

<https://doi.org/10.15433/ksmb.2024.16.1.001>

ISSN 2383-5400 (Online)

(단보) 한반도 고래불 해안사구에 자생하는 혼합 염생식물군락 근권세균의 분포 및 다양성 고찰 : 해안사구 보전을 위한 접근

Distribution and diversity of rhizosphere bacteria of mixed halophytes vegetation native to the Goraebul sand dune, Korea : Approaches to coastal dune conservation

박종명(orcid.org/0000-0003-3363-3325)¹, 홍지원(<https://orcid.org/0000-0002-1460-5217>)^{2,3}, 이기은⁴, 김종국^{5*}, 유영현^{6*}
 Jong Myong Park¹, Ji Won Hong^{2,3}, Ki-Eun Lee⁴, Jong-Guk Kim^{5*}, Young-Hyun You^{5*}

¹ 보건연구원, 인천상수도사업본부 맑은물연구소, 인천 21316, 대한민국

² 교수, 경북대학교 수소 및 신재생에너지학과, 대구 41566, 대한민국

³ 교수, 경북대학교 신바이오소재연구소, 대구 41566, 대한민국

⁴ 전문연구원, 국립생물자원관 생물종다양성연구과, 인천 22689, 대한민국

⁵ 교수, 경북대학교 생명과학부, 대구 41566, 대한민국

⁶ 농업연구원, 국립생물자원관 생물종다양성연구과, 인천 22689, 대한민국

¹ Public Health Research Officer, Water Quality Research Institute, Waterworks Headquarters, Incheon 21316, Korea

² Professor, Department of Hydrogen and Renewable Energy, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

³ Professor, Advanced Bio-resource Center, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

⁴ Researcher, Species Diversity Research Division, National Institute of Biological Resources, Incheon 22689, Korea

⁵ Professor, School of Life Science, Kyungpook National University, Daegu 41566, Korea

⁶ Agriculture Research Officer, Species Diversity Research Division, National Institute of Biological Resources, Incheon 22689, Korea

(Received 19 Feb 2024, Revised 3 Mar 2024, Accepted 8 Mar 2024)

Abstract : Coastal dunes must be conserved. Their native halophytes support coastal geography while their symbiotic microorganisms help vegetation thrive. The Goraebul sand dune has the largest, well-conserved dune system on the East Sea of the Korean Peninsula due to a climax mixed halophyte (*C. soldanella*, *C. kobomugi*, and *E. mollis*) vegetation support. This study identified rhizobacteria and their diversity in mixed halophyte communities unique to Goraebul. Five phyla, 12 genera, and 21 species were identified based on 16S rDNA sequences from 65 isolates. The phylum Bacillota, class Bacillota, order Bacillales, and family Bacillaceae were identified, with *Bacillus* as the dominant genus (46.15%). The richness and Shannon's diversity were higher at the species than at the genus level due to the dominance of *Bacillus*; however, various *Bacillus* species (7) were identified. Therefore, the climax mixed vegetation adapted to the Goraebul coast may exert natural selection pressure in favor of the common characteristics of *Bacillus*. However, despite this advantage, the Shannon equitability (0.86), Simpson (0.08), and Shannon diversity (2.79) indexes indicate a stable rhizosphere cluster and the climax mixed vegetation is affected by symbiotic relationships between healthy rhizosphere microbiota.

Keywords : Coastal dune, dune conservation, Goraebul Coast, halophyte, rhizosphere

서 론

해안사구는 잘 보전된 자연해빈에서 자연적으로

* Corresponding author
 Phone: 032-590-7412 Fax: 032-590-7230
 E-mail: rocer2404@korea.kr

This is an open-access journal distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>)

형성된다[4]. 해안사구에 자생하는 염생식물 군락들은 해빈의 모래유실과 그로인해 발생하는 해안선 침식을 막아내는 자연제방의 역할을 수행한다[15, 16, 18]. 또한 해수침투를 통해 지속적으로 유입되는 염분에 내성을 가지면서 그들의 근권에 Na^+ 이온을 축적하여 배후의 농경지와 거주지로 침투하는 염분을 차단한다. 또한 자생식물들은 해안과 인접한 내륙을 보호하는 완충 지대로서의 해안사구를 지탱하므로 해안사구는 결과적으로 전이지대로서의 기능을 유지하게 되며, 특히 생물다양성의 보고가 될 수 있다[21]. 고유한 환경 및 전이지대로서의 자연적 특성은 국가의 고유생물종, 희귀종 혹은 멸종위기종이 서식하기도 한다.

그러나 인간의 영역을 넓히기 위한 해빈과 식생의 인위적 제거는 오히려 해안사구의 이러한 기능을 파괴하여 인간의 거주지와 문명을 위협하는 결과를 초래했다[19, 43, 62]. 단축된 해안선과 좁아진 해빈은 해안도시를 거친 해양성 기후에 그대로 노출되도록 하여 생활 인프라를 위협하고 자연경관, 문화유산, 관광자원의 손실을 유발하며[6, 52, 65] 생물자원과 생물다양성을 감소시킨다[43]. 한반도에는 잘 보존된 몇몇 해안사구가 다수 분포되어 있었으나[52] 빠르게 소멸되고 있으며, 특히 서해안은 해안사구와 습지의 소멸로 인해 해안선의 40%가 단축되었다.

식물 근권 혹은 식물의 내생미생물은 기주식물의 성장과 번성을 촉진하고 환경스트레스에 대한 내성을 부여하여 식물의 번성에 중요한 역할을 한다[5, 48]. 해안 및 사구환경에서 유래된 다양한 공생미생물들이 이러한 효과가 있음이 입증되어 왔다[10, 25, 41]. 해양환경은 고농도의 염분을 포함한 바닷바람과 해무, 사방에서 반사되는 자외선에 노출되므로 식물생존에 척박하지만 공생미생물과의 긍정적인 상호작용을 통해 번성하며 해안사구를 지탱하는 역할을 한다[52]. 때문에 잘 보존된 해안사구의 자생 염생식물로부터 유래한 공생미생물은 해안사구의 보전 및 복원에 필요한 생물자원으로 인식되고 있다. 또한 보전사구에서의 극상 식물군락의 공생미생

물은 군집을 구성하는 종의 다양성과 복잡성을 통하여 자생식물상이 해양환경에 잘 적응하고 있음을 나타내는 간접적인 지표로 볼 수 있다. 따라서 미래 해안사구 복원 및 보전을 기약하기 위해서는 더 이상 사구파괴가 진행되기 전에 공생미생물 배양체를 확보하고, 보전지역에서의 다양성 정보를 확보해 놓는 연구가 시급하다. 따라서 한국을 포함한 여러 국가에서 연구가 지속되고 있다[10, 22, 23, 24, 37, 45, 57, 58, 69].

한반도는 삼면이 해양과 접하고 있고 부속 도서가 다수 분포하는데[31, 52], 자연사 및 지질학적 원인으로 인해 각기 차별적인 해안의 특성을 가진다. 따라서 해안사구의 형태도 다양하며, 각각의 사구환경 특성에 적합한 형태의 극상식물 군락이 자생하고 있다. 과거에는 자생하는 식물 중 별로 공생미생물 연구 및 학계 보고가 반복적으로 이루어 졌으나, 최근 사구보전의 시급성과 실제적인 적용방안을 찾기 위해 다양한 가설을 바탕으로 연구가 진행되었다. 본 연구에서는 한반도 동해안에서 가장 규모가 큰 해안사빈(4.6km, 폭 30~100m)을 보유하고, 보전 정도가 양호한 고래불 해빈[3] 사구식물을 연구대상으로 설정하였다. 고래불 해안의 전사구(foredune)와 사구저지는 각각의 독자적인 식물군락이 아닌 몇몇 식물 종 간에 공생관계로서 형성된 혼합식물군락을 통해 지지되고 있다. 이러한 형태의 극상식물 군락은 고래불 해안만의 고유한 특성에 적응한 결과이며, 따라서 미래에 유사한 특성을 가지는 사구보전을 시도한다면 개별 식물종 보다는 혼합식물군락 그 자체의 공생미생물을 확보해 두는 것이 적합할 것이다. 따라서 이들 혼합식물군락으로부터 근권세균을 생물자원으로 확보하고, 분리동정 및 다양성 정보를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

고래불 사구 염생식물 분포 특성 및 근권 채취

삼면이 해양으로 둘러싸인 한반도에 분포하는 해

빈은 각각의 고유한 환경적 특성을 보이며, 그러한 환경에 적응한 해안식물 종들이 극상군락을 이루고 있다. 동해안에 위치한 고래불 해안사구는 보존이 잘 되고 있다고 보고되고 있고[29] 이로 인하여 국가 지질공원으로 설정되어 있다. 동해안 해양환경 특성에 따라 전사구(foredune)와 2차사구 및 배후는 우점하는 식생그룹이 구분되어 있으며, 사구 내에서 가장 모래이동이 극심하고 불안정하여 변화가 많은 전사구는 갯메꽃(*Calystegia soldanella* (L.) Roem. &

Schult.), 통보리사초(*Carex kobomugi* Ohwi) 및 갯그렁(*Leymus mollis* (Trin.) Pilg.)이 우점[29]하여 모래층을 지지하는 침병 역할을 한다.

이 종들은 생태학적으로 상호 분리되지 아니하고 혼합군락을 이루고 있으며, 이 3종 염생식물이 구성하는 혼합군락의 뿌리근권 토양을 채취하였다. 실험에 사용된 군락의 채취지점은 GPS(global positioning system)로서 N 36°35′ 38.3″ E 129°24′ 22.7″ 이다(Fig. 1).

