

Phylogenetic Diversity and Community Structure of Microbiome Isolated from *Sargassum Horneri* off the Jeju Island Coast

Kyung-Mi Moon, So-Hyun Park and Moon-Soo Heo*

Marine applied Microbes and Aquatic Organism Disease Control Lab, Department of Aquatic Biomedical Sciences, School of Marine Biomedical Sciences & Marine and Environmental Research Institute, Jeju-National University, Jeju-si 63243, Korea

Received May 9, 2018 / Revised May 31, 2018 / Accepted June 4, 2018

Recently, *Sargassum horneri*, the marine weed inhabiting the shoreline, beach, and littoral sea area, has caused serious damage to intensive aquaculture farms particularly those around Jeju Island, South Korea. The purpose of this study was to investigate the diversity of microorganisms in *Sargassum horneri* and to provide basic data on ecological problems by identifying microbial functions. A total of 88 isolates were identified by 16S rRNA sequencing. Proteobacteria was the dominant phylum accounting for 88%, including class α -proteobacteria, six genera, and ten species. The dominating genus, *Pseudobacter*, accounted for 40% in *Pseudorhodobacter*, 20% in *Paracoccus*, and the remaining at 10% each were *Rhizobium*, *Albirhodobacter*, *Skermanella*, and *Novosphingobium*. Class β -proteobacteria included five genera and ten species. Genus *Hydrogenophaga* accounted for 50%, while genus *Azoarcus* accounted for 20%, and the remaining *Oxalicibacterium*, *Duganella*, and *Xenophilus* were 10% each. Class γ -proteobacteria with 13 genera and 57 species, accounted for 74% in phylum Proteobacteria, 23% in *Shewanella*, 19% in *Cobetia*, 12% in *Pseudomonas*, 4% each in *Vibrio* and *Serratia*, and 2% each in *Rheinheimera*, *Raoultella*, *Pantoea*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, and *Psychrobacter* genera. In addition, Actinobacteria with two species of *Nocardioides* genera accounted for 50%, and Bacteroidetes accounted for 33%, with three genera and five species that included *Lacihabitans* and *Mariniflexile*. The remaining *Dyadobacter*, *Cellulophaga*, and *Ferruginibacter* genera each accounted for 11%.

Key words : 16S rDNA, antibacterial activity, *Sargassum horneri*, systematics, strain diversity

서 론

괘쟁이모자반(*Sargassum horneri*)은 갈조강(Phaeophyceae), 모자반목(Fucale), 모자반과(Sargassaceae)에 속하는 황갈색의 식물체로 얇고 주걱 모양의 잎을 지닌 조간대의 갈조류이다 [29]. 이와 같은 거대 해조류는 미생물의 도움을 받아 성장하며, 바다 생물의 안전한 공간이 될 수도 있다[7]. 이들은 주로 동쪽 중국연안에서 볼 수 있고 [15], 향산화[10], 뼈의 신진대사 [31], 오염방지 활성[3], 효소추출 활성[9], 항알레르기[35], 항염증[14], 항 옹고[1] 및 라디칼 소거제[23]와 같은 다양한 연구 분야에서 적용되고 있다. 그리고 2007년 [16] 및 2010년 [28]의 동중국해에서 괘쟁이모자반의 유조(Drifting seaweed)가 보고되었는데 이러한 현상은 기생충 제거 및 어류 초기 발달 기간과 생활사에 도움을 준다고 알려져 있다 [2, 41]. 그러나 유조 현상이 대량으로 발생할 경우 해안을 뒤덮고 오랜 기간

방치하게 되면 썩은 냄새로 인근 지역 주민의 불편을 사며, 생태계학적으로도 문제를 일으킨다고 알려져 있다 [26].

최근 제주 인근 지역의 해변가와 해안 및 연근해 양식장에 2015년을 기준으로 매년 대량의 괘쟁이모자반의 출현으로 막대한 피해가 속출되고 있는 추세이다. 국립해양조사에 따르면 매년 유입되고 있는 괘쟁이모자반은 중국 저우산군도에 서식하고 있는 종과 99.9% 이상의 상동성을 지녔으며, 이러한 현상은 중국의 동중국해 바다와 생태계 복원 사업 진행에 따른 피해 현상으로 간주되고 있다. 또한 2009년 Pang 등에 따르면 동중국 연안 인구 밀도 수가 높은 해안 지역에서는 조류의 손실이 커서 복원을 위한 양식 개발에 집중하고 있음을 시사했다 [25].

