

Pseudomonas aeruginosa AJ1에 의한 *Microcystis aeruginosa*의 성장제어

김선정 · 이상섭*

경기대학교 일반대학원 생명공학과

대청호의 한 지류인 소옥천으로부터 고효율 조류억제 세균을 분리하기 위하여 176균주를 분리·스크린하였으며, 이 중 AJ1이 가장 높은 조류성장억제능을 나타내었다(지름 50.0 mm 성장억제환). 조류성장억제능이 높았던 AJ1 균주 동정을 위하여 형태학적, 생리·생화학적, 16S rRNA gene sequence 분석, 지방산 분석을 수행하였으며 그 결과, *Pseudomonas aeruginosa*로 판별되었다. AJ1 배양액을 원심분리한 후 상등액을 조류배양액에 첨가 시, 상등액에 의한 조류성장억제능이 나타남에 따라 세포 외 물질 분비에 의한 것을 확인할 수 있었다. 가장 높은 조류성장억제능[60.2(±1.3)%]은 탄소원으로 mannitol을 사용하고, 온도 30°C, pH 8에서 배양할 때 보였다. 또한, AJ1 균주의 배양기간 및 투여시기에 따른 조류성장억제능 평가 결과, 조류 성장 초기 단계에 조류성장억제균을 투여하였을 때 조류성장억제능이 높게 나타났고, 균주의 배양기간에 따른 조류성장억제능은 연관성이 나타나지 않았다. 상등액 점종량에 따른 조류성장억제능은 상등액의 점종량이 높아질수록 *M. aeruginosa*의 제거량은 증가하였으며, 고농도(40 ml/L)로 적용하였을 때 80.3(±8.6)%의 가장 높은 *M. aeruginosa* 제거효율을 보여주었다. 제거 속도의 경우 상등액 점종량이 낮아질수록 *M. aeruginosa* 제거율이 높아지는 경향을 확인하였으며, 저농도(10 ml/L)로 적용 시 8.2 µg chl-a/supernatant ml/day로 가장 높게 나타났다. 본 연구 결과, AJ1 균주의 현장 적용 시 *M. aeruginosa*의 제어에 효율적일 것으로 사료된다.

Key words □ antialgal bacteria, *M. aeruginosa*, *P. aeruginosa*

점오염원 및 비점오염원에서 발생하는 질소, 인 등 영양염류의 과다 유입으로 인한 호소지역의 부영양화 현상이 전세계적으로 발생되고 있다. 이로 인해 수중의 특정 조류가 과다 증식하는 녹조현상(algal bloom)이 발생하며, 그 발생지역이 점차 확대되고 있다. 녹조현상에 의해 수중 내 용존산소와 투명도가 감소되며, 이취미가 발생하여 생활 환경 및 수 생태계에 큰 영향을 주고 있다(21). 특히, 단일종이 이상 번식함에 따라 종 다양성의 감퇴를 일으켜 생태계에 위협적으로 작용한다고 알려졌다(1). 녹조현상 발생 시 주요 종(*Microcystis* 속)이 분비하는 독성물질에 의해 수중 생물이나 가축에 영향을 미치며, 음용수 및 식생활수로 활용 시 간독소 및 발암물질로 작용하여 인간 건강까지 위협하고 있다(8, 22). 지금까지 녹조현상을 억제하기 위해 물리적, 화학적 제어방법이 주로 적용되었으나, 이 방법은 화학 제재 투입으로 인한 비용이 발생되며, 수중 생물에 비특이적 독성으로 작용하여 2차적인 생태계 피해를 일으킨다(19). 반면, 생물학적 제어방법은 다양한 미생물(바이러스, 박테리아, 균류, 원생동물, 동물플랑크톤 등)을 사용함으로써 생태계 교란을 최소화하고 비용이나 효율면에서 뛰어나 최근 이 방법에 대한 연구가 활발히 이루어지고 있다. 다양한 생물학적 제재 중 박테리아에 의한 조류 제어는 활발히 연구가 진행되어 왔으며, 다양한 조류성장억제균(10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 24)이 보고되어 왔다. 이는 다

른 생물에 비해 분리 및 배양이 비교적 쉽고, 성장속도가 빠르며, 다양한 환경조건에 적용 가능한 장점이 있기 때문이다(12).

일반적으로 박테리아의 조류 제어 방법은 직접적 및 간접적 방법으로 분류 할 수 있다(20). 직접적 방법은 미생물이 조류 표면에 접촉(cell to cell contact)하여 세포 용해를 일으키고(3, 12, 20), 간접적 방법은 세포 외부로 조류억제물질을 분비하여 조류 성장을 저해하는 것이다. 현재까지 L-lysine (24), harmine (15), β -glucosidase (14) 및 불규명 분비물질 등이 조류성장억제능을 나타내는 것으로 보고되었다(9, 13, 17).