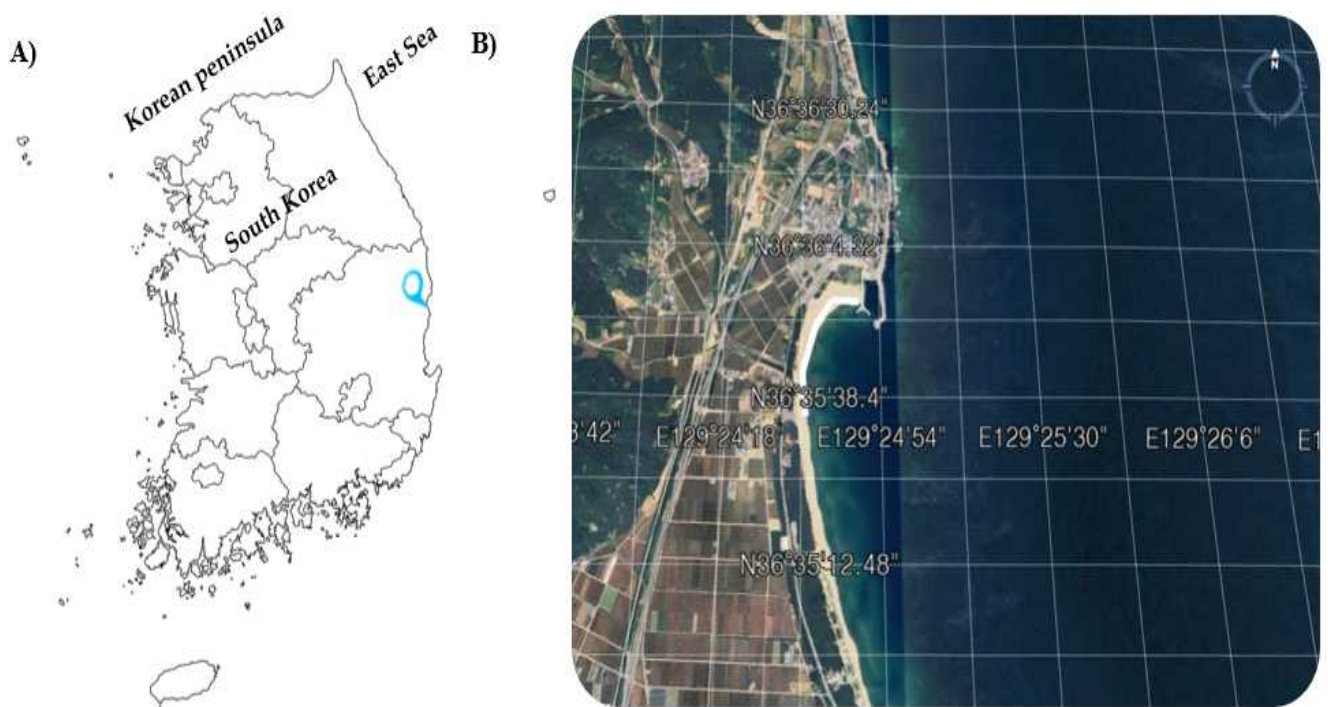


Fig. 1. Location of sampling site, A) Goraebul Coast located in the East Sea of the Korean Peninsula. B) Aerial view of sampling site. The aerial images were collected using Google Earth (version 7.3.3) and modified for this study. Sampling sites are highlighted with white line (0.80 km).

채취된 토양시료는 멸균 tube에 담아 4°C를 유지하여 실험실로 운반되었으며, 해안의 식물 근권은 중생환경과 달리 영양분의 공급이 매우 저조하며 염분의 직접적인 침투를 받음을 감안하여 멸균 생리식염수 (0.85% sodium chloride) 9 mL에 1 g의 채취한 모래시료를 40 rpm으로 30분간 교반 및 현탁하였다. 정치된 토양 현탁액 상등액을 100 µL씩 덜어내어 standard serial dilution (10⁻⁴~10⁻⁶배)을 실시하였다.

해수의 침투가 지속적으로 발생하는 근권토양임을 감안하여 0.1, 0.5, 1.0배 농도의 Luria-Bertani (LB) broth (casein enzymic hydrolysate 10.0g/L, yeast extract 5.0g/L, sodium chloride 10.0g/L, pH 7.0±0.2)에 agar의 농도가 1.5%, sodium chloride의 농도가 3.0%로 조정된 고체배지를 멸균 제조한 후 이에 연속희석한 상등액을 평판도말 하여 20°C, 5일간 배양하였다. 형성된 집락들은 형태학적 기준(모양, 크기, 색

깔) 을 기준으로 분류, 선발되었으며 각각 동일 배양 조건 하에서 획선도말을 반복하여 순수분리 되었다. 이들은 최종적으로 0.1배 LB 액체배지에서 배양한 후 $10,000 \times g$, 10 min, 4°C 에서 균체를 회수하여 25% 멸균 glycerol액을 이용해 -70°C 에 보관하였다.

16S rDNA 유전자 염기서열

분리주들을 각각 원분리 배지인 멸균된 LB 액체 배지에서 진탕배양한 후 $8,000 \times g$, 10 min, 4°C 에서 원심분리하여 균체를 수집하였다. Genomic DNA의 추출을 위해 Chelex Resin (Bio-RAD, USA)을 활용한 boiling method를 사용하였으며, 16S ribosomal DNA 염기서열 증폭을 위해 universal primer 27F (5'-AGAGTTTGTCTCCTGGCTCAG-3')를 forward primer로, 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')을 reverse primer로 사용하여 PCR을 수행하였다 [67]. PCR 조건 및 수행방법으로, 우선 initial denaturation (95°C , 15 min)을 시행 후, denaturation (95°C , 20 sec), annealing (55°C , 40 sec), elongation (72°C , 90 sec)를 30회 반복한 후 최종적으로 elongation (72°C , 5 min)을 실시하였다. 그리고 증폭된 PCR 산물은 ethanol precipitation method를 사용하여 증폭된 서열만을 얻어내기 위해 ethanol (65%) 및 sodium acetate (3 M, pH 4.6)을 각각의 PCR products에 첨가하여 상온에서 방치하였으며(15 min), 원심분리 실시하여 PCR products만을 침강하였다($2000 \times g$, 45 min). 그 후 paper towel을 이용해 상층액을 제거한 뒤 70% ethanol을 첨가한 후 원심분리 하는 과정을 7~8회 반복하였다($10,000 \times g$, 10 min). 이후 분리된 PCR products를 product purification kit (SGP27-S150 Gel & PCR Extraction system-UB)을 이용하여 정제하였으며, 이들의 염기서열 분석은 ABI 3730XL DNA analyzer (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 해독을 실시하였다.

16S rDNA 유전자 염기서열 계통분석

분리주들의 정확한 부분동정을 위해 계통분석을

수행하였다. 16S rDNA 유전자 염기서열간 similarity 확인을 위해 BLASTn tool (Basic Local Alignment Search Tool; https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LAST_SPEC=&LINK_LOC=blasttab&LAST_PAGE=blastn)를 이용하여 NCBI (National Center for Biotechnology Information)의 GenBank와 Ez-Biocloud server (<https://www.ezbiocloud.net/>)의 database로부터 유사 염기서열을 비교, 분석하였다. 분리된 DNA로부터 결정된 염기서열과 database에서 얻어진 염기서열은 유연관계 확인을 위해 16S rDNA 영역을 Clustal X program (v. 2.0.10)으로 다중정렬 후, BioEdit Sequence Alignment Editor를 사용[32]해서 염기서열을 재차 정렬하고 Mega X Neighbor-Joining Tree 기능[58]을 Kimura 2-parameter model[28]에 따른 분석법으로 계통수를 작성하였다.

분리주의 다양성 분석

근원세균의 종 다양성을 분석하였다[13, 40]. 종 풍부도의 도출에는 Margalef's richness (Dmg)[41] 및 Menhinick's index (Dmn)[66]를 적용하였고, 종 다양성 지수의 도출에는 Shannon's diversity index (H') [33, 40], Simpson's index (1-D)[33, 40] 및 Shannon's equitability index (EH)를 적용하여 혼합군락의 근원세균 다양성 지수를 분석하였다.

결과 및 고찰

한반도 해안사구 공생미생물 연구흐름 및 혼합군락 조사배경

해안사구 자생식물은 강한 해풍, 모래바람, 해수 침투, 자외선 반사 등 스트레스에 항시 노출되며, 수륙 전이지대로서 생태학적 긴장상태에 놓여있고, 서식지인 해빈토양은 항시 역동한다. 따라서 이제까지의 연구 패턴처럼 특정 식물종의 공생미생물이 연구 대상이라면, 해당 식물 군락이 다른 식물 종 군락과 어느 정도의 생태학적인 격리(거리)가 확보되어야

한다. 식물 종 간에 명확한 분리가 이루어지지 않으면 토양의 역동으로 인해 해당 식물종의 고유한 근권 미생물에 해당하는지 입증하기가 어렵기 때문이다. 이제까지의 공생미생물에 관한 연구들은 이와같이 독립형성된 식물 종 군락에 대하여 식물종 별로 조사가 이루어졌다[20, 23, 26, 34, 36, 42, 50, 52, 53, 58, 70-78].

그런데 고래불의 해안사구의 경우 고래불 해변 고유의 환경에 적응한 몇몇 식물종 끼리 공생하는 혼합군락이 극상군집을 이루고 있으며, 이로 인해 해안사구가 지탱되고 있다. 때문에 본 연구에서는 아래에 논한 바와 같이, 1) 해안사구 공생미생물 연구의 본연적 목적, 2) 한반도 해안사구 공생미생물 연구흐름을 고려하여 이전의 연구와는 달리 혼합군락의 근권세균 조사를 시도하게 되었다.

