

김무찬¹, 유홍식, 옥미선¹, 김창훈¹, 장동석²

부경대학교 해양산업개발연구소

¹부경대학교 양식학과²부경대학교 식품공학과

1. 서론

Ishio 등이(1989) *Vibrio*屬의 *Chattonella antiqua* 殺藻細菌이 분리한 이후, 여러 연구자들에 의해 각지의 연안해역으로 부터, 적조생물을 사멸시키거나 증식을 저해하는 다양한 살조세균이 계속적으로 분리되고 있어(Sakata *et al.*, 1991; Fukami *et al.*, 1992; Mitsutami *et al.*, 1992; Imai *et al.*, 1993, 1995; Yoshinaga *et al.*, 1995), 이들 살조세균이 적조소멸에 관한 기여가 논해지고 있다.

최근, 적조방제에 있어서도 이들 살조세균을 응용하려는 연구가 진행되고 있다(Ishida *et al.*, 1997). 이들 살조세균을 적조방제에 이용하려는 경우에는, 주위의 생태계에 미치는 영향에 대한 평가가 선행되어야 한다. 즉, 자연환경 중에서 살조세균의 동태 및 그 생리를 검토할 필요가 있는 것이다. 그러나, 藍藻나 矽藻와 같이 한천평판배지상에 증식이 가능한 微細藻는 중층한천평판배지법(Safferman and Morris, 1963, 山本, 1978)을 이용하여, 살조세균의 계수가 가능하므로, 남조 및 규조와 이들 살조세균과의 상호관계에 관한연구(Daft *et al.*, 1975; Mitsutani *et al.*, 1987)는 이전부터 다수 행하여 졌지만, 침편모조 및 와편모조와 같은 대부분의 유해, 유독 적조생물은 한천평판배지에서 증식 불가능하므로, 이들 적조조의 消長과 살조세균의 자연계에서 상호관계에 관한 연구(Kim *et al.*, 1998)는 지금까지 극히 미비하다.

본 연구에서는 chlorophyll-a 변동과 살조세균의 상호관계를 검토하고, 이때 분리한 살조세균의 살조양식, 살조범위(살조특이성) 및 살조활성을 검토하였다.

2. 재료 및 실험방법

적조다발해역인 진동만에서 1정점을 정하고, 1998년 5월 19일부터 7월 7일까지에오후 1시30분 경, 일주일 간격으로 표층수를 채수하여 chlorophyll-a 및 살조세균의 계수 및 분리실험을 위한 試水로 이용했다.

Chlorophyll-a는 표준법으로 측정하였으며, 살조세균의 계수 및 분리는 microplate MPN (most probable number)법을 이용하였다(Imai *et al.*, 1998).

분리한 살조세균 중에서 임의로 3종(H519-1균주, H605-1균주 및 H605-2균주)을 선택하여, 9종의 해산미세조류(4종의 규조, *Chaetoceros* sp, *Coscinodiscus granii*, *Dictylum brightwellii* 및 *Thalassiosira rotula*; 2종의 침편모조, *Chattonella* sp. 및 *H.*

akashii; 3종의 와편모조, *Gymnodinium catenatum*, *Gyrodinium impudicum* 및 *Cochlodinium* sp.)에 대한 이들 살조세균의 살조력 유무 실험(살조특이성 혹은 살조범위)을 행하였다.

살조특이성 실험에서 각 살조세균이 살조력을 가지는 해산미세조류에 대하여, 살조활성 실험을 하였다. 살조활성은 살조세균과 해산미세조류를 2차배양한후, 형광광도계(Tuner Designs 社; Model 10AU-005-CE)를 이용하여, 각 해산 미세조류 배양액의 chlorophyll-a의 감소량 및 증가량을 측정하여, 그 상대치로 판정하였다(Yoshinaga *et al.*, 1995).

또한, 살조세균의 살조양식을 판정하였다. 24 hole microplate에 pore size 0.2 μ m의 TC insert가 삽입된 2조 배양계(TC insert의 내부와 외부는 0.2 μ m의 필터로 격리되어 있으므로, 해산미세조류와 살조세균은 TC insert의 내부와 외부로 이동할수 없지만, 용존성 물질은 이동이 가능함)를 이용하여, 살조세균이 적조조류에 부착하여 사멸(직접공격형)시키는지, 물질을 분비하여(살조인자 분비형) 사멸시키는지를 실험하였다.