미생물을 이용한 조류 제어는 다양한 배양 조건 및 적용 시기, 농도에 따라 그 효율이 천차만별로 나타난다. 그러나, 이제까지 조류 제어 미생물에 대한 연구는 단일 균주에 대한 적용 효율 평가 및 총체적인 분해 기작 규명이 미비한 실정이다. 조류성장억제능을 높이기 위해 과량의 미생물을 투입함으로써, 현장 적용 가능성을 낮추고 균체에 의한 2차적인 오염까지도 유발할 수 있다. 또한, 조류성장억제능 제거 효율 확인 시 조류성장억제균의 배양에 질소·인 함량이 높은 배지를 사용하여 오히려 조류의 성장을 더욱 촉진시키는 결과를 가져올 수 있다.

그러므로 본 연구에서는 *Microcystis aeruginosa*를 제어할 수 있는 고효율 박테리아를 분리, 동정하였으며, 조류성장억제능을 증가시킬 수 있는 최적의 환경조건을 위해 다양한 pH, 온도, 단일 탄소원에 따른 실험을 실시하였다. 균 및 조류의 성장 단계별 조류성장억제능을 시험하여 높은 제거율을 보이는 시기를 확인하였다. 또한, 조류성장억제 물질의 분비 확인을 위해 상등액을

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 82-31-249-9642, Fax: 82-31-245-8868
E-mail: ssllee@kyonggi.ac.kr

적용하였으며, 상등액의 접종량에 따른 제거효율 및 제거속도의 상관관계를 확인하였다.

재료 및 방법

사용 균주 및 배양방법

경기도 수원시 광교천 및 충청북도 옥천군 대청호 지류인 소옥천에서 토양 및 물 시료를 채취하였다. 시료는 10개 지점에서 표층수, 1개 지점에서 침전 토사를 채취하였다. 각 시료는 4°C 아이스박스에 보존하여 실험실로 운반하였다. 증식 배양 시 채취한 시료 1% (v/v)를 NB (Nutrient Broth), AGB (Actinomycete Growth Broth), 27 M 배지(*Rhodospirillum* medium, ATCC medium 1308, 5)에 접종하여 29±1°C, 150 rpm으로 이틀간 진탕 배양하였다. 균의 접종 및 계대 배양도 위의 조건과 동일하게 하였다. 단일 균주 분리는 평판도말법과 막여과법을 사용하였다. 사용된 조류는 소옥천에서 분리된 *M. aeruginosa*으로 400 ml의 Bold 3 N 배지(18)에 5.0% (v/v)로 접종하여 29±1°C, 광 조건에서 정치배양하였다.

조류성장억제능 측정

대수성장기인 *M. aeruginosa*를 Bold 3 N 0.8% agar 배지에 0.1% (w/v)로 섞은 균주 혼합액을 Bold 3 N 1.0% agar 배지 위에 부어 이중 조류론(double lawn layer plate)을 제작하였다. 균주를 각 배지에서 배양한 후, 10.0 g/L (w/v)로 초기 균 농도를 맞춘 후 10 µl씩 조류론에 접종하였다. 세포 외 물질에 의한 조류성장억제능 확인을 위해 균 배양액을 0.2 µm cellulose ester membrane filter로 걸러 지름 5.0 mm disk에 5 µl씩 접종하였다. 각 조류론은 광 조건에서 29±1°C로 정치배양하며, 성장억제환 형성 여부를 확인하였다.

액상 내 균과 상등액에 의한 chl-a (chlorophyll a)의 제거량을 확인하기 위하여 10 ml 대수성장기인 *M. aeruginosa*에 조류성장억제균주 1.0 g/L, 상등액 20 ml/L를 각기 접종하여 29±1°C, 150 rpm, 광 조건에서 6일 동안 진탕 배양하였다. Chl-a의 추출은 지름 47 mm GF/C filter (Whatman, UK)로 여과하고, 90% acetone 4 ml에 처리하여 암병에 넣은 후 4°C에 24시간 방치 후 0.2 µm PTFE (polytetrafluoroethylene) filter로 재여과하여 측정에 사용하였다. Chl-a의 농도는 630, 647, 664, 750 nm에서 분광 광도계(Beckman Coulter, USA)를 이용하여 흡광도를 측정하고 그 값을 토대로 계산하였다. Chl-a의 단위 변환의 계산식은 다음과 같다(4).

$$\text{Chl-a } (\mu\text{g/L}) = (11.85(\text{OD}_{664} - \text{OD}_{750}) - 1.54(\text{OD}_{647} - \text{OD}_{750}) - 0.08(\text{OD}_{630} - \text{OD}_{750})) \times \text{추출용매량(ml)} / \text{조류량(L)}$$