해안사구 공생미생물상 연구의 첫번째 목적은 해안사구 복원에 가용한 식물 공생미생물 확보이다. 식물과 상호작용하는 미생물은 식물에 환경적 스트레스 내성, 기주식물 성장촉진(plant growth) 및 내병성 부여(induced systemic resistance)를 통해 기주식물(host plant)의 번성을 도와준다[5, 48]. 해안선을 지지하는 이러한 자생식물들의 안정적인 번성은 결과적으로 해안선과 해안지형을 보호하고, 훼손된 사구복원에 적용가능하다. 미생물-식물간 공생관계에 의한 해안선 보전역할을 거대한 해안생태계를 대상으로 입증하기는 어렵다. 그러나 자생식물의 번성은 기후변화에 따른 전 지구적인 해수면 상승에도 불구하고 오히려 순천만 연안습지를 확장시켜 [52] 국토를 넓히는 역할을 하고 있음을 볼 때 식물번성을 유도하는 공생관계는 사구보전에 있어 필수적이다.

두 번째로, 이러한 공생미생물의 다양성 지수 평가를 통해 추후 해안사구 보전 및 복원 시 식물종의 안정적인 번성을 평가하는 지표로서 활용이 가능하다. 해안사구의 보전을 위해서는 자생식물종의 번성이 핵심적인 역할을 할 수밖에 없으며, 공생미생물의 다양성과 복잡성은 자생식물의 건강한 생육과 번성을 평가하는 지표가 될 수 있다.

세 번째로, 나고야의정서(Nagoya Protocol) 발효에 따른 생물종 다양성의 확보이다. 통상 해안환경은 중생환경 대비 극한의 스트레스를 겪고 있으며 이러한 환경에서 염생식물의 번성에 영향을 주는 새로운 공생미생물상을 다수 확보하는 것이 생물자원 확보의 한 전략이 될 수 있다[46, 47, 51, 55]. 인간활동과 기후변화로 인한 해안선 감소, 그로 인한 생물다양성 소실은 점점 가속화되는 전 지구적 문제이며 이미 세계적으로 해안선의 40~50%가 단축되어[65] 해안식물과 관련된 생물자원의 선점은 중요해질 것이다.

이러한 목적하에 한반도 해안사구 식물공생미생물 조사는 특정 식물 종들을 타깃으로 10년 이상 이어져 왔지만[23, 24, 29, 34, 36, 42, 51, 52 70-78], 해안선 보전문제가 시급해 지면서 다양한 연구가설이 등장하였다. 해안의 자연시스템을 잘 보전하기 위해서는 해변과 해안사구를 지탱하는 주체인 식물 종 다양성도 중요하므로, 동해안 화진 해안사구를 구성하는 전체 식물종에 대한 내생 균류상이 조사되어 이제까지 해양 미생물종 혹은 내생미생물 종으로 보고된 적이 없던 균류가 상당비율(30%)로 확보되기도 하였다[50]. 이는 전술된 공생미생물의 두 번째 연구 목적에 부합하는 결과로도 볼 수 있다.

한편 순천만과 같은 특수한 경우를 제외하고[29, 30], 해안사구에는 1년생, 2년생 및 다년생 식물종이 자생하고 있으나, 생활사(longevity)가 짧다고 하여 공생미생물의 다양성이 다년생에 비해 뒤쳐지지 않는 현상에 대하여[50], 1년생 식물의 안정적인 ‘군락화’가 그 원인으로 지목되기도 하였다. 실제로 해안선의 지탱은 ‘현생하는 1년생 개체’들 때문만이 아니라, 죽은 식물개체가 뿌리내렸던 지점에 다시 다수의 개체가 자리잡아 번성하는 ‘군락화’가 그 동력이다. 공생미생물은 식물 개체가 아닌 군락과 상호작용 하는 것으로 보이며, 후손 식물개체는 군락지점에 확보되었던 공생미생물의 내생화를 수월하게 이룰 수 있다는 장점이 있을 것이라 추정된다.

한편 해안사구는 전이지대로서, 전이지대 종류 즉

고유의 환경조건에 따라 동일한 종의 식물이라도 공생미생물 군집의 다양성 정도는 상이하며, 동일한 전이지대에 속한 기주식물 종의 다양성은 일관성을 가진다는 것이 보고되었다[52]. 따라서 특정의 사구 식물 종에 대하여 이미 공생미생물상이 보고되었더라도, 미래에 다양한 환경의 사구보전을 위해서는 그 해안조건에 특성에 적합한 식물상과 공생미생물상이 확보되어야 한다는 것을 알 수 있다.

이처럼 최근에 국제학계에 보고된 해안사구 공생미생물상에 관한 연구들은 해안사구의 보전이라는 시급한 과제를 앞두고 보다 실질적인 대책수립을 위해 가설이 설정되고 입증되고 있다. 본 연구의 대상이 된 고래불 사구의 경우 특이하게도 지형보전에 식물의 혼합군락이 중요한 역할을 하므로, 여러 종이 공생관계를 유지하면서 뿌리가 얽혀있는 혼합군락을 조사대상으로 설정하는 것이 해안사구의 실질적인 보전을 위한 연구목적에 부합한다고 판단하였다. 해안사구 식물군락의 특성은 그 해안의 고유한 환경특성을 반영하며, 따라서 그 환경의 특성에 적합한 식물상의 번성을 유도하는 것이 추후 성공적인 해안선 보전과 복원으로 이어질 수 있을 것이라 사료된다.

종 조성 및 계통분석

고래불 해안사구를 지탱하는 자생 염생식물의 혼합군락 근권에서 확인된 65개의 분리주들은 각각 5개 문(phylum), 7개 강(class), 8개 목(order), 9개 과(family), 12개 속(genera), 21개 종(species)이 확인되었다(Table 1). 또한 이들 분리주의 종 단위의 정확한 분류학적 위치 확인을 위하여 분리주와 상동성이 가장 높은 표준균주와 계통분석을 실시하였다(Fig. 2). 한편 기존의 EzBioCloud와 GenBank 데이터베이스와 상동성이 98.5% 이하인 균주가 13.8%로서 높은 비율을 기록하였으며(Table 1),

Table 1. Distribution of mixed vegetation rhizosphere bacteria

Genera	Species	Isolates number	Ratio (%)
<i>Agrobacterium</i>	<i>arsenijeicii</i>	1	1.54
	<i>salinitolerans</i>	1	1.54
	<i>bingmayongensis</i>	1	1.54
	<i>cereus</i>	15	23.08
	<i>paramycoides</i>	1	1.54
<i>Bacillus</i>	<i>siamensis</i>	6	9.23
	<i>velezensis</i>	5	7.69
	<i>zhangzhouensis</i>	1	1.54
	sp.	1	1.54
<i>Brevibacillus</i>	<i>agri</i>	1	1.54
<i>Brevundimonas</i>	<i>vesicularis</i>	1	1.54
<i>Chryseobacterium</i>	<i>oranimense</i>	6	9.23
	sp.	3	4.62
<i>Curvibacter</i>	sp.	1	1.54
<i>Enterobacter</i>	<i>quasiroggenkampii</i>	1	1.54
	<i>nicotinovorans</i>	1	1.54
<i>Paenarthrobacter</i>	<i>nitroguajacolicus</i>	6	9.23
	sp.	2	3.08
<i>Priestia</i>	<i>flexa</i>	1	1.54
<i>Pseudarthrobacter</i>	sp.	1	1.54
	<i>bijiensis</i>	3	4.62
	<i>cuatrocieneegasensis</i>	1	1.54
<i>Pseudomonas</i>	<i>jessenii</i>	1	1.54
	<i>neuropathica</i>	1	1.54
	<i>piscium</i>	2	3.08
<i>Rossellomorea</i>	sp.	1	1.54
12	26	65	100

따라서 실제로는 훨씬 다양한 세균 종들이 혼합군락과 공생관계를 유지할 것으로 사료된다. 또한 이들 9개 균주 중 94.0% 이하의 상동성을 보이는 균주들은 이제까지 보고되지 않은 새로운 속에 속할 가능성이 높다. 이는 상기에 논한 해안사구 공생미생물의 연구목적 중 다양한 신규 미생물 자원의 확보에 부합하는 결과이다. 한편 이들에 대해 모두 NCBI의 GenBank로부터 accession No.(OQ847711-OQ847775)를 제공받았다(Table 2).