3. 결과

3-1. 殺藻細菌과 chlorophyll-a의 變動

본 연구기간 동안, Chlorophyll-a의 농도는 1.56 μ g l^{-1} ~40.37 μ g l^{-1} 범위에서 변동하였다. 5월26과 6월5일에 22.40 μ g l^{-1} 이상의 높은 농도를 나타낸 후, 점차 감소하여, 6월23일에 최소치1.56 μ g/ l 이었다. 그후 급격히 증가하여 6월30일에 최대치40.37 μ g l^{-1} 이었다.

살조세균수는 6.0 $\times 10^1$ cell l^{-1} ~6.4 $\times 10^5$ cell l^{-1} 의 범위에서 변동하였다. 살조세균수는 5월19일부터 증가하기 시작하여, chlorophyll-a가 22.40 μ g l^{-1} 이상의 고농도를 유지하는 6월5일에 최대값 6.4 $\times 10^5$ cell l^{-1} 이었다. 그후, chlorophyll-a가 감소하는 시기에 살조세균수도 점차 감소하여 6월30일에 최소값 6.0 $\times 10^1$ cell l^{-1} 이었다.

3-2. 殺藻特異性 및 殺藻活性

H605-1균주는 실험에 사용된 모든 해산미세조(침편모조, *H. akashiwo*, *Chattonella* sp.; 와편모조, *G. catenatum*, *Gyrodinium impudicum*, *Cochlodinium* sp.; 규조, *Chaetoceros* sp., *Coscinodiscus granii*, *D. brightwellii*, *T. rotula*)를 사멸시켰고, H605-1균주와 동일시기에 분리한 H605-2균주는 4종의 해산미세조(*H. akashiwo*, *G. catenatum*, *Chaetoceros* sp., *Chattonella* sp.)를 사멸시켰으나 나머지 종에 대해서는 살조력을 나타내지 않았다. H519-1균주도 4종의 해산미세조(*H. akashiwo*, *G. catenatum*, *Chaetoceros* sp., *T. rotula*)를 사멸시켰으나 나머지 종은 사멸시키지 못하였다. *G. impudicum*, *Cochlodinium* sp., *C. granii* 및 *D. brightwellii*는 H605S5-15균주에게만 사멸되었다. 그리고 9종의 해산미세조중에서 *H. akashiwo*, *Chaetoceros* sp. 및 *G. catenatum*의 3종은 모든 살조세균에게 사멸되었다. 이와 같이 H605-1균주는 살조특이성이 낮았으며, H605-2균주와 H519-1균주는 H605-1균주에 비해 해산미세조에 대한 살조범위가 한정되어 상대적으로 살조특이성이 높았다.

3-3. 殺藻樣式

3종의 살조세균은 모두 세포외로 물질을 분비하여 살조하는 살조인자분비형 살조세균이었다. TC insert 내부에 *H. akashiwo*와 살조세균을 함께 접종한 모든 positive control well에서는 *H. akashiwo*가 사멸되고, 살조세균 배양액 대신에 세균배지인 ST10⁻¹ 액체배지만 접종한 모든 negative control well에서는 *H. akashiwo*가 사멸되지 않았다. 실험에 사용된 모든 살조세균은 0.2 μ m의 필터로 *H. akashiwo*와 격리되어 있음에도 불구하고 *H. akashiwo*를 사멸시켰다. 이때 *H. akashiwo*가 사멸된 TC insert 내부의 배양액을 DAPI로 염색후 낙사형광현미경 하에서 관찰한 결과 세균은 발견되지 않았다. 따라서 3종의 살조세균은 무엇인가의 물질을 분비하여 *H. akashiwo*를 사멸시키는 살조인자분비형의 살조세균임을 확인하였다.

4. 요약

적조 다발지역인 진동만에서 살조세균의 동태를 파악하기 위하여, 1998년5월19일부터 7월7일까지, chlorophyll-a 및 살조세균의 계수·분리하였고, 분리한 살조세균의 살조특성을 조사하였다.

본 연구기간 동안 진동만에서는 살조세균이 상존하고 있었고, 살조세균의 밀도는 $6.0 \times 10^1 \text{ cell } \ell^{-1} \sim 6.4 \times 10^5 \text{ cell } \ell^{-1}$ 의 범위에서 변동하였다. 살조세균의 밀도가 증가하였을 때, chlorophyll-a의 농도는 감소하는 것으로 나타났다.