균주 동정

고효율의 조류성장억제능을 보인 균주를 형태학적 특징 및 생리·생화학적 특징, 16S rRNA sequence 분석, 그리고 지방산 분석으로 동정하였다. 형태학적 특징은 그람 염색을 하여 광학현미경(×1,000, BX50F, Olympus, Japan)을 통하여 형태, 크기 및 그

람 양성·음성을 판별하였으며, 생리·생화학적 특징은 API kit 20NE (Biomérieux, France)를 사용하여 효소 작용, 탄수화물의 가수분해, 당 발효, 탄소원 이용 여부 등의 검정 실험을 하여 판별하였다. 16S rRNA sequence는 Solgent 사에 sequencing을 의뢰하였으며, universal primer로 27F primer (5'-AGAGTTTGATC(AC)TGGCTCAG-3')와 1492R primer (5'-ACGG(CT)TACCTTGTTACGACTT-3')를 사용하였고, SeqMan (DNASTAR) 프로그램을 사용하여 정렬하고, GenBank에서 가까운 종을 확인하였다. 지방산 분석은 세균을 TSA (trypticase soy agar) 배지에 30°C에서 24시간 배양 후, 지방산을 추출하여 메틸화된 형태인 FAME (fatty acid methyl ester)를 GC로 분석하였다. 분석된 결과를 Sherlock Microbial Identification System (MIDI, USA)의 library와 비교 분석하여 동정하였다.

온도, pH 및 탄소원이 조류성장억제능에 미치는 영향

고효율 균주의 최적 조류성장억제능 조건을 확립하기 위하여 다양한 조건에서 실험하였다. 초기 pH 6, 7, 8인 NB 배지에서 1일간 배양한 균의 상등액을 조류론에 접종하였다. 배양온도는 15, 25, 30, 35°C로 적용하였으며, 조류성장억제능 측정과 동일한 방법으로 수행하였다. 탄소원이 조류성장억제능에 미치는 영향을 확인하기 위하여 MSM (minimal salt medium) 100 ml에 0.3% L-arginine, betaine, glucose, mannitol을 각각 첨가하고, 고효율 균주 배양액 1.0% (v/v)를 접종하여 29±1°C, 150 rpm, 1일간 진탕 배양하였다. 위와 같은 방법으로 상등액을 적용하여 조류성장억제능을 확인하였다.

조류 및 균 성장 단계에 따른 조류성장억제능에 미치는 영향

조류 성장 단계에 따른 조류성장억제능을 확인하기 위하여 0, 6, 14일 배양한 조류론에 상등액을 적용하여 형성되는 성장억제환의 크기를 측정하였다. 또한 균주의 성장 시기에 따른 최적조

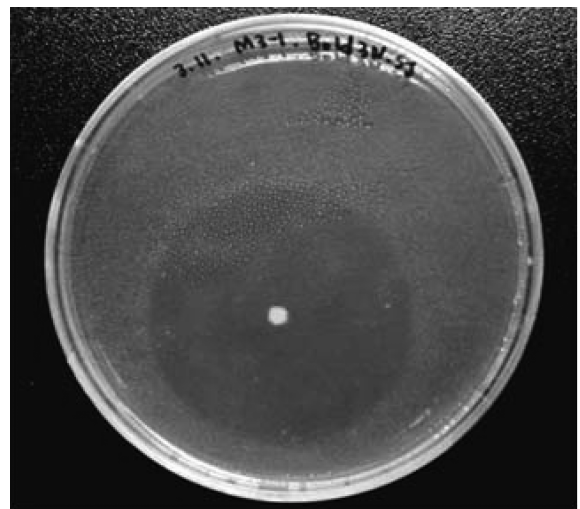


Fig. 1. Forming clear zone of diameter 50.0 mm after 20 days on *M. aeruginosa* algal lawn by strain AJ1.

건을 도출하기 위하여 0.3% mannitol을 첨가한 MSM 100 ml에 AJ1 균주 1% (v/v)를 접종하여 29±1°C, 150 rpm에서 진탕 배양 하며, 흡광도(600 nm)를 측정하였다. 조류성장억제균 배양 20, 40, 60시간에 배양액을 취해 0.2 µm cellulose ester membrane filter로 거른 후, 조류배양액에 접종하여 조류성장억제능을 확인 하였다.

상등액 접종량에 따른 조류성장억제능에 미치는 영향

다양한 양의 상등액을 접종하여 최적의 조류성장억제능을 보이는 접종 농도를 도출하였다. 0.3% mannitol을 첨가한 MSM 100 ml에 AJ1 균주 배양액 1% (v/v)를 접종하여 1일간 배양 후, 상등액을 10, 20, 30, 40 ml/L로 조류 배양액에 접종하고 6일 뒤 chl-a를 추출하여 측정하였다.