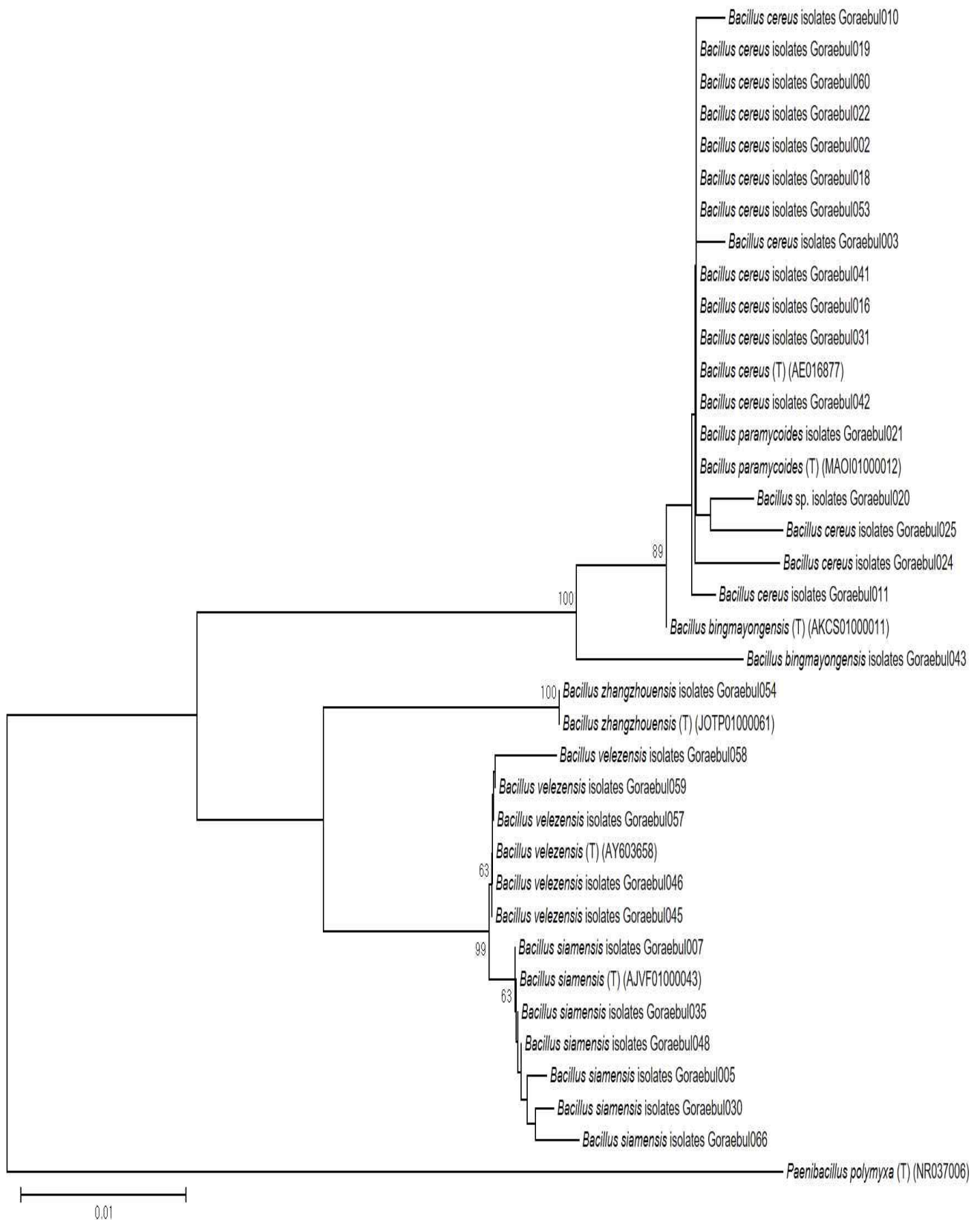
Table 2. Taxonomical identity of isolates and similarity with type strain databases

Isolates	Closest relative bacterial species	GenBank accession No.	Similarity (%)	Accession No. of isolates
Goraebul002	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE016877	99.78	OQ847711
Goraebul003	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE016877	99.52	OQ847712
Goraebul004	<i>Pseudomonas piscium</i> P50(T)	LR797558	99.68	OQ847713
Goraebul005	<i>Bacillus siamensis</i> KCTC 13613(T)	AJVF01000043	98.91	OQ847714
Goraebul006	<i>Paenarthrobacter aurescens</i> NBRC 12136(T)	BJMD01000050	97.59	OQ847715
Goraebul007	<i>Bacillus siamensis</i> KCTC 13613(T)	AJVF01000043	99.41	OQ847716
Goraebul008	<i>Brevibacillus agri</i> NRRL NRS-1219(T)	D78454	99.09	OQ847717
Goraebul009	<i>Chryseobacterium oranimense</i> DSM 19055(T)	jgi.1085873	99.36	OQ847718
Goraebul010	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE016877	99.08	OQ847719
Goraebul011	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE016877	99.50	OQ847720
Goraebul012	<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> G2-1(T)	AJ512504	99.81	OQ847721
Goraebul013	<i>Chryseobacterium oranimense</i> DSM 19055(T)	jgi.1085873	98.22	OQ847722
Goraebul014	<i>Paenarthrobacter nicotinovorans</i> DSM 420(T)	X80743	98.88	OQ847723
Goraebul015	<i>Pseudomonas jessenii</i> DSM 17150(T)	NIWT01000013	99.19	OQ847724
Goraebul016	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE016877	99.52	OQ847725
Goraebul017	<i>Enterobacter quasiroggenkampii</i> WCHEC1-1060(T)	KY979139	94.99	OQ847726
Goraebul018	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE016877	99.52	OQ847727
Goraebul019	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE016877	100.00	OQ847728
Goraebul020	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE016877	97.70	OQ847729
Goraebul021	<i>Bacillus paramycooides</i> NH24A2(T)	MAOI01000012	99.31	OQ847730
Goraebul022	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE016877	99.29	OQ847731
Goraebul023	<i>Rosellomorea vietnamensis</i> 15-1(T)	AB099708	88.37	OQ847732
Goraebul024	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE016877	99.23	OQ847733
Goraebul025	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE016877	99.13	OQ847734
Goraebul026	<i>Chryseobacterium oranimense</i> DSM 19055(T)	jgi.1085873	98.91	OQ847735
Goraebul027	<i>Brevundimonas vesicularis</i> NBRC 12165(T)	BCWM01000033	99.25	OQ847736
Goraebul028	<i>Chryseobacterium oranimense</i> DSM 19055(T)	jgi.1085873	98.60	OQ847737
Goraebul029	<i>Chryseobacterium oranimense</i> DSM 19055(T)	jgi.1085873	99.27	OQ847738
Goraebul030	<i>Bacillus siamensis</i> KCTC 13613(T)	AJVF01000043	99.72	OQ847739
Goraebul031	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE016877	100.00	OQ847740
Goraebul032	<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> G2-1(T)	AJ512504	99.62	OQ847741
Goraebul033	<i>Priestia flexa</i> NBRC 15715(T)	BCVD01000224	99.51	OQ847742
Goraebul034	<i>Pseudomonas neuropathica</i> P155(T)	LR797591	99.55	OQ847743
Goraebul035	<i>Bacillus siamensis</i> KCTC 13613(T)	AJVF01000043	99.80	OQ847744
Goraebul036	<i>Pseudomonas bijiensis</i> L22-9(T)	MT835388	99.89	OQ847745

Table 2. Taxonomical identity of isolates and similarity with type strain databases (continued)

Isolates	Closest relative bacterial species	GenBank accession No.	Similarity (%)	Accession No. of isolates
Goraebul037	<i>Pseudomonas bijieensis</i> L22-9(T)	MT835388	100.00	OQ847746
Goraebul038	<i>Agrobacterium salinitolerans</i> YIC 582(T)	MRDH111	98.98	OQ847747
Goraebul039	<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> G2-1(T)	AJ51254	99.28	OQ847748
Goraebul040	<i>Pseudomonas piscium</i> P5(T)	LR797558	99.17	OQ847749
Goraebul041	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE16877	99.90	OQ847750
Goraebul042	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE16877	100.00	OQ847751
Goraebul043	<i>Bacillus bingmayongensis</i> FJAT-13831(T)	AKCS111	98.12	OQ847752
Goraebul045	<i>Bacillus velezensis</i> CR-52(T)	AY63658	99.81	OQ847753
Goraebul046	<i>Bacillus velezensis</i> CR-52(T)	AY63658	99.31	OQ847754
Goraebul047	<i>Chryseobacterium oranimense</i> DSM 1955(T)	jgi.185873	97.55	OQ847755
Goraebul048	<i>Bacillus siamensis</i> KCTC 13613(T)	AJVF143	99.71	OQ847756
Goraebul049	<i>Pseudarthrobacter oxydans</i> DSM 2119(T)	X8348	96.18	OQ847757
Goraebul050	<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> G2-1(T)	AJ51254	99.43	OQ847758
Goraebul051	<i>Agrobacterium arsenijevicii</i> KFB 33(T)	JWIT161	98.78	OQ847759
Goraebul052	<i>Chryseobacterium oranimense</i> DSM 1955(T)	jgi.185873	91.25	OQ847760
Goraebul053	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE16877	99.26	OQ847761
Goraebul054	<i>Bacillus zhangzhouensis</i> DW5-4(T)	JOTP161	99.24	OQ847762
Goraebul055	<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> G2-1(T)	AJ51254	99.6	OQ847763
Goraebul056	<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> G2-1(T)	AJ51254	98.84	OQ847764
Goraebul057	<i>Bacillus velezensis</i> CR-52(T)	AY63658	99.32	OQ847765
Goraebul058	<i>Bacillus velezensis</i> CR-52(T)	AY63658	99.62	OQ847766
Goraebul059	<i>Bacillus velezensis</i> CR-52(T)	AY63658	98.88	OQ847767
Goraebul060	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579(T)	AE16877	99.53	OQ847768
Goraebul061	<i>Paenarthrobacter nitroguajacolicus</i> G2-1(T)	AJ51254	94.82	OQ847769
Goraebul062	<i>Pseudomonas bijieensis</i> L22-9(T)	MT835388	100.00	OQ847770
Goraebul063	<i>Chryseobacterium oranimense</i> DSM 1955(T)	jgi.185873	99.50	OQ847771
Goraebul064	<i>Chryseobacterium oranimense</i> DSM 1955(T)	jgi.185873	99.40	OQ847772
Goraebul065	<i>Curvibacter gracilis</i> 7-1(T)	AB19889	97.68	OQ847773
Goraebul066	<i>Bacillus siamensis</i> KCTC 13613(T)	AJVF143	99.93	OQ847774
Goraebul068	<i>Pseudomonas cuatrocienegasensis</i> 1N(T)	EU791281	99.62	OQ847775