살조특성을 조사하기 위해 이용된 살조세균(H519-1균주, H605-1균주 및 H605-2균주)은 모두 살조인자를 분비하여 살조하는 살조인자분비형 살조세균으로 나타났다. 해산미세조(침편모조, *Chattonella* sp.; 와편모조, *G. catenatum*, *Gyrodinium impudicum*, *Cochlodinium* sp.; 규조, *Chaetoceros* sp., *Coscinodiscus granii*, *D. brightwellii*, *T. rotula*)에 대한 살조력 유무를 조사한 결과, H60585-22균주는 실험에 사용된 9종의 해산미세조를 전부 사멸시켰고, H605S5-15균주 및 H519S5-4균주는 각각 *H. akashiwo*, *G. catenatum*, *T. rotula*, *Chattonella* sp.와 *H. akashiwo*, *Chattonella* sp., *Chaetoceros* sp., *G. catenatum*에 대하여 살조력을 나타내었다. 9종의 해산미세조류 중에서 *H. akashiwo*, *Chaetoceros* sp. 및 *G. catenatum*의 3종은 모든 살조세균에게 사멸되었다.

초기밀도 $10^6 \text{ cells } \text{ml}^{-1}$ 의 살조세균을 접종하였을 경우, 대부분의 해산미세조는 실험개시 후 48시간 이내에 사멸되었고, 모든 살조세균은 해산미세조(*Chaetoceros* sp., *H. akashiwo* 및 *G. catenatum*)배양액에 $10^3 \text{ cell } \text{ml}^{-1}$ 를 접종하였을 경우, 48시간이내에 $10^7 \text{ cells } \text{ml}^{-1}$ 이상으로 증식하였다.

參考文獻

Daft, M.J., McCord, S.B., Stewart, W.D.P., 1975, Ecological studies on algal-lysing bacteria in fresh waters. *Freshwat Biol.*, 5, 577-596.

Fukami, K., Yuzawa, A., Nishijima, T., Hata, Y., 1992, Isolation and properties of

a bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasekiense*. Nippon Suisan Gakk., 58, 1073-1077.

Imai, I., Ishida, Y., Hata, Y., 1993, Killing of marine phytoplankton by a gliding bacterium *Cytophaga* sp., isolated from the coastal sea of sea of japan. Mar. Biol. 116, 527-532.

Imai, I., Kim, M.C., Nagasaki, K., Itakura, S., Ishida, Y., 1998, Detection and Enumeration of Killer Microorganisms against Harmful phytoplankton in the Coastal Sea. Plankton Biology and Ecology, 45(1), 15-25.

Imai, I., Ishida, Y., Sawayama, S., Hata, Y., 1995, Algicidal marine bacteria isolated from northern Hiroshima Bay, japan. Fish. Sci., 61, 624-632.

Ishida, Y., Yoshinaga, I., Kim, M.C., Uchida, A., 1997, Possibility of bacterial control of harmful algal blooms. In: M. T. Martins, M.I.J. Sato, J.M. Tiedje, L.C.N. Hagler, J. Dobereiner, P.S. Sanchez (eds): Progress in Microbial Ecology, 495-500.

Ishio, O., Mangindaan, R.E., Kuwahara, M., Nakagawa, H., 1989, A bacterium hostile to flagellates: identification of species and characters. In: Okaichi T, Anderson DM, Nemoto T (eds) Red tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology. Elsevier, New York. 205-208.

Kim, M.C., Yoshinaga, I., Imai, I., Nagasaki, K., Itakura, S., Uchida, A., Ishida, Y., 1998, A close relationship between algicidal bacteria and termination of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) bloom in Hiroshima Bay, Japan. Marine Ecology progress series, 170, 25-32.

Mitsutani, A., Uchida, A., Ishida, Y., 1987, Occurrence of blue-green algae and algal lytic bacteria in Lake Biwa. Bull. Jap. Soc. Microbial. Ecol., 2, 21-28.

Mitsutani, A., Takesue, K., Kirita, M., Ishida, Y., 1992, Lysis of *Skeletonema costatum* by *Cytopaga* sp. isolated from the coastal water of the Ariake Sea. Nippon Suisan Gakk., 58, 2158-2167.

Safferman, R.S., Morris, M.E., 1963, Algal virus isolation. Science, 140, 678-680.

Sakata, T., Fujita, Y., Yasumoto, H., 1991, Plaque formation by algicidal *Saprospira* sp. a lawn of *Chaetoceros ceratosporum*. Nippon Suisan Gakk., 56, 1147-1152.

Yoshinaga, I., Kawai, T., Ishida, Y., 1995, Lysis of *Gymnodinium nagasakiense* by marine bacteria. In: Lassus P, Arzul G, Erard E, Gentien P, Marcaillou C (eds) Harmful Marine Algal Blooms. Lavoisier publishing, Paris, 687-692

山本鎔子, 1978, 寒天重層法による湖沼中ラン藻溶解性生物因子の測定. 陸水學雜誌, 39, 9-4.