결과 및 고찰

단일균주 분리 및 고효율 균주 동정

조류론을 이용하여 조류성장억제능이 있는 고효율 균주를 선별하였다. NB에서 121균주, AGB에서 41균주, 27M 배지에서 14균주를 순수 분리하여 스크린 테스트한 결과, 14균주가 성장억제환을 형성하였다. 이 중 NB에서 분리한 AJ1 균주가 20일 동안 지름 50.0 mm (19.6 cm²)의 성장억제환(Fig. 1)을 형성하여 고효율 균주로 선정되었다. 이전 보고에 따르면 *P. aeruginosa*는 지름 30.6 mm (10), *Sinorhizobium kostiense* AFK-13은 지름 17.0 mm (14)의 성장억제환을 형성하여, AJ1 균주에 의한 조류성장억제 효과가 높은 것으로 확인되었다.

AJ1 균주는 그람 음성, 0.4~0.6×0.8~1.2 µm의 크기로 막대형이었다. 생화학적 특징을 확인(API 20NE)하여 Apiweb™에서 균주 Library 비교결과, *Pseudomonas aeruginosa* (97.5%)로 동정되었다. 이는 표준균주 *P. aeruginosa* ATCC 10145^T와 형태학적, 생리·생화학적 특징과 일치하는 것으로 확인되었다(Table 1). 또한 16S rRNA gene sequence 분석 결과 표준균주와 99.9% 일치하였다. 지방산 분석 결과도 *P. aeruginosa* (유사도 0.874)로 동정되었다(Table 2). 형태학적 특징, 생리·생화학적 특징, 16S rRNA gene sequence 분석 그리고 지방산 분석 결과를 통하여 AJ1 균주는 *P. aeruginosa*임을 확인할 수 있었다.

온도, pH 조건이 조류성장억제능에 미치는 영향

Pseudomonas 속은 수 생태계에 널리 존재하고, 남조류에 대해 세포 외 물질을 분비하여 조류성장억제능을 나타낸다는 보고가 있으며(23), 그 외 박테리아에서도 세포 외 물질 분비에 의해 조류성장억제가 일어난다는 보고가 있었다(9, 11, 12, 17). 본 연구에서 세포 외 물질에 의한 조류성장억제능 확인을 위하여 상등액 적용 시 조류성장억제능이 확인되었으며, 이후 상등액을 이용하여 조류성장억제 실험을 진행하였다.

고효율의 조류성장억제능을 보이는 최적의 배양조건을 확립하기 위해 다양한 pH, 온도에 따른 실험을 실시하였다. 그 결과 30°C에서 pH 8은 4.5(±0.5) cm², pH 7은 2.0(±0.4) cm², pH 6은

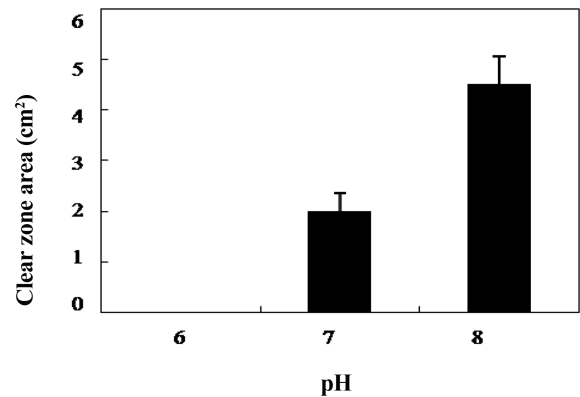


Fig. 2. Forming clear zone on *M. aeruginosa* lawn by supernatant of strain AJ1 at various pH conditions.

0(±0.0) cm² 성장억제환을 형성하였으며(Fig. 2), 15, 25, 35°C에서는 성장억제환을 형성하지 않았다. 이로 보아 pH 8인 배지에서 배양한 AJ1 균주의 상등액을 조류에 적용하여 30°C로 유지하였을 때 높은 조류성장억제능이 나타나는 것을 알 수 있었다. 이는 다른 연구자에 의하여 연구된 *Moraxella* sp. CK-1 (11), *Bacillus cereus* N-14 (17), *Acidovorax temperans* AK-05 (13)와 같은 균주들이 알칼리 상태(pH 8 이상)에서 최적의 조류성장억제능을 보여, 본 연구 결과와 동일하게 나타난 것을 확인하였다. 그러므로 일반적으로 알칼리 조건을 일으키는 Cyanobacteria에 의한 녹조현상이 발생하는 호수에 이러한 균주의 적용이 가능할 것으로 보인다.

조류 제어를 위한 생물학적 처리 시스템의 현장 적용 시, 그 환경조건은 실험실 상에서 정립된 최적의 제어 조건과 상당한 차이를 보인다. 또한 처리 농도 및 양에도 제한점이 있다. 균주의 최적 조류성장억제능을 보이는 온도조건이 30°C와 같이 상온에 비하여 높게 나타났으며 이에 따라 지역적인 온도 및 pH 조절이 가능한 시스템을 개발·운영한다면 좀 더 효율적인 생물학적 처리가 가능할 것이라 생각된다.