A) Phylogenetic tree of isolates belongs to *Bacillus* genera



B) Phylogenetic tree of isolates excluding *Bacillus* group

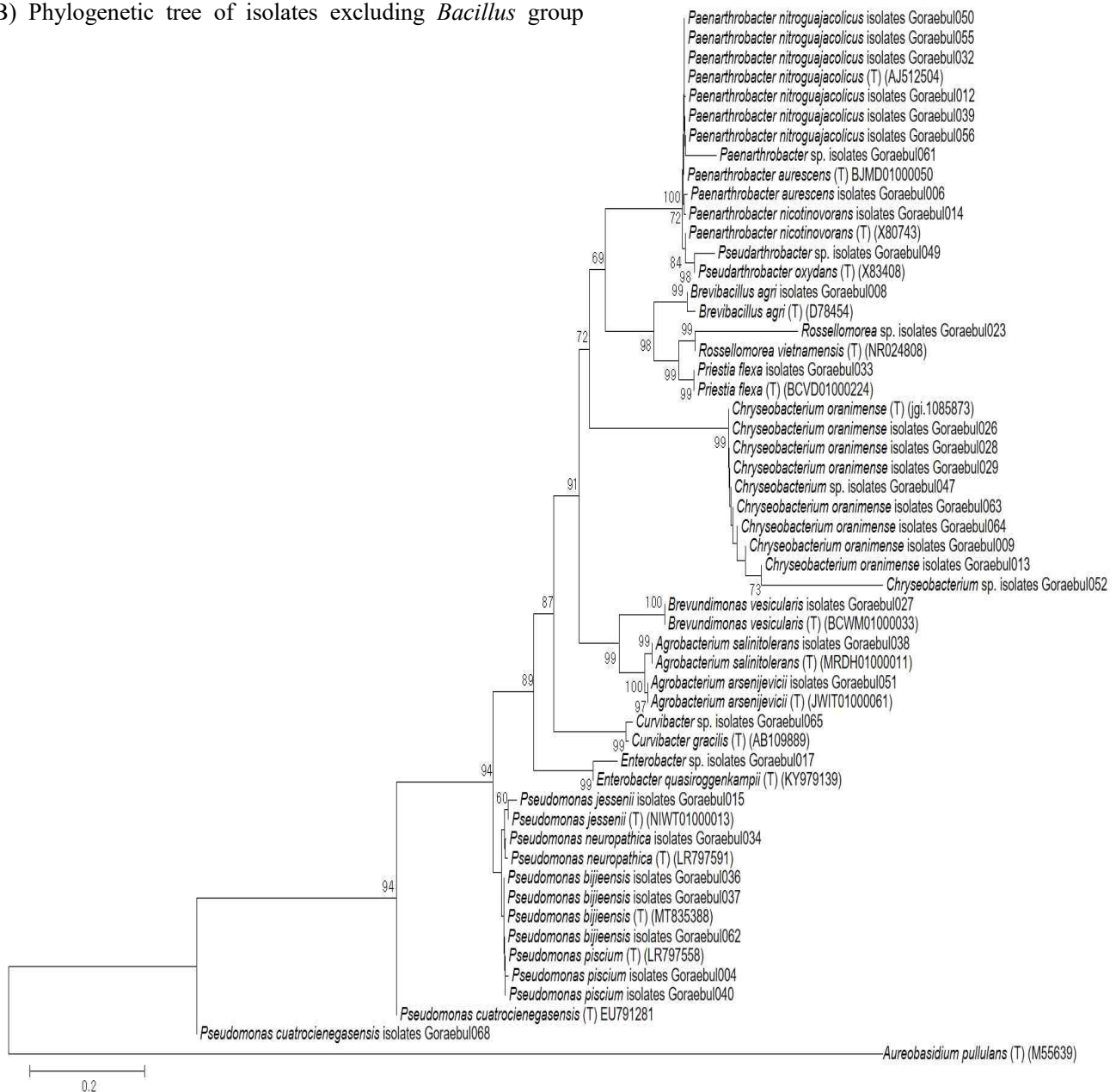


Fig. 2. Phylogenetic tree based on 16S rDNA sequences showing the positions of rhizosphere marine bacteria and representatives of other species related taxa. The evolutionary history was inferred using the Neighbor-Joining method [58]. The percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1,000 replicates) are shown next to the branches. The evolutionary distances were computed using the Kimura 2-parameter method [28] and are in the unit of the number of base substitutions per site. The rate variation among sites was modeled with a gamma distribution (shape parameter = 1). All positions with less than 95% site coverage were eliminated. Since there are too many isolates to implement phylogenetic tree with appropriate resolution, Phylogenetic tree were constructed by distinguishing the species belonging to genus *Bacillus* (A) and non-*Bacillus* species (B). Used outgroup sequences for constructing phylogenetic tree (A) was *Paenibacillus polymyxa* type strain NR037006 and for tree (B) was *Aureobasidium pullulans* type strain M55639.

분리된 근권세균의 다양성 분석

65개의 분리주들에 대하여 각각 분류군 별로 균등도, 우점도, 다양성지수가 적용되었다(Table 3). 종 풍부도(S)는 단순히 군집에 나타나는 분류군의 개수를 의미한다. 샤논의 다양성(Hs)은 종 풍부도(S)와 군집 내 종의 균형적인 분포(evenness)인 균등도까지 고려한 개념으로, DS와 비교될 수 있다.

Table 3. Diversity of mixed vegetation rhizosphere bacteria

Indices	Species level	Genus level
Total number of isolates	65	
Richness (S)	26	12
Margalef's richness index (Dmg)	5.99	2.64
Mehinick's index (Dmn)	3.22	1.49
Simpson's index (Ds)	0.08	1.00
Shannon's diversity index (Hs)	2.79	1.72
Shannon's equitability index (EH)	0.86	0.69

샤논의 다양성(Hs)에서 종 간의 균등도는 샤논의 균등지수(EH)를 통해 평가된다. Ds는 군집내에서 특정 분류군의 집중도(즉, 선점정도)를 나타내는 것으로서 1-D 값을 통해 산출되므로 0부터 1까지의 분포로 구현된다. 1에 근접할수록 특정 분류군의 집중도가 높으며, 0으로 근접할수록 군집을 구성하는 분류군들의 균등도는 증가한다. 본 연구에서 혼합식물군락 으로서의 종 풍부도의 경우 Dmg와 Dmn 값은 각각 5.99 및 3.22로 비교적 높은 수치를 나타내었다. 종의 집중정도를 의미하는 Ds는 0.08로 낮은 수치를 기록하여 결과적으로 Hs값은 2.79로 분석되었다.

한편 본 연구에서는 종 및 속 단위에서의 각각의 다양성 지수를 적용해 보았다. 통상적으로 세균의 경우 16S rDNA 유전자 염기서열만으로 종 단위 파악이 가능하지만, 공생균류(fungal species)의 경우 부분동정에 사용하는 universal sequences로서 internal transcribed spacer 1 및 2 부위의 서열 및 주변부 rRNA 일부서열을 사용하여 속 단위까지만 동정이

유효하다고 판단한다 (이에 대하여 학계별로 상이한 입장을 가질 수도 있다). 따라서 균류의 경우 속 단위의 동정결과를 사용하여 다양성을 평가하지만, 그럼에도 불구하고 근권세균이 대해 속단위와 종단위의 다양성을 산출하는 까닭은 부분동정 결과 *Bacillus*와 같은 특정 속의 우점이 확인되었으며, 이는 해안사구의 고유환경과 환경에 적응한 극상식물군집이 특정 속에 대하여 생태학적 압력과 선택압을 가하는 것으로 판단하였기 때문이다.

세균 속 차원의 풍부도는 Dmg가 2.64로, Dmn이 1.49의 수치로 분석된 반면 DS가 1.00으로서 결과적으로 Hs값은 1.72로 분석되었다. 또한 EH 값은 속 차원의 경우 0.69, 종 차원의 경우 0.86으로서, 이는 *Bacillus*와 같은 특정 속의 우점도가 다른 속 보다 극히 높은데서 기인된 것으로 해석되나, 군집의 안전성을 대변하는 샤논의 다양성 값(Hs)이 세균 종 차원에서 더 높게 나온 것은 비록 *Bacillus* 속이 우점하고 있으나, *Bacillus* 속에서 속한 다양한 종이 근권 공생균주로서 확보되었기 때문으로 판단된다. 이처럼 속과 종 수준의 다양성 지수 비교분석을 통해, *Bacillus* 속에 속하는 다수의 종들이 공통적으로 공유하는 특성, 즉 *Bacillus* 속이 가지는 고유의 특징으로 인하여 해안사구 및 해안사구와 상호작용하는 식물군락의 근권에서 우점한 것으로 풀이된다. 이를 통해 *Bacillus* 속의 다양한 종들이 식물 근권에서 우점화한 것으로 풀이된다. *Bacillus* 속은 그들이 가진 환경적 스트레스에 대한 내성으로 인하여 스트레스가 심각한 근권환경에서 공생세균으로 지속 보고되고 있다[59].

해안사구 및 배후습지의 식생을 구성하는 식물 종들은 때때로 생태학적인 배척이 관찰된다. 동해안에서 쉽게 관찰되는 사례는 canopy를 형성하는 종은 자연광의 확보에 있어 우위를 차지하며, 이는 다른 일, 이년생 식물들의 성장을 배재할 수 있다는 것이다. 고래불의 혼합식물군락은 이와 대비되며, 식물 간 공생관계의 일종일 것이다. 이러한 관계가 이들 식물종의 안정적인 번성과 관련된 근권 미생물 군락

에 어떠한 영향을 미치고 있는지 고찰해 볼 필요가 있다. 샤논 다양성 지수(Hs)는 군집의 다양성과 함께 군집의 안정성을 나타내는 지표로서 통상적인 식물 공생미생물 연구결과들과 비교했을 때 2.79로 높은 수준의 수치를 나타냈다. 다양성 평가와 관련된 연구들에 있어 단순한 종의 개수를 의미하는 richness (S)가 유의한 이유는 확보된 분리주의 수가 적다고 할지라도 산술적인 다양성 통계를 통해 샤논 다양성 (Hs)이 높게 측정될 수도 있기 때문이다. 그러나 본 연구에서는 타 연구결과 대비 종의 richness (S) 또한 높게 측정되었다. 결과적으로 혼합식물군락을 구성하는 식물종 간의 공생관계는 종합적으로 더욱 다양

한 종으로 구성된 더욱 안정된 미생물 군집을 확보할 수 있는 근권환경을 조성한 것으로 생각된다. 또한 이러한 혼합관계를 통해 확보된 다양한 근권미생물은 변화가 극심한 해양환경에 대한 적응 가능성을 더욱 높였을 것으로 추정된다.

