

漢江에서 分離한 psychrophilic yeasts에 關하여

張 光 燁 · 洪 淳 佑

(서울대학교 自然科學大學 微生物學科)

On the Psychrophilic Yeasts Isolated from the Han River

JANG, Kwang Yeop and Soon Woo HONG

(Department of Microbiology, College of Natural Sciences, SNU)

ABSTRACT

Psychrophilic yeast strains, HJ 3011, HJ 3023, and HJ 3021, which were isolated from the Han River during winter season of December 1980 to February 1981 were identified as *Candida* sp., *Candida nivalis*, and *Rhodotorula rubra* respectively.

The effect of temperature on growth was carried out in this study. Growth rate constants of strains HJ 3011 and HJ 3023 were the highest value at 15°C and 16~20°C respectively, and both growth rates diminished gradually above 20°C and were decreased to zero at 25°C. According to the results obtained in this experiment, above two strains of yeast were confirmed as psychrophile. On the other hand since the strain of HJ 3021 exhibited the highest growth rate constant at 15°C and could slightly grow above 25°C, this strain was defined as psychrotroph.

緒 論

地球上의 각종 環境中 生物圈의 大部分은 저온상태이다. 예를 들면 極地方이 地球表面의 14%, 海洋이 71%를 차지하는데 海洋의 90% 정도는 溫度가 5°C 미만으로 추정되기 때문에 (Morita, 1980) 微生物의 生態系에 있어서 psychrophilic이 우점종을 이루리라는 것은 쉽게 생각할 수 있다. 실제로 Ferroni와 Kaminsky(1980)에 의하면 연중 온도가 1°C부터 21°C까지의 변화를 나타내는 호수에서 psychrophilic bacteria가 우점종으로 存在함이 증명되었다. 한편 psychrophilic의 産業的 利用價値는 食品의 저장과 보관에서 찾을 수가 있는데, 냉장된 식품에

서 저온성 미생물이 증식하여 식품을 부패시키거나, 저온에서 食品을 熟成시키는 과정에 이용될 수도 있다. 그러나 국내에서는 psychrophilism 특히 효모류를 대상으로한 이러한分野의 研究는 아직 시도되지 못하고 있는 실정이다. 따라서 著者들은 여기에 관심을 가지고 있던 바, 마침내 漢江水域에서 psychrophilic yeast를 처음으로 分離하였기에 이에 보고하는 바이다.

材料 및 方法

1. 採集과 分離

서울特別市 中心部를 흐르는 漢江水域의 4個 採水場所에서 1980年 12月부터 1981年 2月까지 3회에 걸쳐 表層水를 멸균된 cap-tube에 採水하여 Ice-box에 넣어 실험실로 운반한 다음, ch-

loramphenicol과 streptomycin이 첨가된 YM 平板培地(Wickerham, 1951)에 0.1ml을 接種한 다음 4°C에서 1주일간 培養하여 나타난 colony로부터 1次로 菌株를 分離하였다. 分離된 各 菌株를 다시 YM 平板培地에 계대 接種하여 0°C의 냉장고에서 1주일간 배양한 다음 colony의 형성에 잘 이루어지는 균주를 psychrophilic yeast로 判定하고 이들의 生長可能한 最大溫度와 最適溫度에 따라 psychrophile과 psychrotroph로 구분하였다.

2. 分類 및 同定

0°C에서 colony를 잘 形成한 27 菌株中 3 株를 선택하여 van der Walt(1970)의 實驗方法으로 形態學的, 生化學的 특징을 조사하였으며 Lodder(1970)의 分類 Key에 의하여 分類·同定하였다.

3. 溫度에 따른 生長實驗

分離된 psychrophilic yeast HJ3011, HJ3021, HJ3023을 YM 액체배지 50ml가 첨가된 250ml의 삼각flask에 接種하여 각각 4°C, 10°C, 25°C, 25°C에서 250rpm으로 진탕배양(Environmental-Incubator shaker, New Brunswick, U. S. A)하면서 Petroff-Hauser counting chamber를 이용하여 總菌體數를 측정하여 菌株의 生長曲線을 作成하였다. 한편, 이들의 生長率을 $\mu = 2.303 \times \frac{\log x_2 - \log x_1}{t_2 - t_1}$ (x_2, x_1 : 대수기에서 시간 t_2, t_1 에서의 각각의 菌體數)에 의하여 계산하였다.