탄소원이 조류성장억제능에 미치는 영향

일반적으로 박테리아에 의하여 생성되는 효소는 특정 탄소원에 의해 활성화 또는 비활성화 된다. 이전 연구에 따르면 *Paenibacillus* sp. DG-22에서 생산되는 β-xylosidase의 생합성이 특정 탄소원에 의하여 유도 및 활성화되었다(2). *P. oleovorans*의 경우 citrate, fumarate와 같은 탄소원을 이용하여 pyrimidine nucleotide N-ribosidase 활성을 증가시켰다(25). 조류성장억제능을 가진다고 밝혀진 주요 물질로 β-glucosidase (14), hydroxylamine (6), antibiotics (10), aminophenol (24) 등이 보고되었다. 그러나 어떠한 탄소원에 의하여 이러한 조류성장억제 물질들이 유도 및 활성화 되는가에 대한 연구는 미비한 실정이다. 이러한 문제점을 보완하기 위하여 단일 탄소원으로 균을 배양하여 조류성장억제능을 확인하였다. *P. aeruginosa*가 단일 탄소원으로 이용할 수 있다고 알려진 L-arginine, betaine, glucose, mannitol을 MSM에

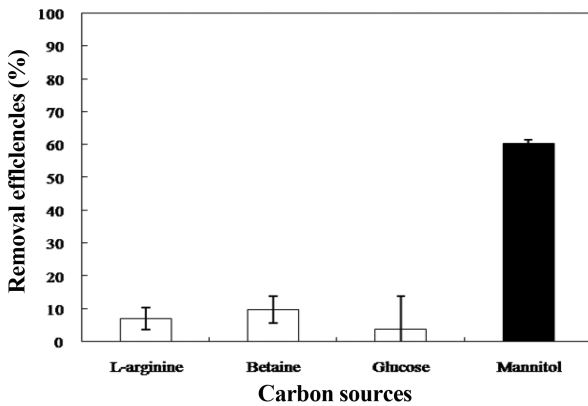


Fig. 3. Removal efficiencies of *M. aeruginosa* by supernatant of strain AJ1 in liquid culture on various carbon sources. Strain AJ1 cultured in mineral salt medium with 0.3% L-arginine, betaine, glucose, mannitol. Treatment of 20 ml/L supernatant.

0.3% 첨가하여 AJ1 균주를 1일 배양하였다. 탄소원에 따른 성장을 흡광도(600 nm)로 측정하였으며, 각각 0.882, 0.453, 1.047, 0.837을 보였다. 배양액의 상등액을 *M. aeruginosa*에 적용한 결과, 각각 6.9(±3.3)%, 9.7(±4.0)%, 3.8(±10.0)%, 60.2(±1.3)%의 chl-a 제거효율(Fig. 3)을 나타냈다. 특히 mannitol을 이용하였을 경우 다른 탄소원에 비하여 6~16배 높은 제거효율을 보여주었다. 이로 보아 *P. aeruginosa* AJ1은 mannitol을 단일 탄소원으로 사용하였을 때 조류억제역제물질 활성이 높아지는 것으로 보인다.

이전 보고에서 균주 배양은 casitone (11, 15, 20), peptone (3, 10, 13, 17), tryptone (14) 등의 복합배지를 이용하였다. 이러한 복합배지에서 배양한 균주의 상등액을 현장 적용 시 하천의 잔류 질소 및 인 농도를 높여 조류 성장을 촉진시킬 수 있으며, 2차적인 오염을 유발한다. 반면, 무기배지(MSM)는 화학적 구성요소를 적절히 조절할 수 있어 질소·인의 과다 유입을 방지할 수 있다. 그러므로, MSM에서 배양한 AJ1 상등액을 적용함으로써 복합배지 이용에 따른 문제점을 보완하면서도 높은 조류성장억제능을 유도할 수 있을 것이라 보인다.

조류 성장 단계 따른 조류성장억제능에 미치는 영향

AJ1 균주 배양액의 상등액을 조류의 성장 단계에 따라 적용 시, 0일 배양된 조류론에서 63.6(±0.0) cm², 배양 6일된 조류론에서 1.7(±0.3) cm² 넓이의 성장억제환을 형성하였으며, 배양 14일된 조류론에서는 조류성장억제능을 보이지 않았다(Fig. 4). 이와 유사하게 *M. aeruginosa* 성장에 따른 *Streptomyces neyagawaensis* 균주 적용 시 지체기, 대수기, 정지기 단계에서 각각 96.9%, 41.5%, 0.0%의 조류성장억제능을 보여주었다(9). 상등액을 조류성장 초기에 적용할수록 조류성장억제능이 증가된다는 것을 확인할 수 있었다. 시스템 현장 적용 시, 녹조현상 발생 초기에 조류성장억제 균이나 물질을 적용하였을 때 높은 제거 효율을 보일 것으로 사료된다.