종의 분포

분류군의 우점도로서 *Bacillus* 속이 가장 우점하였으며, 차 우점하는 속으로 *Chryseobacterium*, *Pseudomonas*, *Paenarthrobacter*로 확인되었다 (Fig. 3).

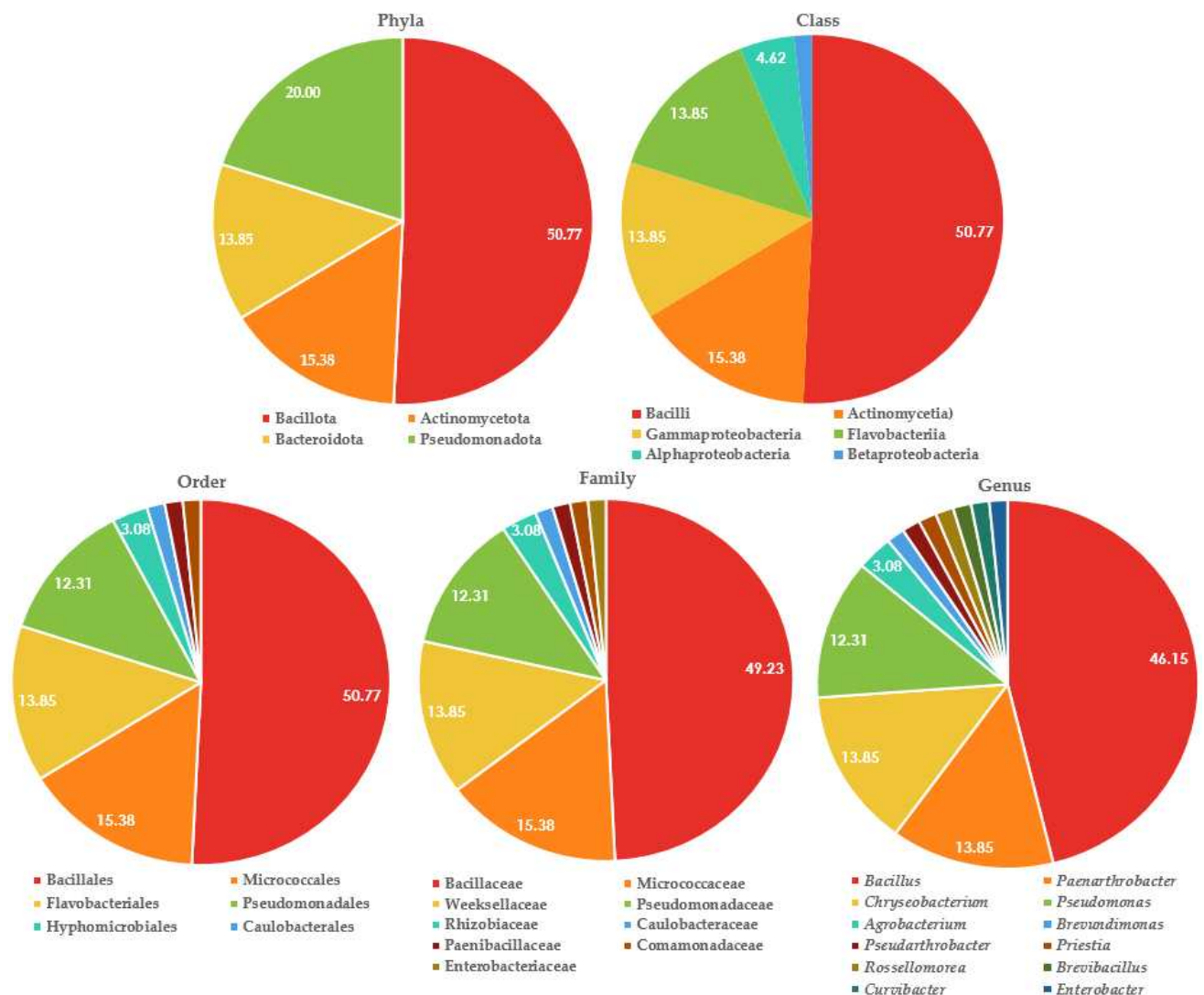


Fig 3. Taxon ratio of rhizosphere isolates from mixed vegetation

따라서 가장 우점하는 문, 강, 목, 과는 각각 Bacillota, Bacillota, Bacillales 및 Bacillaceae 이다. 속의 분포로는 *Bacillus* 속이 가장 우점하였으며, *Bacillus cereus*가 23.8%를 차지하여 가장 우점하는 종이다. *B. cereus*에 속하는 분리주들은 순수분리 과정에서 형태학적인 상이함을 보였으며 추가적으로 이들의 확정된 16S rDNA 염기서열을 EzBioCloud의 pairwise alignment 프로그램을 통해 비교 대조한 결과 각기 상이한 서열을 가지는 것으로 확인되었다. 따라서 해안환경의 특성 및 이에 자생하는 혼합식물 군락은 그들의 근권환경에 환경에 대한 내성이 강하다고 알려진 *Bacillus*의 생존에 유리한 나뭇의 선택 압을 가하고 있을 것으로 추정된다. *Bacillus* 속에 속하는 종들과 상동성이 높은 표준균주들의 경우 *Bacillus paramycoide*의 식물생장 촉진효과[49], *Bacillus siamensis*의 항진균 활성, 근권착생능, 식물성장 촉진활성[17], *Bacillus velezensis*의 식물생장 촉진 및 바이오컨트롤 활성이 보고되었다[12]. *B. cereus*는 이미 식물생장과 관련된 긍정적인 효과가 다수 보고되었다[54].

통상적으로 식물 내생 및 근권 균류의 경우 식물역병 유발성 종이 다수 포함된 *Fusarium* 속 등이 우점하여 출현하기도 한다[64]. 물론 그러한 분리주가 반드시 병원성을 가지거나 식물번성에 부정적 영향을 가진다고 볼 수는 없으며, 오히려 동일한 속의 병원성 균주에 대응하여 체계적으로 기주식물의 면역성을 증강시키고[14, 38] 특수한 공생관계를 통해 기주식물 성장을 유도한다[8]. 이에 반하여 본 연구에서는 식물병원체로 알려진 종과 상동성이 높은 균주가 확인되지 않았다. 식물병원성 유발 종으로 *Pseudomonas* 속의 분리주들은 모두 기존의 표준균주(type strain)와 99.10% 이상의 상동성을 보였으며, 이들 표준균주는 식물병원체로 현재까지 보고된 바는 없다. *Pseudomonas bijiensis*의 경우 최근 농작물 근권에서 신종 세균으로 보고되었으며[35], 토양에서 인산염을 가용화하고[63], 식물역병균 *Rhizoctonia solani*를 대상으로 바이오컨트롤 균주로

서의 가능성이 보고되었다[2]. *Pseudomonas piscium*은 식물역병 진균에 대하여 길항효과를 가진다고 보고되었다[7].

이외에도 본 연구에서의 종들과 상동성이 높은 다수의 종들은 식물의 번성에 있어 긍정적인 효과를 가지고 있다고 보고되고 있다. *Paenarthrobacter* 속 (*P. nitroguajacolicus*) 및 *Priestia* 속은 건조 및 영양분의 부족과 같은 환경에서 기주식물의 내성 및 성장을 촉진한다[1, 60, 61]. *Chryseobacterium* 속의 다수 종 또한 식물생장을 유도한다고 알려져 있다[9, 26]. 본 연구에서 다수의 분리 균주들이 *Chryseobacterium* 속에서 신종 가능성을 보이고 있으며, 이들과 상동성이 높은 *Chryseobacterium oranimense*의 경우 식물 혹은 해양환경에서의 작용은 아직까지 보고되지 않았다. *Rosellomorea* 속의 세균 종들은 아직까지 연구된 바가 드물며, 새로운 속으로 분류되어 신종 보고가 시작되고 있다[44]. *Agrobacterium* 속은 식물과의 상호작용이 널리 알려진 속으로, *Agrobacterium salinitolerans*의 경우 염/알칼리 내성 균주로서 root nodule에서 최초로 보고되었다[68].

결론

해안사구 및 해안선 소실은 세계적으로 심각한 문제로 대두되고 있으며, 이들을 보전하고 복원하는데 자생식물의 번성이 효과적인 방안이 될 수 있다. 공생세균은 기주식물 번성을 유도하므로, 다양한 해안 식물 종의 공생미생물 다양성 및 상호작용을 밝히는 연구가 한반도 해안사구들을 대상으로 이어져 왔다. 특정의 해안환경에 자생하는 극상 식물상의 형태와 식물종 다양성은 그 해안특성 및 해안기후에 적응한 결과이므로, 추후 유사한 환경이 해안사구 복원 및 보전을 위해서는 그 식물상 자체의 공생미생물을 사전에 밝혀둘 필요가 있다. 따라서 본 연구에서는 특정 우점 식물종을 대상으로 하지 않고, 고래불 해안사구를 잘 지탱해온 주체는 혼합식물군락임을 감안하여 이들의 근권세균을 연구대상으로 설정하였다.

동해안 특유의 거친 해양환경과 이에 적응한 혼합식물군락은 *Bacillus* 속에 유리한 선택압을 가하고 있음에도 불구하고, 높은 종 다양성과 풍부도를 나타내어 안정적인 근권세균 군집구조를 보였으며, 이를 통해 극상식물 군락의 번성과 해안사구의 모래유실 방지에 나름의 역할을 하고 있을 것으로 평가된다.

