

*Caulobacter*의 細胞의 形態 및 機能의 分化에 대한 塩素 및 塩素化合物의 影響

Effects of chlorine and chlorine compounds on morphology and function of *Caulobacter* cells

金致卿 · 朴文楠 · 廉錕*

忠北大學校 自然大 生物學科 · 國立保健院 眞菌科*

Chi-Kyung Kim, Moon-Kook Park, and Kon Yum*

Dept. of Biology, College of Natural Sciences, Chung-buk National University, and Dept. of Mycology,
National Institute of Health*

Abstract

Caulobacter is distinctive in the morphology and replication and ubiquitous in the biosphere, especially in every type of aquatic environment. In water and waste-water treatment processes, chlorine and chlorine compounds have been used as a main disinfectant throughout the world. Therefore, *Caulobacter* in the waters should be affected by chlorination of the waters. The objective of this study is to determine the effects of the disinfectants on *Caulobacter* cells and on the developmental processes of the cells.

The *Caulobacter* swarmer cells were disinfected by chlorine at pH 7.0 minutes of the reaction with 2.0 mg/l of infected at pH 10.0. The swarmer cells treated with 2.0 or 4.0 mg/l of chlorine for 15 minutes lost their flagella and were observed by electron microscopy to be damaged on their cell surfaces, discharging some cellular materials. When the chlorinated swarmers and untreated control samples were recultivated in fresh PYE broth medium, the control swarmers multiplied exponentially after one-hour lag phase, whereas the chlorinated swarmers extended the lag phase to about four hours. During the extended lag phase, the cells were proved by electron microscopy to be grown and be in predivisional step, but no swarmer cell was found.

When the stalked cells were chlorinated, almost all the cells were observed to have their stalks broken and some cellular materials discharged. In those samples recultivated, many cells differentiated to possess an abnormally elongated stalk with several crossbands on it. This suggests that the chlorine-shocked *Caulobacter* cells can develop to abnormal morphology in water environments which they can survive and regrow in.

I. 서론

*Caulobacter*는 수중이나 다습한 토양 등 지구상에 널리 분포하고 있는 생태학적 특성과, 세포 형태상의 특수성 때문에 많은 관심의 대상이 되어 왔다. *Caulobacter* 세포는 한쪽 극에 stalk를 갖고 극성을

나타내며 비대칭형의 분열에 의하여 swarmer 세포가 만들어 지고 이 swarmer 세포는 한개의 편모를 갖고 유영생활을 하다가 편모가 유실되는 동시에 같은 부위에서 stalk를 형성하는 독특한 세포의 생장회로(life cycle)를 반복한다.

그러므로 *Caulobacter*의 각 세포기관의 분화과정에 대한 외부의 물리적 또는 화학적 환경 요소의 영향에 대한 세포학적 연구는 비교적 많이 수행되어 왔다. Schmidt와 Stanier(1966)는 인산이 결핍된 배지에서 *Caulobacter crescentus*를 배양할 경우 stalk의 성장이 촉진된다고 보고하였는데, 인산의 농도가 0.2mM인 경우에 stalk의 길이는 2~3mM인 반면에 0.01mM에서는 14~18mM이나 되었다.

Poindexter(1981)는 양분이 부족하여 세포의 생장이 억제되는 자연환경에서나 인공 배양액에서는 stalk가 이상적으로 길어질 뿐만 아니라 때로는 세포의 양극에서 stalk가 형성된다고 보고하였다. 또 Schmidt와 Stanier(1966)는 actinomycin D, puromycin, streptomycin 그리고 chloramphenicol과 같은 세포의 성장을 억제하는 항생물질에 의하여 stalk의 분화 발달은 저해된다고 하였다.

Caulobacter 세포는 mitomycin C(Haars등, 1974), penicillin G(Terrana등, 1976), cis-platinum(II) diaminedichloride(Moore등, 1976)에 의하여 분열이 억제되면서 세포는 성장하여 사상(filamentous) 세포가 형성된다는 것이 보고되었다. Penicillin에 의하여 유발된 이 사상세포는 penicillinase에 의하여 다시 분열이 재개되어 swarmer 세포가 생성되는데 이 swarmer 세포는 사상세포의 절반에 해당되며, 그후 stalk도 형성된다고 Terrana와 Newton(1976)은 보고하였다.

상하수에 살균 목적으로 염소를 처리할 때, 방류수(effluent)에 잔류하는 유리 염소와 그 염소가 하수의 유기 오염 물질과 반응하여 생성되는 염소 화합물이 수중 생물에, 특히 그 유충에 직접 독성을 나타내거나(Capuzzo등, 1976), 증식을 억제하거나(Madmore등, 1973) 또는 수중 미생물의 유전 물질에 영향을 주어 돌연변이를 일으킨다(Shih등, 1976)는 등, 제 2차적인 환경 문제에 관한 보고가 근래에 급증하고 있다.