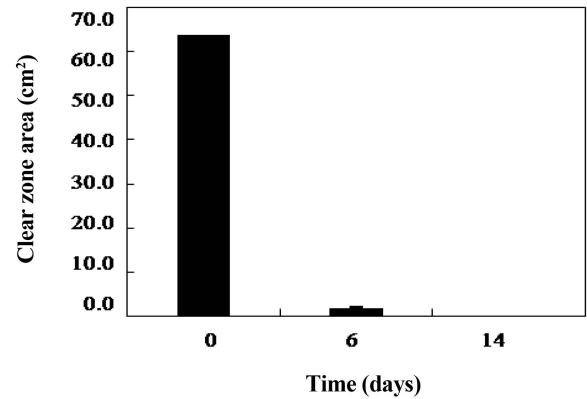


Fig. 4. Forming clear zone on *M. aeruginosa* lawn by supernatant of strain AJ1 according to growth period of algal lawn. Treatment of 5 μl supernatant.

균 성장 단계 따른 조류성장억제능에 미치는 영향

AJ1 균주는 배양 0~5시간까지 지체기, 5~25시간은 대수기, 25시간 이후 정지기로 들어갔다. 이 중 배양 20, 40, 60시간에 배양한 균의 상등액 20 ml/L을 취하여 조류성장억제능을 확인한 결과 각각 63.0(±13.5)%, 53.5(±4.4)%, 72.7(±3.0)%의 chl-a 제거 효율을 보여주었다(Fig. 5). 이러한 결과와 유사한 연구는 장 외(3), Choi 외(9) 등에 의해 보고된 바 있으며, *Sphingobium herbicidovorans* (3)의 성장 시기에 따른 *Anabaena cylindrical* 제어와 *Streptomyces neyagawaensis* (9) 성장 시기에 따른 *M. aeruginosa* 제어의 차이가 없다는 것을 확인할 수 있었다. AJ1 균주의 대수기, 초기 및 말기 정지기에 따른 조류성장억제능은 거의 차이를 보이지 않았으며, 균의 배양 시간과 조류성장억제효율의 연관성을 확인할 수 없었다.

상등액 접종량에 따른 조류성장억제능에 미치는 영향

AJ1 균주의 상등액 접종량을 다르게 하여 조류성장억제능을

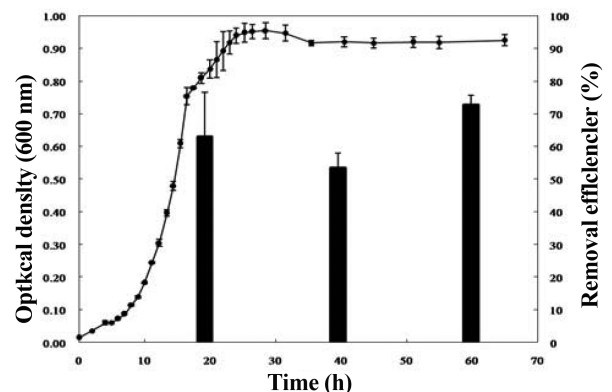


Fig. 5. Growth curve of strain AJ1 and removal efficiencies of *M. aeruginosa* by its supernatant in liquid culture. Strain AJ1 cultured in mineral salt medium with 0.3% mannitol. Treatment of 20 ml/L supernatant.

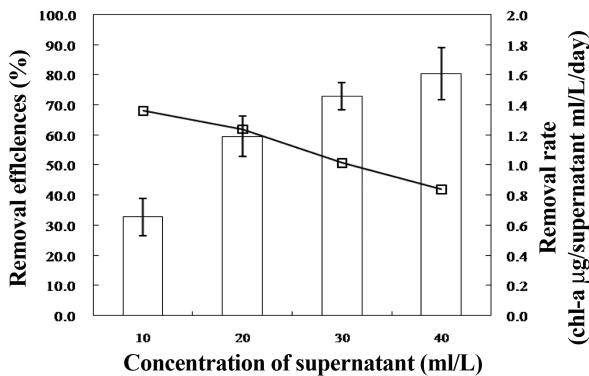


Fig. 6. Removal efficiencies and rate of *M. aeruginosa* by supernatant of different amount in liquid culture. Strain AJ1 cultured in mineral salt medium with 0.3% mannitol. Treatment of 10, 20, 30, and 40 ml/L supernatant.