結果 및 考察

1. 菌株의 分離 및 同定

HJ 3011, HJ 3021, HJ 3023을 van der Walt의 實驗방법에 의하여 살펴 본 결과, 이들의 形態學的 및 生化學的 特徵은 Table 1에 정리된 바와 같다. 먼저 形態學的 특징에서 3 菌株는 모두 ascospore를 形成하지 않는 것으로 알려졌다. 偽菌絲 形成여부에 관해서는 HJ3021은 形成하지 못하였으나 HJ 3011은 위균사와 眞菌絲를 함께 形成하였고 HJ 3023은 위균사만을 形成하였다. 발효능 實驗에서 galactose, sucrose, lactose, maltose, raffinose를 탄소원으로 사용하였을 경우는 3 菌株 모두 발효능

이 없었으며, glucose를 탄소원으로 사용하였을 경우에는 HJ 3023 菌株만이 발효능을 가지고 있었다. 資化能 實驗에서는 HJ 3011 菌株가 매우 흥미있는 것으로서 glucose와 raffinose만을 資化할 수 있었으며 starch 生成과 arbutin 分解能은 3 菌株 모두 共通점이 없었다. 그 외에 여러가지 形態學的, 生化學的 特徵을 종합한 결과 HJ 3011 菌株는 *Candida* sp., HJ 3021 菌株는 *Rhodotorula rubra* 로 그리고 HJ 3023 菌株는 *Candida nivalis*로 判定할 수 있었다. 한편 psychrophilic yeast에 있어 지금까지 보고된 예는 *Cryptococcus*, *Candida*, *Leucosporidium*, *Rhodotorula*屬에 속하는 상당히 많은 種들이 있다(Farrel and Rose, 1967; Hagen, 1961; Baxter and Gibbons, 1962; Watson 등, 1975; Srivastava and Smith, 1979).

이들 psychrophiles은 大部分 極地方 또는 심해와 같은 저온인 海洋環境에서 分離되었으며 담수지역의 psychrophilic bacteria는 Ferroni와 Kaminski(1979, 1980)에 의해서 캐나다의 호수에서 분리되어 보고된 바가 있으나 온대지방의 河川담수에서 分離된 psychrophilic yeast에 대한 보고는 희귀한 편이라 하겠다. 이런 뜻에서 著者들은 分類한 두 개의 *Candida* 菌株 중 하나는 *Candida nivalis*로 同定하였으나 다른 한 種은 더욱 신중을 기하여 *Candida* sp.로 남겨두었으며, 나머지 한 균주는 *Rhodotorula rubra*로 쉽게 同定하였다. 한편 *Candida* sp.에 대한 種의 判定는 추가로 培養실험을 통하여 확정 보고할 예정이다.

2. 生長에 미치는 溫度의 영향

psychrophilic microorganism에 대한 定義는 學者들간에 약간의 차이가 있다. Ingraham과 Stokes(1959)는 obligate psychrophile은 0°C에서 잘 자라고(잘 자란다는 말은 평판배지에 接種하여 0°C에서 1주일 이내에 육안으로 관찰이 가능한 colony 형성을 가리킴) 最適生長溫度가 20°C 이하인 微生物이라고 정의한 반면, Morita(1975)는 最適生長溫度가 15°C 이하, 最大生長溫度가 20°C 인것을 obligate psychrophile, 15°C 이상의 最適生長溫度를 갖는 것을 facultative psychrophile이라고 제시하였다. 최근엔 Kaminsky와 Ferroni(1980)는 위의 정의를 인용하

Table 1 . Morphological and biochemical characteristics of three psychrophilic yeasts isolated from the Han River.

	<i>Candida</i> sp. HJ 3011	<i>Candida nivalis</i> HJ 3023	<i>Rhodotorula rubra</i> HJ 3021
Source	H. River	H. River	H. River
Shape of the cell	oval,	spherical,	elongate or oval
Size of the cell	(4-5) x (5-6) μ m	(2.8-5.6) x (3.0-6.0) μ m	(2.5-6.5) x (4.5-10) μ m
Slide culture	pseudomycelium or true mycelium	pseudomycelium	lack of mycelium
Ascospore	none	none	none
Pigment of colony	white, pallid	creamy	pink
Fermentation	negative	glucose + galactose w raffinose w the others are negative	negative
Assimilation			
Glucose	+	+	+
Galactose	w	+	+
Sucrose	w	+	+
Maltose	-	-	-
Lactose	-	-	-
Melibiose	-	+	-
Raffinose	+	+	+
Inulin	-	-	-
Soluble starch	-	-	-
D-Xylose	-	+	-
L-Arabinose	-	+	+
D-Ribose	-	+	+
L-Rhamnose	-	-	-
KNO ₃	+	+	-
Growth on 50% glucose	-	-	-
Growth at 37°C	-	-	w
Growth at 0°C	+	+	+
Starch production	+	-	+
Arbuting splitting	-	+	-

면서 obligate psychrophile을 psychrophile, facultative psychrophile을 psychrotroph라고 하는 것이 좋다는 주장을 하고 있다. 本實驗에서는 Kaminski와 Ferroni의 제의에 따라, psychrophile, psychrotroph라 칭하기로 하였다.

