에서 분리된 균주(32.6%)가 식물의 뿌리에서 분리된 균주(32.2%)에 비해 큰 차이가 없었다. 이는 에틸렌이 생산되는 기작과 깊은 관계가 있다. 에틸렌은 식물체 내에서 L-methionine이 S-adenosyl-L-methionine (SAM)과 ACC의 중간대사산물을 거친 후, 최종 대사산물인 에틸렌으로 분해된다[32]. L-methionine이 SAM으로 전환되는 대사는 SAM synthetase에 의하여 이루어지며, 이렇게 생성된 SAM은 다시 ACC synthase에 의해서 ACC와 5'-methylthioadenosine으로 가수분해 된다[8]. ACC는 ACC oxidase에 의해 최종적으로 ethylene, CO<sub>2</sub>, cyanide로 분해된다[11]. 이때 에틸렌의 중간대사산물인 ACC는 뿌리삼출물이 되어 식물 밖으로 배출되게 된다. 이러한 이유에서 근권토양과 뿌리 안에 ACC deaminase 활성을 가진 근권세균이 비슷하게 존재하는 것으로 생각된다.

식물의 성장에 필수 원소인 철을 공급하는 역할을 수행하는 siderphores합성능력에 대해 평가하였다. Siderphores합성능은 양성으로 음성으로 구분하여 균주 주변에 orange halo가 생기면 양성으로 평가하였다.

Siderphores 합성능을 가지고 있는 PGPR의 비율을 비교하면 나리류에서 분리된 균주가 47.6% (10/21)로 가장 높았으며, 소리쟁이, 속속이풀, 별꽃, 사초과 그리고 쭉에서 분리된 균주의 순서로 높았다(각각 45.5%, 35.7%, 30.8%, 27.3% 그리고 21.4%)(Table 2). 식물 별 근권토양에서 분리된 균주와 뿌리에서 분리된 균주로 비교하였을 경우에는 JS1RP, JS2RS, SH1RS가 각각 50%(각각 4/8, 2/4, 4/8)로

**Table 2. Comparison of plant growth-promoting activity (PGPA) of bacteria isolated from the rhizosphere soil (RS) and rhizoplane (RP) associated with plants.**

Plant	No. of bacteria w/o PGPA	No. of bacteria with single PGPA			No. of bacteria with binary PGPA			No. of bacteria with triple PGPA	
		IAA	ACC <sub>d</sub>	Sid	IAA+ACC <sub>d</sub>	IAA+Sid	ACC <sub>d</sub> +Sid	IAA+ACC <sub>d</sub> +Sid	
JS1 (%)	RS	4/6 (66.6)	0/6 (0.0)	1/6 (16.7)	2/6 (33.3)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	1/6 (16.7)	0/6 (0.0)
	RP	4/8 (50.0)	0/8 (0.0)	2/8 (25.0)	4/8 (50.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	2/8 (25.0)	0/8 (0.0)
JS2 (%)	RS	2/4 (50.0)	0/4 (0.0)	2/4 (50.0)	2/4 (50.0)	0/4 (0.0)	0/4 (0.0)	2/4 (50.0)	0/4 (0.0)
	RP	3/7 (42.8)	2/7 (28.6)	3/7 (42.9)	4/7 (57.1)	0/7 (0.0)	0/7 (0.0)	1/7 (14.3)	2/7 (28.6)
MH1 (%)	RS	4/12 (33.3)	2/12 (16.7)	5/12 (41.7)	5/12 (41.7)	0/12 (0.0)	0/12 (0.0)	0/12 (0.0)	2/12 (16.7)
	RP	9/10 (90.0)	0/10 (0.0)	1/10 (10.0)	1/10 (10.0)	0/10 (0.0)	0/10 (0.0)	1/10 (10.0)	0/10 (0.0)
MH2 (%)	RS	5/8 (62.5)	0/8 (0.0)	2/8 (25.0)	2/8 (25.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	1/8 (12.5)	0/8 (0.0)
	RP	3/6 (50.0)	0/6 (0.0)	2/6 (33.3)	1/6 (16.7)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)	0/6 (0.0)
SH1 (%)	RS	4/8 (50.0)	1/8 (12.5)	3/8 (37.5)	4/8 (50.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	2/8 (25.0)	1/8 (12.5)
	RP	6/13 (46.1)	1/13 (7.7)	3/13 (23.1)	6/13 (46.2)	0/13 (0.0)	0/13 (0.0)	1/13 (7.7)	1/13 (7.7)
SH2 (%)	RS	3/5 (60.0)	0/5 (0.0)	1/5 (20.0)	2/5 (40.0)	0/5 (0.0)	0/5 (0.0)	1/5 (20.0)	0/5 (0.0)
	RP	6/8 (75.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	2/8 (25.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)	0/8 (0.0)
Sum (%)	RS	22/43 (51.2)	3/43 (7.0)	14/43 (32.6)	17/43 (39.5)	0/43 (0.0)	0/43 (0.0)	7/43 (16.3)	3/43 (6.9)
	RP	31/52 (59.6)	3/52 (5.8)	11/52 (21.2)	18/52 (34.6)	0/52 (0.0)	0/52 (0.0)	5/52 (9.6)	3/52 (5.8)