확인하였다. 상등액 집중량은 10, 20, 30, 40 ml/L로 적용하였고, 각각 32.6(±6.3)%, 59.4(±6.7)%, 72.8(±4.5)%, 80.3(±8.6)%의 chl-a 제거효율을 보여주었다. 상등액 집중량이 증가함에 따라 chl-a 제거효율이 증가하는 것을 확인할 수 있었다. 그러나 제거율(µg/supernatant ml/day)은 상등액 집중량이 높아짐에 따라 점차 감소하는 것을 확인할 수 있었으며(Fig. 6), 이로 보아 저농도(10 ml/L) 적용 시 단위 상등액당 제거 속도는 가장 빠르게 나타나는 것을 알 수 있다. 그러므로 현장 적용 시 조류 농도 및 조건에 따라 최적의 효율 및 비용 절감을 할 수 있는 상등액의 농도를 선택하여 적용 시 효과적으로 생물학적 처리 시스템의 운영이 가능할 것이다.

이번 연구에서는 *M. aeruginosa*를 제어할 수 있는 *P. aeruginosa* AJ1을 분리하였으며, 상등액 적용 시 조류성장억제능이 나타나 세포 외 물질 분비에 의한 것임을 확인하였다. 30°C, pH 8이 최적조건으로 확립되었으며, 단일 탄소원으로 mannitol을 적용하여 조류성장억제물질의 활성을 증진시켰다. 또한 조류 및 균 성장단계에 따른 조류성장억제능 확인에서 조류성장 초기일수록 조류성장억제능이 높았으며, 균 성장 시기에 따른 조류성장억제능 차이는 거의 없는 것을 확인하였다. 본 연구에서 확립한 조류성장억제 최적 조건을 생물학적 처리 시스템에 적용하면 높은 효율을 보일 것이라 예상된다. 특히 녹조 발생 초기에 적용함으로써 더욱 신속한 제어 효과를 볼 수 있을 것이라 사료된다.

*P. aeruginosa*가 기회성 병원 균주라는 것은 이미 알려진 사실이나, 본 연구에서 AJ1 균주가 높은 조류성장억제 효능을 가지는 것이 밝혀졌다. 실제 현장 적용을 위해 본 연구의 실험결과를 기초로 하여 보다 심층적인 연구가 필요할 것으로 보인다. AJ1 균주의 직접적인 적용보다 조류성장억제 물질을 현장에 적용하는 것이 한 가지 대안으로 생각되며, 이에 따라 조류성장억제 물질의 분리, 정제, 구조 분석 등을 통한 명확한 물질 규명이 필요할 것으로 사료된다. 이 외의 다른 방법으로는 분자생물학적 기법을 이용하여 병원성을 유발하는 유전자 조작에 의해 병원성을 무독화 또는 약독화시켜 적용하는 것이 있다. 또한 상등액 적용

에 따른 질소 인의 2차 유입을 최소한으로 하기 위하여 저농도의 무기염류 배양 배지의 개발이 필요할 것으로 사료된다.

감사의 말

경기대학교 생물자원특성화 사업단과 국가지정 환경미생물은행(KEMB, Korea National Environmental Microorganisms Bank)의 연구지원에 깊은 감사를 드립니다.

참고문헌

1. 박혜경. 2007. 수자원 관리를 위한 조류 분석법. 대한환경 공학회지 29, 593-609.
2. 이태형, 임평옥, 이용익. 2007. *Paenibacillus* sp. DG-22에서의 β -xylosidase 생합성 조절. 생명과학회지 17, 407-411.
3. 장은희, 김정동, 한명수. 2003. 남조류 분해세균 HY0210-AK1의 분리와 특성 및 *Anabaena cylindrical* 분해 활성. 한국환경생물학회지 21, 194-202.
4. APHA. 2000. Standard methods of the examination of water and wastewater, 20th edition. American Public Health Association, American Water Works Association, Washington, D.C., USA.
5. Atlas, R.M. 2004. Handbook of microbiological media, 3rd ed., p. 1,500. CRC press.
6. Berger, P.S., J. Rho, and H.B. Gunner. 1979. Bacterial suppression of *Chlorella* by hydroxylamine production. *Water Res.* 13, 267-273.
7. Brenner, D.J., N.R. Krieg, and J.T. Staley. 2005. Bergey's manual of systematic bacteriology, pp. 354-358. 2nd ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore, Maryland, USA.
8. Carmichael, W.W. 2001. Health effects of toxin-producing Cyanobacteria: "The CyanoHABS". *Hum. Ecol. Risk Assess.* 7, 1393-1407.
9. Choi, H.J., B.H. Kim, J.D. Kim, and M.S. Han. 2005. *Streptomyces neyagawaensis* as a control for the hazardous biomass of *Microcystis aeruginosa* (Cyanobacteria) in eutrophic freshwaters. *Biol. Control.* 33, 335-343.
10. Dakhama, A., J. Noüe, and M.C. Lavoie. 1993. Isolation and identification of antialgal substances produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Appl. Phycol.* 5, 297-306.
11. Kim, C.H., Y.K. Choi, and B.R. Min. 1997. Lysis of *Anabaena cylindrical* (Cyanobacterium) cell wall by extracellular enzymes of *Moraxella* sp. CK-1. *Kor. J. Environ. Biol.* 15, 89-97.
12. Kim, J.D. and M.S. Han. 2003. Identification of alga-lytic bacterium AK-07 and its enzyme activities associated with degradability of cyanobacterium *Anabaena cylindrical*. *Kor. J. Limnol.* 36, 108-116.
13. Kim, J.D. and M.S. Han. 2004. Characterization of a novel alga-lytic bacterium, *Acidovorax temperans* AK-05, isolated from an eutrophic lake for degradation of *Anabaena cylindrical*. *Kor. J. Limnol.* 37, 241-247.
14. Kim, J.D. and C.G. Lee. 2007. Purification and characterization of extracellular β -glucosidase from *Sinorhizobium kostiense* AFK-13 and its algal lytic effect on *Anabaena flos-aquae*. *J. Microbiol. Biotechnol.* 17, 745-752.
15. Kodani, S., A. Imoto, A. Mitsutani, and M. Murakami. 2002. Isolation and identification of the antialgal compound, harmaline (1-methyl- β -carboline), produced by the algicidal bacterium, *Pseudomonas* sp.