Fig. 1에서와 같이 HJ3011菌株의 生長에 미치는 溫度의 영향은 4°C, 10°C에서 유도기가 길고 15°C에서는 유도기가 없는 상태로 生長하며 균체수도 가장 많은 수로 증식하였다. 그러나 20°C에서 生長이 감소하다가 25°C에서 生長

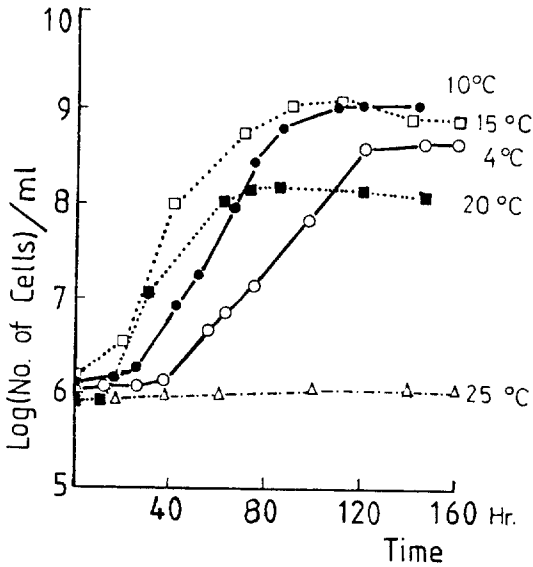


Fig. 1. The effect of temperature on the growth of strain HJ 3011

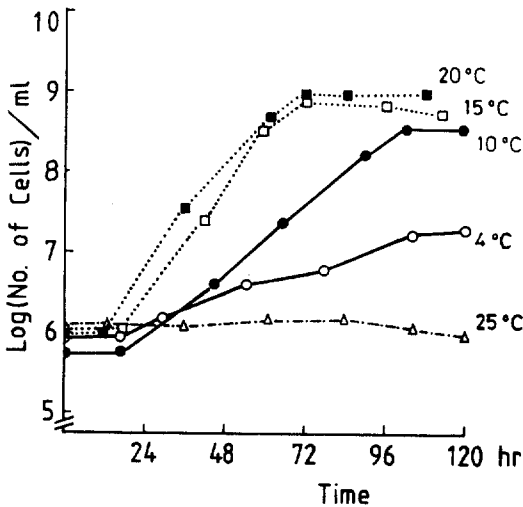


Fig. 2. The effect of temperature on the growth of strain HJ 3023.

이 거의 이루어지지 않았으며 Fig. 2에서 보는 바와 같이 HJ3023도 25°C에서는 생장이 되지 않는 반면 最適生長溫度는 15-20°C임을 알 수 있었고, Fig. 3은 HJ3021균주에 미치는 온도의 영향으로서 20°C 이상에서 최적 생장온도가 나타난다. 또한 HJ3021균주는 Table 1에서 알 수 있듯이 37°C에서 약간 생장할 수 있으며 3균주를 0°C에서 배양해 본 결과 접종할 72-96시간 후에 모두 colony를 잘 형성하므로 Ingraham과 S-

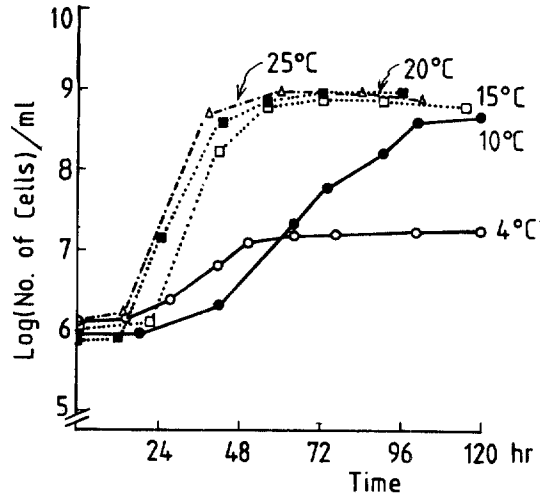


Fig. 3. The effect of temperature on the growth of strain HJ 3021.

tokes (1959)의 정의에 따르면 HJ3023균주는 psychrophile, HJ3021균주는 psychrotroph이라고 할 수 있으며 Morita (1980)의 정의에 의하면 HJ3011균주만이 psychrophile에 해당하는 것이라 할 수 있겠다.