수중미생물에 대한 염소의 살균 작용은 주로 enteric bacteria를 재료로 하여 여러가지 각도에서 연구 보고되고 있다. Green등(1946, 1948)은 염소가 세포의 탄수화물 대사에 저해작용을 하며 특히 aldolase가 염소의 주요 작용표적이라고 하였다. 또 Bringman(1953)는 염소가 *E. coli*의 형태에는 변화를 일으키지 않는다고 보고하였다. 그의 염소의 작용기작에 대해서는 단백질 합성의 저해(Bernade등, 1967)

염색체의 변화 유발(Ingols, 1958), 산화성 인산화반응의 저해(Venkobachar등, 1977), 세포막 기능의 파괴(Camper등, 1979)등 여러 보고가 있으나 아직 결론적인 단계에는 이르지 못하고 있다.

그러나 하수 뿐 아니라 양분이 없는 상수에도 *Caulobacter*가 많이 서식하고 있는 생태학적 특징에도 불구하고 상하수의 살균 처리에 사용되는 염소 또는 염소 화합물이 이 세균의 세포나 그 분화 과정에 미치는 영향에 대한 연구 보고는 전혀 없었다. 그러므로 본 연구의 목적은 염소 및 몇가지의 염소 화합물이 *Caulobacter* 세포의 형태 및 분화 과정에 미치는 영향을 연구하는 것이다.

II. 실험재료 및 방법

1. 시험 세균과 그 배양

본 실험에 사용한 세균은 *Caulobacter crescentus* ATCC # 15252로서 그 균주는 The Ohio State Univ., Dept. of Microbiology, Culture collection laboratory로부터 분양받았다. 이 세균을 Peptone Yeast Extract (PYE) 한천 또는 용액 배지(Poindexter, 1964)를 사용하여 30°C에서 정지 배양하였다.

2. Swarmer 세포의 분리

*Caulobacter*의 두가지 세포 형태 중 swarmer population은 Staley등(1973)이 개발한 swarmer elution technique에 의하여 얻었다. 250ml의 분액 여두에 100ml의 PYE용액 배지와 직경이 4mm인 유리 구슬 300g을 넣고 멸균한 다음 *C. crescentus*를 접종하였다. 30°C에서 24시간 배양한 후 약 21의 멸균된 PYE 용액 배지를 사용하여 유리 구슬에 부착되지 않은 세포들을 모두 유출시킨 다음 미리 준비한 30°C의 배양용액 100ml를 넣고 30°C에서 15분간 배양하였다 유리 구슬에 부착된 stalked cell로부터 분열되어 용액 속으로 유리된 swarmer 세포를 유출시켜 회수하였다. 배양액에 포함되어 있는 이 swarmer 세포들을 7,000rpm의 속도로 25분간 원심분리하여 침전된 세포들을 chlorine demand-free(CDF)인 2차 증류수에 현탁시켜 염소 처리 실험에 사용하였다. 이와 같이 얻은 시료를 Gray's flagella stain(Doetsch, 1981)의 방법으로 염색한 후 1,500배의 광학 현미경으로 관찰한 결과 90% 이상이 swarmer cell인 것을 확인할 수 있었다.

3. 염소 및 염소 화합물의 준비

염소 용액은 Sodium hypochlorite(6.4%) 용액(H-

ayashi pure chemical Ind.)을 멸균된 CDF water를 사용하여 실험 직전에 필요한 농도는 희석하여 사용하였다. 염소 농도는 Standard Methods (1976)의 방법에 의하여 측정하였다. Monochloramine은 Kinman 등 (1976)의 방법에 의하여, chlorine dioxide는 Standard Methods의 방법에 의하여 준비되었으며 농도는 DPD ferrous titrimetric method와 Iodometric method에 의하여 각각 측정하였다. CDF water와 시료의 잔존 염소를 중화시키기 위하여 사용한 sodium thiosulfate는 Standard Methods의 방법에 의하여 준비하였다. 실험에 사용한 유리 기구들은 Chlorine demand를 없애기 위하여 농도 1 mg/ℓ의 염소 용액에 6시간 담가둔 후 CDF water로 여러번 세척하여 사용하였다.

4. Swarmer 세포에 대한 염소 및 염소 화합물의 처리

염소 용액 27ml에 3ml의 Swarmer 세포 용액을 혼합하여 실온에서 반응을 시작한 후 5분, 15분, 30분 후에 4ml의 시료를 채취하여 0.05% Sodium thiosulfate 0.2ml를 첨가하여 잔존 염소의 작용을 중지시켰다. 이 실험에 사용한 농도의 sodium thiosulfate는 *C. crescentus*의 생존에 아무런 영향을 끼치지 않았다. 시험한 염소 농도는 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 mg/ℓ이었으며, 대조 실험에서는 염소 용액 대신에 CDF water를 사용하였다. Monochloramine과 chlorine dioxide의 실험도 같은 방법에 의하여 실시하였다.