IAA, indole acetic acid production  
 ACC<sub>d</sub>, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase  
 Sid, siderphore(s) synthesis.

가장 높았으며, MH1RP가 10% (1/10)로 가장 낮았다. 전체적으로 비교하였을 때에는 siderphores 합성능을 가지고 있는 PGPR의 비율은 근권토양에서 39.5% (17/43), 뿌리에서 34.6% (18/52)로 RS가 조금 더 높았다.

일반토양에서 분리한 근권세균에서는 대략 3.4 (4/116) ~13.3% (6/45)의 siderphores 합성능을 가지고 있는 반면에 [3, 25], 본 연구에서 분리한 균주는 높은 분포율을 보였다. 이는 바닷물에는 일반적으로 철분이 적고 해안 사구에는 유효한 형태의 철이 적기 때문에 [6] 일반토양에 비해 siderphores 합성능을 가지는 근권세균이 많을 것이라고 사료된다.

IAA 생산능, ACC deaminase 활성 및 siderphore(s) 합성

능을 동시에 가진 근권세균은 소리쟁이의 뿌리로부터 분리된 세균(28.6%)에서 가장 높았다. 서식지별로 분리하여 PGPA 3가지를 모두 가지고 있는 근권세균은 근권토양(RS)은 6.9% 그리고 식물뿌리는 5.8%로 나타났다.

**식물성장촉진 능력과 내염능력 간의 상관관계분석**

6종의 식물 근권토양과 뿌리조직에서 분리한 세균 중에서 PGPA를 가진 세균을 대상으로 각각의 식물성장 촉진능력과 내염성간의 상관관계 분석을 수행하였다(Table 3). 그 결과 ACC deaminase 활성과 siderphore(s) 합성능 사이에는 양의 상관관계를 형성하였다( $r=0.605$ ,  $p<0.037$ ). 이는 ACC deaminase

**Table 3. Relationship among IAA production, ACC deaminase, siderophore synthesis abilities, and salt tolerance of the rhizobacteria.**

		IAA	ACC <sub>d</sub>	Sid	Salt <sub>t</sub>
IAA	r	1			
	p	-			
ACC	r	0.530	1		
	p	0.076			
Sid	r	0.574	0.605*	1	
	p	0.051	0.037		
Salt <sub>t</sub>	r	0.361	0.762**	0.771**	1
	p	0.250	0.004	0.003	-

Correlation coefficient analysis was carried out for significance at the 1% level ( $p < 0.01^{**}$ ).

Correlation coefficient analysis was carried out for significance at the 5% level ( $p < 0.05^*$ ).

IAA, indole acetic acid production

ACC<sub>d</sub>, 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase

Sid, siderophore(s) synthesis

Salt<sub>t</sub>, salt tolerance

r, Pearson correlation coefficient

p, probability.

활성이 있는 세균은 동시에 siderophore(s) 합성능을 가질 확률이 높다는 것을 의미한다. 또한, 염분 내성능과 ACC deaminase 활성, 염분 내성능과 siderophore(s) 합성능 사이에도 양의 상관관계를 형성하였다( $r=0.762$ ,  $p < 0.004$ ,  $r=0.771$ ,  $p < 0.003$ , 각각).

일반적으로 해안사구는 건조하고 높은 염농도를 가지고 있기 때문에 식물이 성장하는데 높은 스트레스를 받게 되며, 환경스트레스에 노출되면 식물 호르몬인 에틸렌이 과도하게 합성하게 된다[19]. 그러므로 염분에 내성을 가지는 동시에 ACC deaminase 활성을 가지는 세균이 존재할 확률이 높게 나타난 것으로 판단된다. 또한, 바닷물에는 철분이 부족하기 때문에 식물 성장의 필수 영양소인 철을 획득하기 위한 siderophore(s) 합성능을 가지며, 동시에 내염능을 가지는 세균이 존재할 확률이 높게 나타난 것으로 판단된다.