본 연구에서는 제주 연안에 대량 출현된 괘쟁이모자반에 서식하고 있는 미생물을 분리하고 동정하였다. 그리고 어류질 병세균과 인체유해세균에 대한 항균 활성을 탐색하고자 하였다. 이러한 연구는 제주 연안에 재발생 우려가 큰 괘쟁이모자반의 유입에 따른 생태학적 기초자료로 활용되는데 도움될 것이라 사료된다.

재료 및 방법

시료 채취

본 실험에 사용된 괘쟁이모자반은 2017년 5월 9일 제주도

*Corresponding author

Tel : +82-64-754-3473, Fax : +82-64-756-3493

E-mail : msheo@jejunu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

제주시 인근 연안(GPS정보; 33.497293, 126.450918)에서 채집하여 아이스박스에 담아 -4℃를 유지 시키며 운송 시킨 후 실험에 사용하기 전까지 -80℃에서 보관하였다

균주 분리

패생이모자반에 서식하는 균주 분리를 위해 멸균된 해수로 한 번 세척하고 난 뒤 멸균된 가위로 잘게 잘라내었다. 다음 0.85% 생리식염수 9 ml에 잘려진 패생이모자반 1 g을 넣어 단계별(10^{-1} , 10^{-2})로 희석시켜 R2A agar (R2A, Difco., USA), 1% R2A agar (1% R2A, Difco., USA), Marine agar (MA, Difco., USA)에 각각 100 μ l씩 도말하였다. 그리고 25℃에서 일주일 동안 배양시킨 뒤, 패생이모자반에서 서식하는 균체를 계수한 후, CFU/g 단위로 환산하였다. 그리고 다 자라난 균 중 단일 콜로니를 순수 분리시켜 위와 동일한 배지에 48시간 동안 재 배양하였다. 분리된 균주는 25%(v/v) glycerol에 현탁시켜 -80℃에서 보관하였다.

분리 균주의 항균 활성 탐색

항균 활성 탐색을 위해 사용된 어류 및 인체 유해 세균은 미생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)와 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms, KCCM)에서 분양 받은 것을 사용하였고(Table 1), -80℃에서 보관되었던 균주를 재활성화시켜 사용하였다. 각각의 유해세균은 적절한 배지에서 배양되었고(Table 2), 항균 탐색을 위해 패생이모자반에서 분리된 균주는 R2A와 1% R2A, MA에 접종시켜 25℃에서 48시간 동안 배양하였다. 배양된 균주는 멸균된 0.85% 생리식염수에 현탁시켜 14,240x g로 원심 분리하여 상등액과 균체를 각각 나누어 항균 활성에 사용되었다. 그리고 분리된 상등액 1 ml은 0.45 μ m syringe filter (Whatman, UK)를 통해 여과시키고, 균체는 0.85% 생리식염수 1 ml에 현탁시켜 사용하였다. 여과된 상등액과 현탁된 균체는 멸균된 8 mm paper disc (ADVANTEC, Japan)에 50, 100 μ l씩 각각 분주하여 25℃에서 24시간 동안 건조시켰다. 유해균들은 MacFarland turbidity 0.4로 조절된 뒤 Muller Hinton Agar (MHA, Difco, USA)에 도말하여 배양 온도에

따라 각각 48시간 동안 형성된 억제환을 측정하였다.

16S rRNA 유전자 염기서열 분석

분리된 균주는 Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Korea)를 사용하여 DNA를 추출하였다. 추출된 genomic DNA 1 μ l은 27F/1492R universal primer 각각 0.5 μ M primer와 DNA polymerase, dNTPs, reaction buffer가 함유된 20 μ l PreMix (Bioneer, Korea)를 사용하여 PCR을 수행하였다. PCR을 위한 반응 조건은 Initial denaturation (95℃, 2분), Denaturation (95℃, 30초), Annealing (55℃, 30초), Extension (72℃, 30초)으로 총 30 cycle로 수행하였고, 마지막으로 다시 한번 Extension (72℃, 5분) 하였다. 증폭된 PCR product는 Red safe (Intron, USA)를 첨가하여 1% agarose (promegaCo., USA) gel에서 전기 영동하여 확인하였다. 다음 Accuprep™ PCR purification Kit (Bioneer, Korea)를 사용하여 PCR product에 남은 primers, nucleotides, polymerases, salts를 제거 및 정제하여 elution buffer (10 mM Tris-Cl, pH 8.5) 30 μ l로 elution 하였다. 그리고 PCR product의 염기서열을 분석하기 위해 (주)솔젠트(Daejeon, Korea)에 의뢰하여 결과를 얻었다. 염기서열은 EzTaxone (<http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/>)과 NCBI를 이용하여 표준균주와의 상동성을 조사하였다. ClustalX로 multiple alignment를 수행한 뒤, MEGA 6.0로 계통도 (phylogenetic tree)를 작성하였다.