물에 용해된 염소는 PH 5에서는 거의 전부 hypochlorous acid, PH 10에서는 거의 전부 hypochlorite ion 형태로 존재하기 때문에 hypochlorous acid와 hypochlorite ion의 살균 효과를 비교하기 위하여, 염소 용액의 PH를 0.1 N HCl과 0.1N NaOH를 사용하여 5.0, 7.0과 10.0으로 조절하여 실험하였다.

5. 염소 처리된 세포의 성장과 분화

염소 및 염소 화합물로 처리된 *Caulobacter* 세포를 새 배양 용액에서 재배양 할 때 나타나는 세포의 성장 및 분화를 실험하기 위하여 2.0mg/ℓ와 4.0mg/ℓ의 염소 농도에서 15분간 처리한 시료를 각각 3.0ml씩 취하여 27ml의 새 PYE 용액 배지에 혼합하여 30℃에서 15시간 동안 배양하면서 생존 세포 수의 변화를 측정하였다. 동시에 염소로 처리된 세포 뿐 아니라 재배양 기간 중의 세포의 형태적인 변화를 전자현미경으로 관찰하였다.

6. 생존 세균 수의 측정

염소 및 염소 화합물로 처리한 *Caulobacter*의 시료와 대조군의 생존 세균 수는 실온에서 멸균된 수도물로 십진 희석한 다음 pour plate method에 의하여 측정하였다. 염소로 처리한 시료는 처리 시간이 끝나는 즉시 sodium thiosulfate로 잔유 염소를 중화시켰으며, PH가 다른 염소 용액으로 처리했을 때는 처리 후 즉시 PH를 중화시켜 유리 염소가 아닌 PH에 의한 영향을 배제한 후 생존 세균 수를 측정하였다.

7. 광학 및 전자 현미경에 의한 관찰

염소로 처리하기 전후의 시료에서 *Caulobacter*의 swarmer 뿐 아니라 stalked cell의 형태적인 특징을 비교 관찰하는 동시에 염소 처리된 세포의 재배양 기간동안 형태적인 변화 및 분화 과정을 관찰하였다. 광학 현미경 관찰의 경우에는 시료를 받침 유리에 도발한 후 Gray's flagella stain 방법으로 염색하여 Kyowa Microlux 63-4931 광학 현미경으로 1,500배 관찰하였다. 전자 현미경으로 관찰하기 위해서는 formvar와 탄소로 피막된 300mesh의 동제grid에 시료를 점적한 후 1%의 phosphotungstic acid로 negative staining을 하여 Joel model JEM-50B 전자현미경으로 50Kv의 전원을 사용하여 관찰하였다.

Ⅲ. 결 과

1. *Caulobacter*에 대한 염소의 살균 효과

*C. crescentus*의 swarmer 세포에 대한 염소의 살균 효과는 Fig. 1에서와 같이 1.0, 2.0, 그리고 4.0 mg/ℓ의 염소(pH 7.0)로 15분간 처리하였을 때, 각각 0.5, 2.5, 그리고 4.0 log의 세균이 살균 감소되었다. 30분간의 처리 후에는 0.5mg/ℓ의 염소에서는 살균효과가 거의 없었으나 1.0, 2.0, 그리고 4.0mg/ℓ의 농도에서는 각각 2, 4 그리고 4.5log의 세균이 감소되었다.

염소 용액 내의 유리 염소는 용액의 산성도에 따라 hypochlorous acid 혹은 hypochlorite ion의 형태로 존재하므로 이들의 살균 효과를 비교하기 위하여 염소 용액의 pH를 5.0, 7.0, 그리고 10.0으로 조절하여 처리하였다. 그 결과는 Fig. 2에서와 같이 처리 시간 15분까지는 pH 5에서의 살균 작용이 pH 7보다 높았으며 pH 10에서의 효과는 거의 없었다. 그러나 30분간의 처리 후에는 세가지 pH의 경우 모두 그 효과가 대체로 비슷해져서 2.5~4log의 세균이 살균 감소되

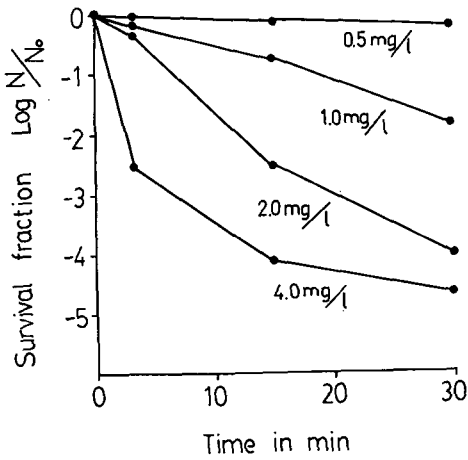


Fig. 1. Disinfection effects of chlorine on *Caulobacter crescentus* swarmer cells. The swarmer cells treated with various concentrations of chlorine, pH 7.0, were enumerated for viable cells after neutralizing the residual chlorine with sodium thiosulfate.

