

## 해양세균인 *Lactobacillus* sp. JK-11에서 분리한 bacteriocin의 어병 세균인 *Vibrio* 종과 *Edwardsiella* 종에 대한 살균효과

마채우\* · 천재우 · 이상현 · 오계현

순천향대학교 생명과학부

### 서론

양식 산업은 주로 제한된 구역에서 고밀도로 사육하는 고밀도 방법을 채택하고 있고, 이는 수질환경의 악화 등으로 양식어류의 면역력이 저하되고 병원성 세균이나 기생충에 의한 감염이 쉬운 환경에 직면하는 경우가 많다. 현재 국내에서는 어류의 질병치료 및 감염예방을 위해서 단독 또는 사료에 첨가되어 여러 종류의 항생제들이 사용되고 있다. 이러한 항생제의 지속적인 사용은 내성을 갖는 미생물의 증가를 초래하게 되고, 내성균은 사람에게 전염될 수 있고 양식어 자체의 장내 세균총의 파괴와 함께 항생제의 축적으로 생육에 지장으로 초래하거나 식용시 악영향을 미칠 수 있다. 특히 항생제의 지속적인 사용은 장내에서 서식하는 유익 세균들의 생물학적 균형을 깨뜨려 감염 방어기작에 이상이 생겨 병원성 미생물의 침입이 용이하게 된다(Gatesoups, 1999). 이러한 문제를 해결하기 위하여 살균력을 가진 미생물을 자연에서 분리하여 이를 활용하는 미생물학적 방법이 많은 관심을 받고 있다.

본 연구에서는 새우양식장에서 분리한 *Lactobacillus* sp. JK-11에서 얻어진 bacteriocin을 어류 질병의 원인균인 *Vibrio* 종과 *Edwardsiella* 종의 살균력과 이때 노출된 병원균의 세포형태변화를 주사전자현미경을 통하여 관찰하였다.

### 재료 및 방법

Bacteriocin의 준비: *Lactobacillus* sp. JK-11에서 bacteriocin은 Schillinger et al. (1989)의 방법에 따라 준비하였다. JK-11을 MRS broth에 접종하여 25°C에서 48 시간 동안 배양 한 후 3,500 ×g에서 10분간 원심 분리하여 세균을 제거하고, 1N NaOH를 이용해 pH 7.0로 조절하여 0.45 μm syringe filter로 여과한 후 freeze dryer를 이용하여 5배 농축하였다.

살균력 시험: *Lactobacillus* sp. JK-11에서 얻어진 bacteriocin에 노출된 세균의 살균율을 알아보기 위하여 대상 세균을 액체배지에 접종한 후 대수 성장기를 거치면서 파장 660 nm에서 O.D 값이 0.8일 때, 원심분리를 실시하였다. 상등액은 버리고 얻어진 균체를 3회 세척한 후, 준비된 bacteriocin을 *Vibrio parahaemolyticus*,

*Vibrio harveyi* 그리고 *Edwardsiella tarda*에 노출시켜 살균율을 분석하였다.

주사전자현미경 표본준비: Bacteriocin에 노출된 세균의 세포의 형태 변화를 알아 보기 위하여 주사전자현미경을 이용하여 세포의 외부 형태를 관찰하였다. 주사전자현미경 관찰을 위한 표본준비는 Ng et al. (1985)의 방법에 의거 준비하였다.

## 결과 및 요약

병원성 세균에 대한 살균율 조사

병원성 세균들에 대한 JK-11의 살균력을 조사하였다. 분리 유산균 *Lactobacillus* sp. JK-11의 bacteriocin에 잠재 병원성 세균으로 간주되는 3가지 세균을 노출시킨 후, 30분 간격으로 4시간 동안 고체 배지에 평판 도말하여 살균율을 관찰하였다. 그람 음성 세균인 *Vibrio parahaemolyticus*와 *Vibrio harveyi*를 농축 배양액에 노출시킨 경우 1시간과 1시간 30분 이내에 세균이 모두 사멸하여 고체 배지상에 집락이 관찰되지 않았다. 또한 *Edwardsiella tarda*의 경우 2시간 이내에 사멸하여 집락이 관찰되지 않았다.

주사전자현미경에 의한 bacteriocin에 노출된 세균 관찰

분리 유산균 *Lactobacillus* sp. JK-11의 농축 배양상등액에 병원성 세균을 노출시킨 후 세균의 외부 형태 변화를 주사전자현미경을 이용해 관찰하였다. 정상적인 *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio harveyi*, *Edwardsiella tarda*의 표면은 매끄러운 것으로 관찰되었으나, 각 균주를 농축 배양상등액에 6시간 동안 노출되었을 때 세포들의 외부 형태가 크게 변화하는 것이 관찰되었다. 농축 배양상등액에 노출된 *Vibrio parahaemolyticus*와 *Vibrio harveyi*의 세포 표면은 대부분이 울퉁불퉁하며 움푹 패이거나 쭈그러들어 구멍이 생기고 세포벽이 파괴되는 모습이 관찰되었고, *Edwardsiella tarda*는 대부분의 세포가 쭈그러들었으며 세포의 끝에 구멍이 생겨 끝이 둥글지 않은 세포의 모습이 관찰되었다.

## 참고문헌

- Gatesoups F.J. 1999 : The use of probiotics in aquaculture. *Aquaculture*. 180 : 147-165.  
Schillinger, U., F.K. Lucke. 1989. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 55(8):1901-1906.  
Ng L.K, R. Sherburne, D.E. Taylor, and M.E. Stiles. 1985. Morphological forms and viability of *Campylobacter* species studied by electron microscopy. *J. Bacteriol* 164: 338-343.

## 감사의 글

본 연구는 해양수산부의 수산특정연구개발사업의 지원을 받아 수행되었으며 이에 감사드립니다.