## 요 약

본 연구에서는 경기도 궁평항 지역의 해안사구에 서식하고 있는 토착식물 6종(*Rorippa islandica*, *Rumex crispus*, *Artemisia princeps* var. *orientalis*, *Lilium* sp. *Stellaria media*, and *Gramineae*)의 식물 뿌리와 근권토양으로부터 colony library를 구축하여 식물성장촉진 능력과 내염능을 평가하였다. 분리한 근권세균 중 4.0%의 염분이 존재하는 환경에서 50% 이상의 세균이 염분에 강한 내성을 가지고 있었다. 95개의 균주를 대상으로 식물성호르몬인 IAA생산능을 가지는 균주는 근권토양에서는 13.9%, 식물뿌리에서는 7.6%였으며,

1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC)를 제거하는 ACC deaminase 활성을 가진 균주는 근권토양에서는 55.8%, 뿌리에서는 36.6%였다. 또한, Siderphores 합성능을 가지고 있는 균주는 근권에서 62.7%, 뿌리에서는 50%를 차지하였다. 식물성장촉진능과 내염능을 가진 세균을 대상으로 상관관계를 분석한 결과, ACC deaminase 활성과 siderophore(s) 합성능 사이에는 양의 상관관계를 형성하였고( $r=0.605$ ,  $p < 0.037$ ), 염분 내성능과 ACC deaminase 활성, 염분 내성능과 siderophore(s) 합성능 사이에도 양의 상관관계를 형성하였다( $r=0.762$ ,  $p < 0.004$ ,  $r=0.771$ ,  $p < 0.003$ , 각각).

## ACKNOWLEDGEMENTS

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

## REFERENCES

- Boopathy, R. 2004. Factors limiting bioremediation technologies(review paper). *Bioresour. Technol.* **74**: 63-67.
- Cattelan, A. J., P. G. Hartel, and J. J. Fuhrmann. 1999. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean grown. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **63**: 1670-1680.
- Deikman, J. 1997. Molecular mechanisms of ethylene regulation of gene transcription. *Physiol. Plant* **100**: 561-566.
- Dell'Amico, E., L. Cavalca, and V. Andreoni. 2005. Analysis of rhizobacterial communities in perennial *Graminaceae* from polluted water meadow soil, and screening of metal-resistant, potentially plant growth-promoting bacteria. *FEMS Microbiol. Ecol.* **52**: 153-162.
- Dworkin, M. and J. W. Foster. 1958. Experiments with some microorganism which utilize ethane and hydrogen. *J. Bacteriol.* **75**: 592-603.
- Flannery, T. 2006. The history and future impact of climate change. pp. 131. The weather makers. Text publishing company PTY Ltd., Melbourne, Australia.
- Frankenberger, W. T. Jr, W. Brunner. 1983. Method of detection of auxin-indole-3-acetic acid in soil by high performance liquid chromatography. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **47**: 237-241.
- Giovanelli, J., S. H. Mudd, and A. H. Datko. 1980. Sulfur amino acids in plants, pp. 453-505. In: Mifflin, B. J. (ed.), Amino acids and derivatives. The biochemistry of plants: a comprehensive treatise. Vol. 5, Academic Press, New York, U.S.A.
- Gutierrez Mafiero, E. J., N. Acero, J. A. Lucas, and A. Probanza. 1996. The influence of native rhizobacteria on European alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) growth. *Plant and Soil* **182**: 67-74.
- Hwang, J. S., Y. H. You, J. J. Bae, S. A. Khan, J. G. Kim, and Y. S. Choo. 2011. Effects of endophytic fungal secondary