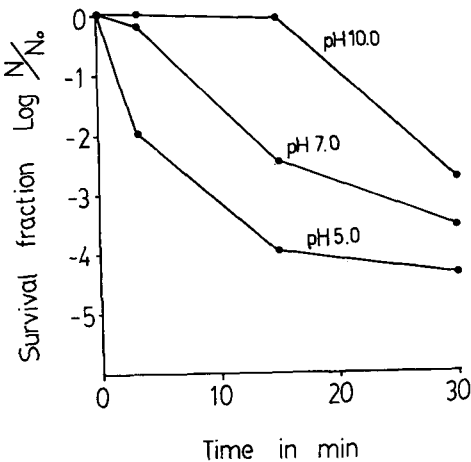


Fig. 2. The pH effects on chlorine disinfection of *C. crescentus* swarmer cells. The swarmer cells treated with 2.0 mg/l chlorine at pH 5.0, 7.0, and 10.0, respectively, were neutralized for the pH and residual chlorine, and then enumerated for viable cells.

었다.

2. 염소와 monochloramine 및 Chlorine dioxide의 살균 효과의 비교

*Caulobacter*의 swarmer 세포에 대한 염소와 monochloramine 및 chlorine dioxide의 살균 효과는 20°C와 pH 7에서 각각 2mg/l의 농도를 사용하여 비교하였다. 그 결과는 table 1에서와 같이 chlorine dioxide의 살균 효과는 15분과 30분 처리의 경우 모두 chlorine의 살균 효과는 위의 두 살균제에 비하여 훨씬 낮았다.

Table 1. Comparative effects of chlorine and chlorine compounds on their disinfection of *Caulobacter* at 2.0 mg/l, pH 7.0, and 20°C.

Disinfectant	Survival fraction (N/N ₀) ^a when chlorinated for	
	15 minutes	30 minutes
Chlorine	-2.2	-3.3
	10	10
Monochloramine	b	-1.0
	-	10
Chlorine dioxide	-20	-3.5
	10	10

a, Values represent averages from three trials.

b, Not determined.

3. *Caulobacter swarmer*의 세포 형태에 대한 염소의 영향

100ml의 PYE 용액 배지와 유리 구슬을 포함하는 분액 여주 속에서 1일간 배양하였을 때 *Caulobacter*의 세포수는 약 10⁹ CFU/ml에 이르렀으며 이 배양액으로부터 Staley 등의 elution 방법에 의하여 얻은 용액에는 약 2.5×10⁶ CFU/ml의 swarmer 세포만이 존재하였다. 그 대표적인 swarmer 세포를 전자현미경으로 관찰했을 때의 형태는 Fig. 3A와 같이 세포의 한 쪽 극에 한 개의 편모를 갖고 있었다.

*Caulobacter*의 swarmer 세포의 형태 및 분화에 대한 염소의 영향을 pH 7에서 2mg/l와 4mg/l의 염소로 15분간 처리하여 시험하였다. 2mg/l의 염소로 처리했을 경우 많은 수의 swarmer 세포들은 Fig. 3 B에서와 같이 편모가 세포로부터 떨어져 나갔으며 세포 표면에 손상이 일어났고 내용 물질의 유출이 관찰되었다. 그러나 분리된 편모는 전자 현미경 상으

로 그 구조의 변화가 관찰되지 않았다. 4.0mg/l의 염소로 처리한 시료에서도 swarmer 세포는 2mg/l의 염소로 처리했을 때와 유사한 형태상의 손상만이 관찰되었다.