감사의 글

This work was supported by a grant from the National Institute of Biological Resources (NIBR), funded by the ministry of Environment (MOE) of the Republic of Korea (NIBR202405101).

References

- Abiala, M., Sadhukhan, A., Muthuvel, J., Shekhawat, R.S., Yadav, P. and Sahoo, L. 2022. Rhizosphere *Priestia* species altered cowpea root transcriptome and enhanced growth under drought and nutrient deficiency. *Planta* **257**(1), 11.
- Adesina, M.F., Grosch, R., Lembke, A., Vatchev, T.D. and Smalla, K. 2009. In vitro antagonists of *Rhizoctonia solani* tested on lettuce: rhizosphere competence, biocontrol efficiency and rhizosphere microbial community response. *FEMS Microbiol. Ecol.* **69**(1), 62-74.
- Bang, H.J. and Lee, G.R. 2011. Geomorphological properties and changes of Goreabul sand beach in Yeongdeok. *J. Geol. Soc. Korea.* **18**(3), 83-92
- Bird, E.C.F. 1976. Coasts: An Introduction to Systematic Geomorphology, Australian National University Press: Canberra, Australia, pp. 21 - 22.
- Bloemberg, G.V. and Lugtenberg, B.J. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* **4**, 343 - 350.
- Chapman, V.J. 1974. Salt marshes and salt deserts of the world. In Ecology of halophytes, Robert, J.R., William, H.Q., Eds., Academic Press: New York, NY, USA, pp. 3 - 22.
- Chen, Y., Wang, J., Yang, N., Wen, Z., Sun, X., Chai, Y. and Ma, Z. 2018. Wheat microbiome bacteria can reduce virulence of a plant pathogenic fungus by altering histone acetylation. *Nat. Commun.* **9**(1), 3429.
- Cheng, S., Jiang, J.W., Tan, L.T., Deng, J.X., Liang, P.Y., Su, H., Sun, Z.X. and Zhou, Y. P. 2022. Plant growth-promoting ability of mycorrhizal *Fusarium* Strain KB-3 enhanced by its IAA producing endohyphal bacterium, *Klebsiella aerogenes*. *Front. Microbiol.* **13**, 855399.
- Chhetri, G., Kim, I., Kim, J., So, Y. and Seo, T. 2022. *Chryseobacterium tagetis* sp. nov., a plant growth promoting bacterium with an antimicrobial activity isolated from the roots of medicinal plant (*Tagetes patula*). *J. Antibiot. (Tokyo)* **75**(6), 312-320.
- David, A.S., Seabloom, E.W. and May, G. 2016. Plant host species and geographic distance affect the structure of aboveground fungal symbiont communities, and environmental filtering affects belowground communities in a coastal dune ecosystem. *Microb. Ecol.* **71**, 912 - 926.
- Dubey, A., Malla, M.A., Kumar, A., Dayanandan, S. and Khan, M.L. 2022. Plants endophytes: Unveiling hidden agenda for bioprospecting toward sustainable agriculture. *Crit. Rev. Biotechnol.* **4**, 1210 - 1231.
- Fan, B., Wang, C., Song, X., Ding, X., Wu, L., Wu, H., Gao, X. and Borriss, R. 2019. *Bacillus velezensis* FZB42 in 218: The gram-positive model strain for plant growth promotion and biocontrol. *Front. Microbiol.* **16**(9), 2491.
- Fierer, N. and Jackson, R.B. 2006. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **13**, 626 - 631.
- Forsyth, L.M., Smith, L.J. and Aitken, E.A. 2006. Identification and characterization of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* capable of increasing and decreasing *Fusarium* wilt severity. *Mycol. Res.* **11**, 929 - 935.
- Godfrey, P.J. 1977. Climate, plant response and development of dunes on barrier beaches along the U.S. east coast. *Int. J. Biometeorol.* **21**, 23 - 216.
- Goldstein, E.B., Moore, L.J. and Durán Vinent, O. 2017. Lateral vegetation growth rates exert control on coastal foredune "hummockiness" and coalescing time. *Earth Surf. Dynam.* **5**, 417 - 427.

17. Gorai, P.S., Ghosh, R., Mandal, S., Ghosh, S., Chatterjee, S., Gond, S.K. and Mandal, N.C. 2021. *Bacillus siamensis* CNE6- a multifaceted plant growth promoting endophyte of *Cicer arietinum* L. having broad spectrum antifungal activities and host colonizing potential. *Microbiol. Res.* **252**, 126859.
18. Hesp, P.A. 1989. A review of biological and geomorphological processes involved in the initiation and development of incipient foredunes. *Proc. Royal Soc. B: Biol. Sci.* **96**, 181 - 201.
19. Hill, K. Dune Habitats, Smithsonian Marine Station (SMS): Fort Pierce, FL, USA, 218.
20. Hong, S.H., Lee, M.H., Kim, J.S. and Lee E.Y. 2012. An evaluation of plant growth promoting activities and salt tolerance of rhizobacteria isolated from plants native to coastal sand dunes. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **4(3)**, 261-267.
21. How Sand Dunes Work. Available online: <https://science.howstuffworks.com/environmental/earth/geology/sand-dune.htm> (accessed on 19 August 22).
22. Jacquemyn, H., Waud, M., Lievens, B. and Brys, R. 2016. Differences in mycorrhizal communities between *Epipactis palustris*, *E. helleborine* and its presumed sister species *E. neerlandica*. *Ann. Bot.* **118**, 105 - 114.
23. Khan, S.A., Hamayun, M., Rim, S.O., Lee, I.J., Seu, J.C., Choo, Y.S., Jin, I.N., Kim, S.D., Lee, I.K. and Kim, J.G. 2008a. Isolation of endophytic fungi capable of plant growth promotion from monocots inhabited in the coastal sand dunes of Korea. *J. Life Sci.* **18(1)**, 1355-1359.
24. Khan, S.A., Hamayun, M., Yoon, H., Kim, H.Y., Suh, S.J., Hwang, S.K., Kim, J.M., Lee, I.J., Choo, Y.-S., Yoon, U.H., Kong, W.S., Lee, B.M. and Kim, J.G. 2008b. Plant growth promotion and *Penicillium citrinum*. *BMC Microbiol.* **8**, 231.
25. Khare, E., Mishra, J. and Arora, N.K. 2018. Multi faceted interactions between endophyte sand plant: developments and prospects. *Front. Microbiol.* **9**, 2732.
26. Kim, H. and Yu, SM. 2020. *Chryseobacterium salivictor* sp. nov., a plant-growth-promoting bacterium isolated from freshwater. *Antonie Van Leeuwenhoek* **113(7)**, 989-995.
27. Kim, M., You, Y.H., Yoon, H.J., Kim, H., Seo, Y.G., Khalmuratova, I., Shin, J.H., Lee, I.J., Choo, Y.S. and Kim, J.G. 2012. Genetic diversity of endophytic fungal strains isolated from the roots of coastal plants in ulleung island for restoration of coastal ecosystem. *J. Life Sci.* **22(1)**, 1384-1391.
28. Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* **16**, 111-120.
29. Kong, B.W., Cheong, C.J. and Ra, D.G. 2014. Distribution of halophytes at coastal wetland in Suncheon bay. *J. Korean Soc. Environ. Eng.* **15(2)**, 130-139.
30. Kong, B.W., Lee, W.J., Park, M.H., Lee, W.J., Seo, H.N., Ra, D.G. and Cheong, C.J. 2019. Distribution characteristics of halophyte according to soil environment in coastal wetland of the Suncheon Bay. *J. Korean Soc. Environ. Eng.* **2(1)**, 16-22.
31. Kong, W.S. and David, W. 1993. The plant geography of Korea with an emphasis on the alpine zones. In Geobotany, Springer: New York, NY, USA, 1993.
32. Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. and Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* **35(6)**, 1547-1549.
33. Lambshead, P.J.D., Platt, H.M. and Shaw, K.M. 1983. The detection of differences among assemblages of marine benthic species based on an assessment of dominance and diversity. *J. Nat. Hist.* **17**, 859 - 874.
34. Lee, E.Y. and Hong, S.H. 2013. Plant growth-promoting ability by the newly isolated bacterium *Bacillus aerius* MH1RS1 from indigenous plant in sand dune. *J. Kor. Soc. Environ. Eng.* **35(1)**, 687-693.
35. Liang, J., Wang, S., Yiming, A., Fu, L., Ahmad, I., Chen, G. and Zhu, B. 2019. *Pseudomonas bijieensis* sp. nov., isolated from cornfield soil. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **71(3)**.
36. 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 plants. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **36(4)**, 268-275.
37. Mahmoud, F.M., Krimi, Z., Maciá-Vicente, J.G., Errahmani, M.B. and Lopez-Llorca, L.V. 2017. Endophytic fungi associated with roots of date palm (*Phoenix dactylifera*) in coastal dunes. *Rev. Iberoam. Micol.* **34**, 116 - 120.
 38. Malandrakis, A., Daskalaki, E.R., Skiada, V., Papadopoulou, K.K. and Kavroulaki, N. 2018. A *Fusarium solani* endophyte vs fungicides: Compatibility in a *Fusarium oxysporum* f.sp. radicis-lycopersici-tomato pathosystem. *Fungal Biol.* **122**, 1215 - 1221.
 39. Margalef, R. 1958. Information theory in ecology. *Gen. Syst.* **3**, 36 - 71.
 40. Mendes, R.S., Evangelista, L.R., Thomaz, S.M., Agostinho, A.A. and Gomes, L.C. 2008. Unified index to measure ecological diversity and species rarity. *Ecography* **31**, 450 - 456.
 41. Mengistu, A.A. 2022. Endophytes: Colonization, behaviour, and their role in defense mechanism. *Int. J. Microbiol.* **22**, 6927219.
 42. Min, Y.J., Park, M.S., Fong, J.J., Quan, Y., Jung, S. and Lim, Y.W. 2014. Diversity and saline resistance of endophytic fungi associated with *Pinus thunbergii* in coastal shelter belts of Korea. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **24(3)**, 324-330.
 43. Molewski, P. 2021. Anthropogenic degradation of dunes within a city: A disappearing feature of the cultural landscape of Toruń (Poland). *J. Maps.* **17**, 162 - 169.
 44. Navarro-Torre, S., Carro, L., Igual, J.M. and Montero-Calasan, M.D.C. 2021. *Rossellomorea arthrocnemi* sp. nov., a novel plant growth-promoting bacterium used in heavy metal polluted soils as a phytoremediation tool. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **71(1)**, 005015.
 45. Nayak, S., Behera, S. and Dash, P.K. 2019. Potential of microbial diversity of coastal sanddunes: Need for exploration in Odisha Coast of India. *Sci. World J.* **219**, 2758501.
 46. NIE (National Institute of Environmental, Republic of Korea). 2008. Research on Coastal Landscape and the Conservational Strategy (II), case of the west coast, Korea. Ministry of Environment: Sejong, Republic of Korea.
 47. NIE (National Institute of Environmental, Republic of Korea). 2009. Research on Coastal Landscape and the Conservational Strategy (27 - 29), Ministry of Environment: Sejong, Republic of Korea.
 48. Orozco-Mosqueda, M.D.C., Rocha-Granados, M.D.C., Glick, B.R. and Santoyo, G. 2018. Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms. *Microbiol. Res.* **28**, 25 - 31.
 49. Pandey, S. and Gupta, S. 2020. Diversity analysis of ACC deaminase producing bacteria associated with rhizosphere of coconut tree (*Cocos nucifera* L.) grown in Lakshadweep islands of India and their ability to promote plant growth under saline conditions. *J. Biotechnol.* **324**, 183-197.
 50. Park, J.M. and You, Y.-H. 2023. Culturable endophyte fungi of the well-conserved coastal dune vegetation located on the East coast of the Korean Peninsula. *J. Mar. Sci. Eng.* **11(4)**, 734.
 51. Park, J.M., Hong, J.W., Son, J.S., Hwang, Y.J., Cho, H.M., You, Y.H. and Ghim, S.Y. 2018. A strategy for securing unique microbial resources – Focusing on Dokdo islands-derived microbial resources. *Isr. J. Ecol. Evol.* **64**, 1 - 15.
 52. Park, J.M., Hong, J.W., You, Y.H. and Kim, J.G. 2021a. Endophytic fungi of emerged halophytes in river deltas and tidal flats of the Korean Ramsar wetlands. *J. Mar. Sci. Eng.* **9**, 430.
 53. Park, J.M., Kim, B., Cho, Y.C., Lee, B.H., Hong, J.W. and You, Y.H. 2021b. Rhizoplane and rhizosphere fungal communities of geographically isolated Korean Bellflower (*Campanula takesimana* Nakai). *Biology* **1**, 138.
 54. Ramírez, V., Martínez, J., Bustillos-Cristales, M.D.R., Catañeda-Antonio, D., Munive, J.A. and Baez, A. 2022. *Bacillus cereus* MH778713 elicits tomato plant protection against *Fusarium oxysporum*. *J. Appl. Microbiol.* **132(1)**, 470-482.