- metabolites on the growth and physiological response of *Carex kobomugi* Ohwi. *J. Coast Res.* **27**: 544-548.
11. John, P. 1991. How plant molecular biologists revealed a surprising relationship between two enzymes, which took an enzyme out of a membrane where it was not located, and put it into the soluble phase where it could be studied. *Plant Mol. Biol. Rep.* **9**: 192-194.
  12. Johnson, D. L., D. R. Anderson, and S. P. McGrath. 2005. Soil microbial response during the phytoremediation of a PAH contaminated soil. *Soil Biol. Biochem.* **37**: 2334-2336.
  13. Khan, S. A., M. Hamayun, H. J. Yoon, H. Y. Kim, S. J. Suh, S. K. Hwang, J. M. Kim, I. J. Lee, Y. S. Choo, U. H. Yoon, W. S. Kong, B. M. Lee, and J. G. Kim. 2008. Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*. *BMC Microbiol.* **8**: 231.
  14. Khan, S. A., M. Hamayun, H. Y. Kim, H. J. Yoon, I. J. Lee, and J. G. Kim. 2009. Gibberellin production and plant growth promotion by a newly isolated strain of *Gliomastix murorum*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **25**: 829-833.
  15. Khan, S. A., M. Hamayun, H. Y. Kim, H. J. Yoon, J. C. Seo, Y. S. Choo, I. J. Lee, S. D. Kim, I. K. Rhee, and J. G. Kim. 2009. A new strain of *Arthrinium phaeospermum* isolated from *Carex kobomugi* Ohwi is capable of gibberellins production. *Biotechnol. Lett.* **31**: 283-287.
  16. Koo, S. Y., and K. S. Cho. 2006. Interaction between plants and rhizobacteria in phytoremediation of heavy metal-contaminated soil. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **2**: 83-93.
  17. Koo, S. Y., and K. S. Cho. 2011. Characterization of *Serratia* sp. K1RP-49 for Application to the Rhizoremediation of Heavy Metals. *Environ. Earth Sci.* **1**: 3-13
  18. Lee, M. S., J. O. Do, M. S. Park, S. Jung, K. H. Lee, K. S. Bae, S. J. Park, and S. B. Kim. 2006. Dominance of *Lysobacter* sp. in the rhizosphere of two coastal sand dune plant species, *Calystegia soldanella* and *Elymus mollis*. *Antonie Leeuwenhoek* **90**: 19-70.
  19. Lim, J. H., Kim, J. G., and Kim, S. D. 2008. Selection of the auxin and ACC deaminase producing plant growth promoting rhizobacteria from the coastal sand dune plant. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* **36**: 268-275.
  20. Martinez, M L., P. Moreno-Casasola, and G. Vazquez. 1997. Effects of disturbance by sand movement and inundation by water on tropical dune vegetation dynamics. *Can. J. Bot.* **75**: 2005-2014.
  21. Maun, M. A. 1994. Adaptations enhancing survival and establishment of seedling on coastal dune systems. *Vegetatio* **111**: 59-70.
  22. Maun, M. A. and P. R. Baye. 1989. The ecology of *Ammophila breviligulata* Fern. On coastal dune ecosystem. *CRC Cr. Rev. Aquat. Sci.* **1**: 661-681.
  23. Nehl, D. B., S. J. Allen, and J. F. Brown. 1996. Deleterious rhizosphere bacteria an intergrating perspective(review). *Appl. Soil Ecol.* **5**: 1-20.
  24. Opelt, K. and G. Berg. 2004. Diversity and antagonistic potential of bacteria associated with bryophytes from nutrient-poor habitats of Baltic sea coast. *Appl. Environ. Microbiol.* **70**: 6569-6579.
  25. Poonguzhali, S., M. Madhaiyan, and T. Sa. 2006. Cultivation-dependent characterization of rhizobacterial communities from field grown Chinese cabbage *Brassica campestris* ssp *pekinensis* and screening of traits for potential plant growth promotion. *Plant Soil* **286**: 167-180.
  26. Reed, M. L. E., and B. R. Glick. 2005. Plant growth-promoting bacteria facilitate the growth of the common reed *Phragmites australis* in the presence of copper or polycyclic aromatic hydrocarbons. *Curr. Microbiol.* **51**: 425-429.
  27. Safronova, V. I., V. V. Stepanok, G. L. Engqvist, Y. V. Alekseyev, and A. A. Belimov. 2006. Root-associated bacteria containing 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase improve growth and nutrient uptake by pea genotypes cultivated in cadmium supplemented soil. *Biol. Fertil. Soils* **42**: 267-72.
  28. Schwyn, B. and J. B. Neilands. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Anal. Biochem.* **160**: 47-56.
  29. So, J. H., D. J. Kim, J. H. Shin, C. B. Yu, and I. K. Rhee. 2009. Isolation and characterization of *Bacillus cereus* A-139 producing auxin from east coast sand dunes. *Kor. J. Environ. Agr.* **28**: 447-452.
  30. Sylvia, D. M. 1989. Nursery inoculation of sea oats with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and outplanting performance of Florida beaches. *J. Coast. Res.* **5**: 747-754.
  31. Sylvia, D. M., and M. E. Will. 1988. Establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and other microorganisms on a beach replenishment site in Florida. *Appl. Environ. Microbiol.* **54**: 348-352.
  32. Yang, S. F. and N. E. Hoffman. 1984. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants. *Annu. Rev. Plant Physiol.* **35**: 155-89.