4. 염소 처리한 Swarmer 세포의 분화와 성장

2mg/l와 4mg/l의 염소로 15분간 처리한 swarmer 세포와 염소 처리를 하지 않은 대조세포군의 시료를 새로 만든 PYE 용액 배지에 1:10의 비율로 접종하여 15시간 배양하는 동안 *Caulobacter* 세포수의 변화를 측정하였다. 그 결과는 Fig. 4 에서와

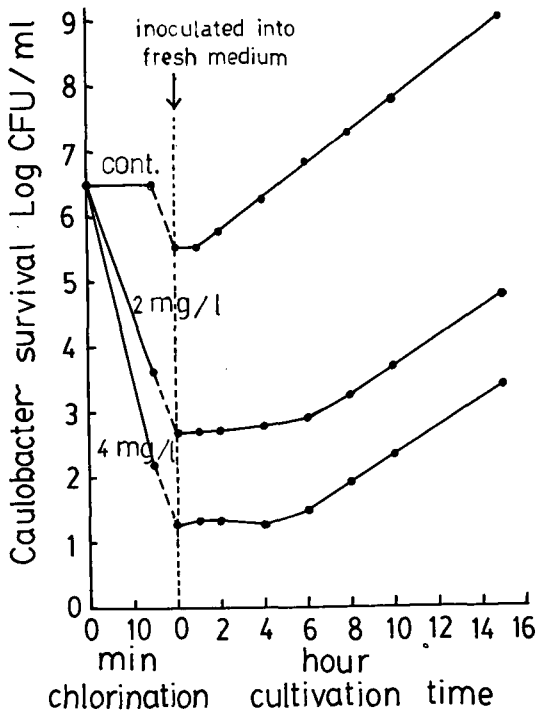


Fig. 4. Changes in the number of *C. crescentus* cells during chlorination and recultivation of the chlorinated cells in fresh medium. The swarmer cells were treated with 2.0 mg/l and 4.0 mg/l of chlorine, respectively, for 15 minutes. The control and chlorinated samples were inoculated into the fresh media at the ratio of one-tenth and then reincubated at 30°C for 15 hours.

같이 대조군의 세포는 약 1시간의 lag phase가 지난 후 72분의 배수증식기간(doubling time)으로 대수 증가하기 시작했으나 염소 처리를 받은 두 경우에는 모두 약 4시간의 lag phase를 지난 후 대수 증식이 시작되었다. 이 두 경우에는 배수증식 시간이 각각 81분과 86분으로 큰 차이가 없었다.

염소 처리를 받은 swarmer 세포를 새로 만든 용액 배지에서 재배양할 경우 세포의 분화 및 성장에 따라 나타나는 형태적인 변화를 전자 현미경으로 관찰하였다. 약 2시간 동안 재배양한 시료에서 관찰한 swarmer 세포들은 짧은 stalk를 갖는 세포들이 대부분이었으며 이는 시료중 염소에 의한 손상을 받지 않은 swarmer 세포들이 stalk를 형성해 가는 과정인 것으로 해석된다. 약 3시간 동안 재배양한 시료에서는 Fig. 5에서와 같이 stalk와 세포가 모두 성장하여 정상적인 culture에서 발견되는 세포들이 관찰되었으나 swarmer 세포들은 발견되지 않은 것으로 보아 아직 분열 이전의 단계인 것으로 해석된다. 이는 염소 처리를 받았으나 파괴되지 않은 swarmer 세포들이 stalk 및 세포의 성장을 재개하며 분열되기까지는 적어도 4시간 정도의 lag phase를 필요로 하는 Fig. 4에서와 결과와 일치하였다.

5. 염소 처리한 Stalked cell의 형태적 변화와 이상 분화(abnormal differentiation)

stalked cell에 대한 염소의 영향을 시험하기 위하여 약 80% 이상이 stalked cell로 구성되어 있는 *Caulobacter*의 whole culture를 2mg/l와 4mg/l의 염소로 15분간 처리하였다. 두 경우 사이에는 큰 차이가 발견되지 않았으며 세포 형태에 나타나는 대표적인 변화는 Fig. 6에서와 같이 stalk가 부러지거나 stalk의 표면 구조가 부풀어 나는 변화가 관찰되었다 때로는 세포 표면이 부분적으로 손상을 받아 내용물질의 유출이 일어났다.

이 시료를 약 1~2시간 동안 새 배지에서 재배양하였을 때에는 Fig. 7에서와 같이 stalk가 이상적으로 길게 분화된 세포들이 다수 관찰되었다.

IV. 고 찰

*Caulobacter*는 stalk에 정착성이 있기 때문에 용액 내에서 스스로 정착하여 rosette를 형성하므로 생존 세균 수의 측정에 어려움이 있었으나, 희석 용액으로서 멸균한 증류수, 수도물, 0.1% peptone 용액, 생리적 식염수를 시험한 결과 peptone 용액과 수도물

에서 좋은 결과를 얻었으므로 본 실험에서는 멸균된 수도물을 사용하였으며 pour plate 방법이 도말법 보다 성적이 좋아 전 과정에서 pour plate 법으로 생존 세균 수를 측정하였다.

swarmer 세포의 준비를 위해서는 원심분리법을 시도하였으나 좋은 결과를 얻지 못하였으며 Staley 등의 elution method에 의하여 약 10^8 cell/ml의 swarmer population을 얻을 수 있었다. 광학 및 전자현미경의 검사 결과로 이 시료에서는 swarmer 세포들이 rosette를 형성하지 않고 단세포로 존재한다는 것을 확인할 수 있었는데, 이런 상태에서 모든 세포는 염소의 작용을 균등하게 받을 수 있다고 해석할 수 있다.