- K44-1. *J. Appl. Phycol.* 14, 109-114.
16. Mu, R.M., Z.Q. Fan, H.Y. Pei, X.L. Yuan, S.X. Liu, and X.R. Wang. 2007. Isolation and algae-lysing characteristics of the algicidal bacterium B5. *J. Environ. Sci. (China)* 19, 1336-1340.
 17. Nakamura, N., K. Nakano, N. Sugiura, and M. Matsumura. 2003. A novel cyanobacteriolytic bacterium, *Bacillus cereus*, isolated from a eutrophic lake. *J. Biosci. Bioeng.* 95, 179-184.
 18. Provasoli, L., J.J.A. McLaughlin, and M.R. Droop. 1957. The development of artificial media for marine algae. *Arch. Mikrobiol.* 25, 392-428.
 19. Rinehart, K.L., M. Namikoshi, and B.W. Choi. 1994. Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). *J. Appl. Phycol.* 6, 159-176.
 20. Shi, S., Y. Liu, Y. Shen, G. Li, and D. Li. 2006. Lysis of *Aphanizomenon flos-aquae* (Cyanobacterium) by a bacterium *Bacillus cereus*. *Biol. Control.* 39, 345-351.
 21. Slater, G.P. and V.C. Blok. 1983. Volatile compounds of the Cyanophyceae. A review. *Water Sci. Technol.* 15, 181-190.
 22. Watanabe, M.F., K.I. Harada, W.W. Carmichael, and H.I. Fujiki. 1995. Toxic microcystis. *CRC Press* 103-148.
 23. Yamamoto, Y., S. Niizuma, N. Kuroda, and M. Sakamoto. 1993. Occurrence of heterotrophic bacteria causing lysis of cyanobacteria in a eutrophic lake. *J. Phycol.* 41, 215-220.
 24. Yamamoto, Y., T. Kouchiwa, Y. Hodoki, K. Hotta, H. Uchida, and K. Harada. 1998. Distribution and identification of actinomycetes lysing cyanobacteria in a eutrophic lake. *J. Appl. Phycol.* 10, 391-397.
 25. Yu, T.S. 2004. Optimization of culture conditions for the production of pyrimidine nucleotide *N*-ribosidase from *Pseudomonas deovorans*. *Kor. J. Life Sci.* 14, 608-613.

(Received December 1, 2009/Accepted December 28, 2009)

ABSTRACT: Growth Suppression of *Microcystis aeruginosa* by *Pseudomonas aeruginosa* AJ1

Sun-Jung Kim and Sang-Seob Lee* (Department of Biotechnology, Graduate School of Kyonggi University, Suwon 433-760, Republic of Korea)

Among total 176 strains with antialgal effects isolated from So-ok stream in Korea, *Pseudomonas aeruginosa* AJ1 showed the highest removal efficiency for an algal species *Microcystis aeruginosa* (clear zone of diameter 50.0 mm on algal lawn after 20 days). The algal growth was suppressed even when the supernatant of AJ1 culture was applied, suggesting that extracellular substances are responsible for its antialgal activity. The removal activity of AJ1 was optimal under the following condition: pH 8, 30°C, and mannitol as a carbon source. The antialgal activity of AJ1 appeared to be dependent of the growth phase of *M. aeruginosa*, i.e., the highest at the early phase, but not its own phase. As expected, the algicidal effect was improved as the amount of the treated supernatant was increased; the highest removal efficiency (80.3%) was achieved when 40 ml/L of the supernatant was used. Interestingly, however, the removal rate was opposite. The highest removal rate (8.2 µg chl-a/ml supernatant/day) was achieved when low concentration (10 ml/L) was applied. These results suggest that *P. aeruginosa* AJ1 is a promising biological agent to control the problematic algal bloom.