

PH2 Identification and Characteristics of a Purple, Non-Sulfur Bacterium, Rhodobacter sp. EGH-24 from Korea Coast

김기한¹, 차미선¹, 이나은¹, 이정은¹, 이상준¹, 박재림*

*신라대학교 환경공학과, 신라대학교 마린-바이오산업화지원센터,
¹부산대학교, 미생물학과,

1. 서 론

Purple, non-sulfur bacteria는 유기물을 많이 함유하고, 오탁이 진행되고 있는 고인 물에서 저급지방산류에서 고급지방산까지 자화를 잘하는 세균이다. 고농도의 폐수 및 유해물질의 처리가 가능하고 운전관리가 용이하다는 장점이 있으며, 생활하수에 비해 10 내지 20배정도 높은 고농도 유기물을 함유하고 있는 축산폐수의 처리에 탁월한 효과가 있으며, 이에 대한 특이적인 악취제거 기능까지 있다(4,5,6-8). 그리고 purple, non-sulfur bacteria는 광조건하에서 폐기질을 이용하여 PHB를 생산함으로써 낮은 생산단가로 환경친화성 물질의 생산을 유도할 수 있다는 장점이 있다. 이러한 특성을 가진 purple, non-sulfur bacteria는 지금까지 대부분이 육수생태계를 중심으로 연구가 이루어져 왔다. 따라서 본 연구에서는 현재까지 대부분의 연구가 육수 생태계를 중심으로 이루어진 purple, non-sulfur bacteria에 대해 삼면이 바다인 우리나라의 특성에 맞춰 해양으로부터 purple, non-sulfur bacteria를 분리하고, 폐수처리 및 생물 사료 등 실제적인 응용이 이루어져야 한다는 필요성을 가지고 새로운 균주를 분리하여, 그 특성과 이용에 관한 탐색을 하고자 하였다.

2. 재료 및 방법

광합성세균을 분리하기 위해서 서해안과 남해안의 47개 지역의 해안에서 mud와 해수를 채취하여 본 실험의 시료로 이용하였다. 균 분리용 배지는 박이 사용한 basal medium을 기초로 하였으며, 47개의 sample을 멸균 생리식염수로 희석하고 basal medium이 든 cap tube에 접종하고, 5000 lux의 백열등 아래 30cm 거리에서 30℃를 유지하면서 혐기상태로 7일간 배양하여 붉은색 또는 갈색을 형성한 것을 다시 2-3회 enrichment culture를 실시하였다. 분리된 균주들을 순수분리하기 위해서 agar-shake tube method에 준하여, 0.4 %의 agar가 첨가된 basal medium에 배양액을 희석 순으로 접종배양 하였다. Tube속에 나타난 구 모양의 단일 집락을 멸균한 tip으로 취한 후 다시 tube에 접종하는 방법으로 반복 배양하여 광합성세균을 순수분리 하였다. 이렇게 순수분리된 균주를 RAPD-PCR을 통해 분류하였고, 분리된 균주를 대상으로 폐수 처리

능을 조사하여 우수한 폐수처리 성능을 가진 균주를 최종 선발하고, 이 균주의 생리학적 특성을 조사하여 동정하였다.

3. 결과 및 고찰

한국 남해안과 서해안의 47 지역에서 해수와 mud시료를 채취하여 Basal medium에 7일간 배양한 후, 붉은색으로 변한 tube 13개를 선별 분리하였고, Agar-shake tube method로 반복 배양하여 5종의 균주들을(EGH-9, 13, 23, 24, 30) 순수분리 하였다. 5종의 순수분리 된 균주들(EGH-9, 13, 23, 24, 30)을 대상으로 RAPD-PCR을 한 결과 EGH-24와 EGH-30은 같은 균주로 확인되어 최종적으로 한국해안에서 순수분리된 광합성 세균은 총 4종으로 확인되었다. 순수분리된 4종의 균주들 중 폐수처리능이 뛰어난 균주를 선별하기 위하여 인공합성폐수를 제조하여 COD감소율을 조사한 결과, EGH-24의 경우 5일 배양한 후 약 68% 정도의 COD 제거율을 나타내어 다른 균주들에 비해 우수한 폐수처리능을 보여 주었다. 따라서 EGH-24를 공시균으로 선정하였다. 공시균주의 형태학적, 배양적, 생화학적 특성과 16S rRNA sequencing 결과를 종합하여 "Bergey's manual of systematic bacteriology"와 "Handbook of microbiology 제2판"을 비교하여 본 결과, 16S rRNA의 분석은 Proteobacteria의 γ subclass에 해당하는 *Marichromatium purpuratum* 와 가장 가깝게 나타났고, purple, non-sulfur bacteria 중에는 β subclass에 해당하는 *Rhodocyclus*속(대부분의 purple, non-sulfur bacteria는 α subclass에 해당)과 가깝게 나타났다. 하지만 Bergey's manual 상의 형태학적, 배양적, 생화학적 부분에서 *Marichromatium* 속과 다르고 *Rhodobacter* 속과 가장 유사한 결과를 가져왔다.

결론적으로 본 실험에서 공시균주로 선정한 균은 *Rhodobacter* 속으로 동정되었다.

4. 요약

한국 서해안과 남해안 47개소의 해수와 mud 시료로부터 광합성세균으로 유추되는 13개의 균주를 분리하였고, agar-shake tube method와 RAPD-PCR을 이용하여 4개 서로 다른 균주를 순수분리 하였다. 4개의 균주 중 폐수분해능이 가장 뛰어난 균을 선정하여, 형태학적, 배양적, 생화학적 특성 및 16S rRNA sequencing에 의한 동정결과 purple, sulfur bacteria 쪽에 가까웠으나 형태학적, 배양학적, 생화학적 특성이 purple, non-sulfur bacteria의 *Rhodobacter* 속에 가장 근접하여, *Rhodobacter* sp. EGH-24로 명명하였다.

참 고 문 헌

- 이은숙, 권애란. 1997. 수소 생성 광합성 세균 *Rhodobacter sphaeroides* KS 56 분리. Korean J. Food & Nutr. Vol. 10, No. 4, 549-552.
- Bergy Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 3. 1989. The William and Wilkins Co., U.S.A. Section 18, 1635-1696.
- 李光雄. 1971. 光合成細菌의 生理 및 利用에 關한 最近의 動向. Kor. Jour. Microbiol.

Vol. 9, 130-138.

Joong Kyun Kim, Bum-Kyu Lee, Sang-Hee Kim, Jung-Hye Moon. 1999.
Characterization of denitrifying photosynthetic bacteria isolated from
photosynthetic