55. Ryan, M.J., McCluskey, K., Verkleij, G., Robert, V. and Smith, D. 2019. Fungal biological resources to support international development: Challenges and opportunities. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **35**, 139.
56. Saitou, N. and Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* **4**, 406-425.
57. Seena, S. and Sridhar, K.R. 2004. Endophytic fungal diversity of two sand dune wild legumes from the southwest coast of India. *Can. J. Microbiol.* **5**, 115 - 121.
58. Seo, Y.G., Kim, M., You, Y.H., Yoon, H.J., Woo, J.R., Lee, G.M. and Kim, J.G. 2012. Genetic diversity of endophytic fungi isolated from the roots of halophytes naturally growing in Suncheon Bay. *Kor. J. Mycol.* **4(1)**, 7-10.
59. Shafi, J., Tian, H. and Ji, M. 2017. *Bacillus* species as versatile weapons for plant pathogens: a review. *Biotechnol.* **31(3)**, 446-459.
60. Sharma, K., Sharma, S., Vaishnav, A., Jain, R., Singh, D., Singh, H.B., Goel, A. and Singh, S. 2022. Salt-tolerant PGPR strain *Priestia endophytica* SK1 promotes fenugreek growth under salt stress by inducing nitrogen assimilation and secondary metabolites. *J. Appl. Microbiol.* **133(5)**, 2802-2813.
61. Sherpa, M.T., Bag, N., Das, S., Haokip, P. and Sharma, L. 2021. Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from organically grown high yielding pole type native pea (*Pisum sativum* L.) variety Dentami of Sikkim, India. *Curr. Res. Microb. Sci.* **2**, 100068.
62. Stanchev, H., Stancheva, M. and Young, R. 2015. Implications of population and tourism development growth for Bulgarian coastal zone. *J. Coast. Conserv.* **19**, 59 - 72.
63. Tomer, S., Suyal, D.C., Shukla, A., Rajwar, J., Yadav, A., Shouche, Y. and Goel, R. 2017. Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from Western Indian Himalayan soils. *3 Biotech.* **7(2)**, 95.
64. Torbati, M., Arzanlou, M. and da Silva Santos, A.C. 2021. Fungicolous *Fusarium* species: Ecology, diversity, isolation, and identification. *Curr. Microbiol.* **78**, 285 - 2859.
65. Vousdoukas, M.I., Ranasinghe, R., Mentaschi, L., Plomaritis, T.A., Athanasiou, P., Luijendijk, A. and Feyen, L. 2022. Sandy coastlines under threat of erosion. *Nat. Clim. Change* **1**, 260 - 263.
66. Whittaker, R.H. 1977. Evolution of species diversity in land communities. *Evol. Biol.* **1**, 1 - 67.
67. Weisburg, W.G., Barns, S.M., Pelletier, D.A., Lane, D.J. 1991. 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.* **173(2)**, 697-70.
68. Yan, J., Li, Y., Yan, H., Chen, W.F., Zhang, X., Wang, E.T., Han, X.Z. and Xie, Z.H. 2017. *Agrobacterium salinitolerans* sp. nov., a saline-alkaline-tolerant bacterium isolated from root nodule of *Sesbania cannabina*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **67(6)**, 1906-1911.
69. Yeh, Y.H. and Kirschner, R. 2019. Diversity of endophytic fungi of the coastal plant *Vitex rotundifolia* in Taiwan. *Microbes. Environ.* **34**, 59 - 63.
70. You, Y.H., Jin, Y.J., Kang, S.M., Oh, S.J., Lee, M.C. and Kim, J.G. 2015. Plant growth-promoting activity and identification of endophytic fungi isolated from native plant in East coast. *Kor. J. Mycol.* **51(1)**, 14-20.
71. You, Y.H., Park, J.M., Lim, S.H., Kang, S.M., Park, J.H., Lee, I.J. and Kim, J.G. 2016. Gibberellin A7 production by *Aspergillus tubingensis* YH13 and cultural characteristics of endophytic fungi isolated from *Tetragonia tetragonoides* in Dokdo islands. *Kor. J. Mycol.* **52(1)**, 32-39.
72. You, Y.H., Park, J.M., Seo, Y.G., Lee, W., Kang, M.S. and Kim, J.G. 2017. Distribution, characterization, and diversity of the endophytic fungal communities on Korean seacoasts showing contrasting geographic conditions. *Mycobiology* **45(3)**, 150-159.
73. You, Y.H., Seo, Y.G., Yoon, H.J., Kim, H., Kim, Y.E., Khalmuratova, I., Rim, S.O., Kim, C.M. and Kim J.G. 2013. Endophytic fungal diversity associated with the roots of coastal sand-dune plants in the Sindu-ri coastal sand dune, Korea. *Microbiol. Biotechnol. Lett.* **41(3)**, 300 - 310.
74. You, Y.H., Yoon, H.J., Kim, H., Lim, S.H., Shin, J.H., Lee, I.J., Choo, Y.S. and Kim, J.G. 2013. Plant growth-promoting activity and genetic diversity of endo-

- phytic fungi isolated from native plants in Dokdo Islands for restoration of a coastal ecosystem. *J. Life Sci.* **23(1)**, 95-101.
75. You, Y.H., Yoon, H.J., Seo, Y.G., Kim, M., Kang, M.S., Kim, C.M., Ha, S.C., Cho, G.Y. and Kim, J.G. 2012. Genetic diversity of culturable endophytic fungi isolated from halophytes naturally growing in muan salt marsh. *J. Life Sci.* **22(7)**, 97-98.
76. You, Y.H., Yoon, H.J., Woo, J.R., Seo, Y.G., Kim, M., Choo, Y.S. and Kim, J.G. 2011. Plant growth-promoting activity of endophytic fungi isolated from the roots of native plants in Dokdo Islands. *J. Life Sci.* **21(11)**, 1619-1624.
77. You, Y.H., Yoon, H.J., Woo, J.R., Seo, Y.G., Kim, M., Lee, G.M. and Kim, J.G. 2012. Diversity of endophytic fungi from the roots of halophytes growing in Go-chang salt marsh. *Kor. J. Mycol.* **4(2)**, 86-92.
78. You, Y.H., Yoon, N.G., Yoon, H.J., Kim, H., Lim, S.H., Choo, Y.S. and Kim, J.G. 2014. Endophytic fungal diversity isolated from the root of halophytes in Taean Peninsula. *Kor. J. Mycol.* **42(1)**, 269-275.