Enteric bacteria에 대한 염소의 살균 효과에 대해서는 많은 보고들이 있었다. Comper와 McFeters(1979)에 의하면 0.5mg/l의 염소를 처리했을 경우에 *E. coli*는 약 2log의 세균이 살균되었으며, 중성 PH에서 약 4~6log의 세균 감소가 있었다. (Paliu, 1975) 이에 비하여 *Caulobacter*에 대한 염소 살균을 enteric bacteria보다 높은 농도가 요구되었다.

Bringman(1953)은 염소 처리에 의하여 유발되는 세포 형태의 변화를 *E. coli*에서 발견하지 못하였으나, Venkobachar 등(1977)은 macromolecule의 유출을 관찰하였고, Pulvertaft 등(1948)은 Sodium hypochlorite에 의한 세균의 용균 현상을 보고하였다. 이에 비추어 *Caulobacter*에서 염소에 의하여 세포 표면의 변화와 함께 내용 물질의 유출이 관찰된 것은 Venkobachar 및 Pulvertaft 등의 결과와 동일하였다.

염소 처리에 의한 장내 세균의 손상과 재생 문제에 대하여 몇가지 보고가 있었으나(Braswell 등 1974 Maxcy, 1973), 새 배지에서 생장 세균의 증식을 측정하는데 그쳤다. Camper와 McFeters(1979)는 0.5mg/l의 염소에 8분간 처리받은 *E. coli*는 대조군에 비하여 lag phase가 연장된 후 대수 증식이 일어났다고 보고한 것은 *Caulobacter*의 본 연구 결과와 동일하였으나 lag phase의 연장 정도가 다른 것은 세균의 종류 및 처리한 염소의 양과 처리 시간의 차이에 의한 것으로 해석된다. 그러나 *Caulobacter swarmer*는 파손된 세포가 재생되는지 또는 손상을 받지 않은 세포가 염소 충격에 의하여 성장 및 분열이 완만해지는 것인지는 아직 확실하지 않다.

*Caulobacter*의 swarmer와는 달리 stalked cell에 염소를 처리한 후 새 배지에서 재배양할 때 stalk에

몇개의 crossband가 나타났지만 새로운 swarmer 세포들이 발견되지 않은 것은 파괴되지 않은 stalked cell이 염소 충격에 의하여 세포 성장과 분열 없이 stalk만 이상 분화한 것으로 해석된다. 이와같은 stalk의 장대화는 Schmidt와 Stanier (1966)의 인산결핍 효과와 Poindexter(1981)의 양분 부족에 의한 stalk의 장대화 등과 동일한 기작에 의한 것인지는 아직 확실하지 않다. 그러나 그 원인 요소들이 모두 외부의 환경 요소라는 점에서 수중의 *Caulobacter*가 독특한 세포 형태로 변화되는 것이 확인된다면 이는 그 수질의 오염 정도나 오염 물질의 종류와 어떤 상관관계가 있지 않느냐 하는 생태학적인 의미를 제시하게 되는 것이다.

V. 결 론

*Caulobacter crescentus*의 swarmer 세포에 대하여 염소의 살균 효과는 PH 7 인 2.0mg/l의 염소로 15분간 처리했을 때에 약 2.5log의 세포 수가 감소되었으나 PH 5 일 때에는 -4log의 살균력을 나타내고 PH 10일 때에는 효과가 거의 없었다.

2.0mg/l의 chlorine dioxide에 의한 *Caulobacter*의 살균 작용은 훨씬 적었다.

2.0 또는 4.0mg/l의 염소도 PH 7에서 15분간 처리한 swarmer 세포들은 편모가 세포로부터 떨어져 나갔으며 세포 표면에 손상이 일어났고 내용 물질의 유출이 전자 현미경으로 관찰되었다. 염소 처리를 하지 않은 swarmer 세포와 염소 처리한 시료를 새 배지에서 재배했을 때 대조 세포군은 1시간의 lag phase 후, 대수 증식이 일어난데 비하여 염소 처리를 한 세포에서는 lag phase가 약 4시간이나 연장되었다. 이 lag phase 중의 시료에서는 세포들이 대부분 성장은 했으나 분열 이전의 단계에 있는 것이 전자 현미경으로 확인되었으며 swarmer 세포는 확인되지 않았다.

stalked cell에 염소 처리를 했을 때에는 주로 stalk에 손상이 일어났고 내용물의 유출이 관찰되었으며 염소 처리한 stalked cell을 재배양했을 때에는 stalk가 장대화 되는 이상 분화 현상이 나타났다. 그러므로 *Caulobacter*에 염소 처리를 할 경우 세포 형태에 손상이 일어날 뿐더러 재생장이 가능한 수중 환경에서는 염소 충격을 받은 세포들이 이상 분화를 일으킨다는 생태학적인 인과 관계를 발견할 수 있었다.