3. 溫度에 따른 生長率

Fig. 4에서 psychrophile인 HJ3011균주의 생

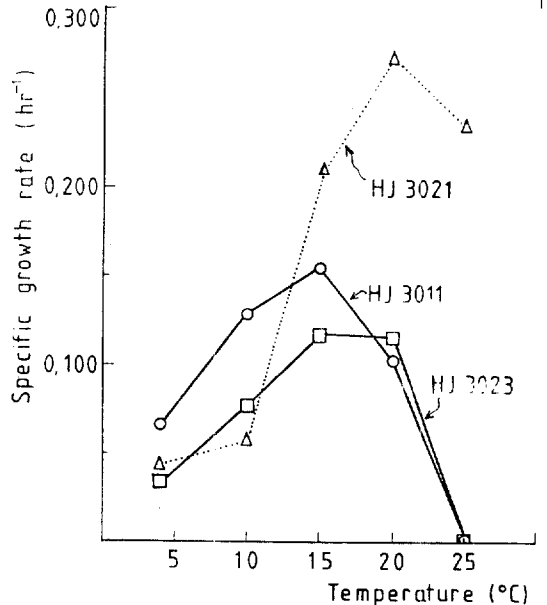


Fig. 4. The growth rate constants of three psychrophilic yeast strains according to temperature change.

長率은 15℃에서 0.154로 최대값을 나타내고 HJ3023균주는 15-20℃에서 최대값을 나타내나 2균주 모두 25℃에서는 生長率이 0이었다. 그러나 psychrotroph인 HJ3021균주는 20℃에서

生長率이 0.274로 최대이며 25℃에서는 0.236 정도로 25℃ 이상에서도 生育이 可能함을 알 수 있었다.

摘 要

漢江에서 分離한 psychrophilic yeast 中 HJ3011, HJ3023, HJ3021균주 등을 각각 *Candida sp.*, *Candida nivialis*, *Rhodotorula rubra*로 分類·同定 할 수 있었으며, 그들의 溫度에 따른 生長效果를 비교 검토하여 본 결과 psychrophile인 HJ3011균주는 15℃에서 HJ3023균주는 15-20℃에서 生長率이 最大이며 2菌株 共히 25℃에서는 증식하지 않았고 psychrotroph인 HJ3021균주는 20℃에서 生長率이 最大이며 25℃ 이상에서도 生長이 可能함을 알았다.

引 用 文 獻

- Baxter, R. M. and N. E. Gibbons, 1962. Observations on psychrophilism in a yeast. *Can. J. Microbiol.* 8, 511-517.
- Farrel, J. H. and A. H. Rose, 1967. Temperature effects on micro-organisms. *Ann. Rev. Microbiol.* 21, 101-120.
- Ferroni, G. D. and J. S. Kaminski, 1980. Psychrophiles, psychrotrophs, and mesophiles in an environment which experiences seasonal temperature fluctuations. *Can. J. Microbiol.* 26, 1184-1191.
- Hargen, P. O. and B. H. Rose, 1961. A psychrophilic *Cryptococcus*. *Can. J. Microbiol.* 7, 287-294.
- Ingraham, J. L. and J. L. Stokes, 1959. Psychrophilic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 23, 97-108.
- Lodder, J., 1970. The yeasts, 2nd ed., North-Holland Pub. Co.,
- Morita, R. T., 1975. Psychrophilic bacteria. *Bacteriol. Rev.* 39, 144-167.
- Morita, R. T., 1980. Low temperature, energy, survival, and time in microbial ecology. In "Microbiology-1980" ed. by D. Schlessinger. ASM conference, 1979. pp. 323-324.
- Srivastava, K. C. and D. G. Smith, 1979. Growth and survival studies of psychrophilic and mesophilic yeasts. *Microbios* 25, 45-62.
- Van der Walt, J. P. 1970. In "The yeasts." ed. by J. Lodder. North-Holland Pub. Co., p. 34~113.
- Watson, K., H. Arthur, and W. A. Shipton, 1975. Leucosporidium yeast: obligate psychrophiles which alter membrane lipid and cytochrome composition with temperature. *J. Gen. Microbiol.* 97, 11-18.
- Wickerham, L. J., 1951. Taxonomy of yeasts, U.S. Dept. of Agriculture, Technol. Bull. No. 1029, 1-56.