Acknowledgments

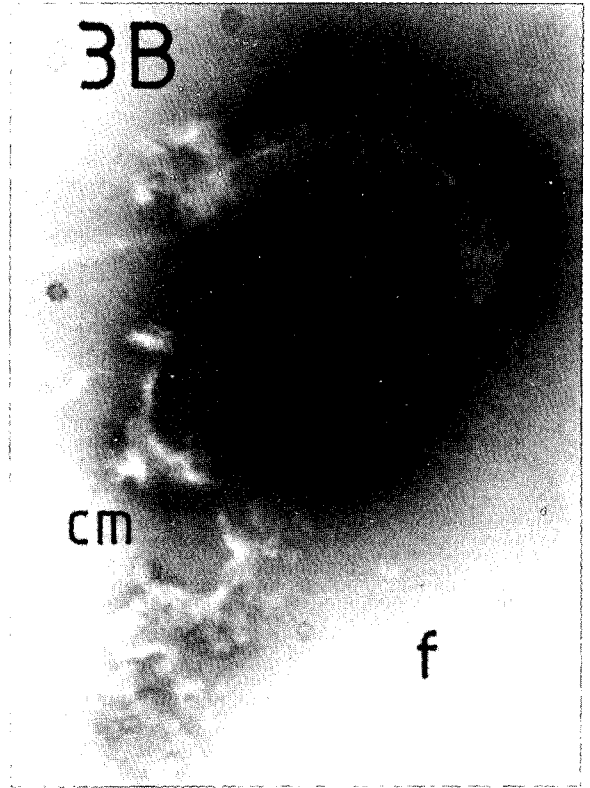
본 연구는 1981년도 한국과학재단의 연구비에 의하여 수행되었으며, 전자현미경의 관찰에 편의를 제공해 주신 서울대학교의 이용직 교수님께 심심한 사의를 드립니다.

References

- American Public Health Association. 1976. Standard methods for the examination of water and wastewater, 14th ed. American Public Health Association, Washington, D.C.
- Bernade, M., W.B. Snow, V.P. Olivieri, and B. Davidson. 1967. Kinetics and mechanism of bacterial disinfection by chlorine dioxide. *Appl. Microbiol.* 15:257-265.
- Braswell, J.R., and A.W. Hoadley. 1974. Recovery of *E. coli* from chlorinated secondary sewage. *Appl. Microbiol.* 28:328-339.
- Bringman, G. 1953. Electron microscopic findings of the action of chlorine, bromine, iodine, copper, silver, and hydrogen peroxide on *E. coli*. *Z. Hyg. Infektioskr.* 138:155-156.
- Camper, A.K., and G.A. McPeters. 1979. Chlorine injury and the enumeration of waterborne coliform bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 37:633-642.
- Capuzzo, J.M., S.A. Lawrence, and J.A. Davidson. 1976. Combined toxicity of free chlorine, chloramine, and temperature to stage I larvae of the American lobster *Homerus americanus*. *Water Res.* 10:1093-1099.
- Doetsch, R.N. 1981. Determinative methods of light microscopy, p. 21-33. In R.G.E. Murray (ed.), *Manual of methods for general bacteriology*. Amer. Soc. for Microbiol. Washington, D.C.
- Green, D.E., and P.K. Stumpf. 1946. The mode of action of chlorine. *J. AWWA.* 38:1301-1305.
- Green, D.E., W.E. Knox, P.K. Stumpf, and Y.H. Auerbach. 1948. The inhibition of sulfhydryl enzymes as the basis of the bacterial action of chlorine. *J. Bacteriol.* 55:451-458.
- Haars, E.G., and J.M. Schmidt. 1974. Stalk formation and its inhibition in *Caulobacter crescentus* J. Bacteriol. 120:1409-1416.
- Hirsch, P. 1974. Budding bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.* 28:391-444.
- Ingols, R.S. 1958. The effects of monochloramine and chromate on bacterial chromosomes. *Public Health Works.* 89:105-106.
- Kinman, R.N., and R.F. Cayton. 1976. New method for water disinfection. *J. AWWA.* 68:298-302.
- Maxcy, R.B. 1973. Condition of coliform organisms influencing recovery of subcultures on selective medium. *J. Milk Food Technol.* 36:414-421.
- Moore, R.L., and R. Brubaker. 1976. Effect of cisplatinum (II) diamminodichloride on cell division of *Hyphomicrobium* and *Caulobacter*. *J. Bacteriol.* 125:317-323.
- Muchmore, D., and D. Epel. 1973. The effects of chlorination of wastewater on fertilization in some marine invertebrates. *Mar. Biol.* 19:93-95.
- Paliu, A.T. 1975. Chemical aspects and analytical control. p. 68. In J.D. Johnson (ed), *Disinfection-water and waste-water*. Ann Arbor Science Publishers, Ann Arbor, Mich.
- Poindexter, J.S. 1964. Biological properties and classification of the *Caulobacter* group. *Bacteriol. Rev.* 28:231-295.
- Poindexter, J.S. 1981. The *Caulobacter*: ubiquitous unusual bacteria. *Microbiol Rev.* 45:123-179.
- Pulvertaft, R.J.V., and G.D. Lumb. 1948. Bacterial lysis and antiseptics. *J. Hyg., Cambridge.* 46:62-64.
- Schmidt, J.M., and R.Y. Stanier. 1966. The development of cellular stalks in bacteria. *J. Cell Biol.* 28:423-436.
- Shih, K.L., and J. Lederberg. 1976. Chloramine mutagenesis in *Bacillus subtilis*. *Science* 192:1141-1143.
- Staley, J.T., and T.L. Jordan. 1973. Crossbands of *Caulobacter crescentus* stalks serve as indicators of cell age. *nature (London)* 246:155-156.
- Terrana, B., and A. Newton. 1976. Requirement of a cell division step for stalk formation in *Caulobacter crescentus*. *J. Bacteriol.* 128:456-462.
- Venkobachar, C., L. Iyengar, and A.V.S.P. Rao. 1977. Mechanism of disinfection: effect of chlorine on cell membrane function. *Water Res.* 11:727-729.

Figure Legends

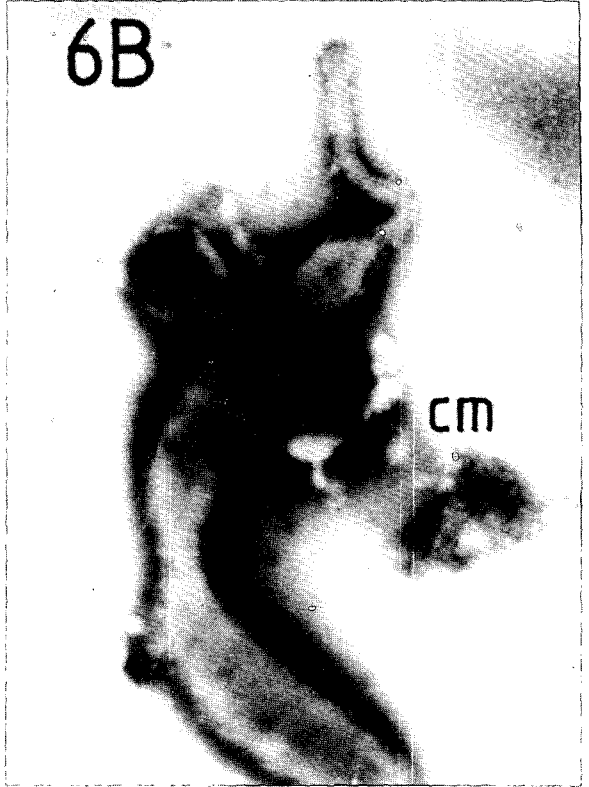
- Fig. 3.** Electron micrographs of negatively stained *Caulobacter* swarmer cells. A typical swarmer cell (A) has a flagellum and a swarmer (B) treated with 2.0 mg/l chlorine, pH 7.0, for 15 min shows a flagellum (f) separated from the cells, but not damaged. Some cellular materials (cm) discharged through damaged cell surfaces are seen. Magnifications are 24,000X in both pictures.
- Fig. 5.** An electron micrograph of negatively stained *Caulobacter* cells which were recultivated for about 4 hours after chlorination. Many typical stalked cells, enlarged predivisinal cells, and dividing cells are observed. Magnification is 14,000X.
- Fig. 6.** Electron micrographs of negatively stained *Caulobacter* stalked cells which were treated with 2.0 mg/l chlorine, pH 7.0, for 15 minutes. The stalks are broken and modified on their surfaces (A) and some discharged cellular materials (cm) are seen (B). Magnifications are 28,000X in both pictures.
- Fig. 7.** Electron micrographs of *Caulobacter* stalked cells which were recultivated for 1 to 2 hours after chlorination. Elongated stalk with several crossbands on its was observed in negatively stained sample (A). Two unstained stalked cells (B) with elongated stalk are seen. Magnifications are 16,000X in A and 20,000X in B.



6A



6B



7A



7B