결과 및 고찰

분리균주의 항균활성 탐색

패생이모자반의 균주 다양성 확인을 위해 평판배지에서 colony를 순수 분리하여 배양한 결과, R2A는 5.8×10^{-3} CFU/g, 1% R2A에서는 4.1×10^{-4} , 3.0×10^{-3} CFU/g, MA는 5.6×10^{-4} CFU/g로 계수 됐다. 각각의 배지에 따른 세균 수는 큰 차이를 나타내지 않았으나, 1% R2A와 MA에 비해 R2A에서 여러 속 (Genus)을 관찰할 수 있었다.

Alpha-proteobacteria강에 속하는 *Novosphingobium*속은 나노 입자의 생합성 기술을 통해 *Escherichia coli*, *Vibrio para-*

Table 1. List of isolated strains used for antibacterial assay

Bacteria name	Strain. No.	Temperature (°C)	Information
<i>Streptococcus iniae</i>	KCTC 3657	25	Fish disease
<i>Streptococcus parauberis</i>	KCTC 3651	25	Fish disease
<i>Edwardsiella tarda</i>	KCTC 12267	25	Fish disease
<i>Vibrio harveyi</i>	KCCM 40866	24	Fish disease
<i>Vibrio hydrophila</i>	KCTC 11533	30	Fish disease
<i>Vibrio alginolyticus</i>	KCCM 40513	26	Fish disease
<i>Escherichia coli</i>	KCCM 11234	37	Human disease
<i>Vibrio vulnificus</i>	KCCM 41665	30	Human disease
<i>Listeria monocytogenes</i>	KCCM 40307	30	Human disease
<i>Streptococcus mutans</i>	KCCM 40105	37	Human disease

Table 2. Classification of microbial isolates originated from *Sargassum horneri*

Phylum	Class	Order	Family	Genus	
Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Rhizobiaceae	Rhizobium	
		Rhodobacterales	Rhodobacteraceae	Albirhodobacter	
				Paracoccus	
				Pseudorhodobacter	
		Rhodospirillales	Rhodospirillaceae	Skermanella	
		Sphingomonadales	Sphingomonadaceae	Novosphingobium	
	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Hydrogenophaga	
				Xenophilus	
			Oxalobacteraceae	Duganella	
				Oxalicibacterium	
		Rhodocyclales	Zoogloeaceae	Azoarcus	
		Gammaproteobacteria	Alteromonadales	Alishewanella	Rheinheimera
				Alteromonadaceae	Alteromonas
				Pseudomonadaceae	Pseudoalteromonas
				Shewanellaceae	Shewanella
			Enterobacterales	Enterobacteriaceae	Raoultella
	Erwiniaceae			Pantoea	
	Yersiniaceae			Rahnella	
			Serratia		
Oceanospirillales	Halomonadaceae	Cobetia			
Pseudomonadales	Moraxellaceae	Acinetobacter			
		Moraxella			
		Psychrobacter			
		Pseudomonadaceae	Pseudomonas		
	Vibrionales	Vibrionales	Vibrio		
Actinobacteria	Actinobacteria	Corynebacteriales	Nocardiaceae	Gordonia	
		Propionibacteriales	Nocardiodaceae	Nocardioides	
Bacteroidetes	Cytophagia	Cytophagales	Cytophagaceae	Dyadobacter	
				Lacihabitans	
	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Cellulophaga	
				Mariniflexile	
	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Chitinophagaceae	Ferruginibacter	

haemolyticus 등 다양한 병원체에서 항균 활성을 보였다[36]. 또한 Gamma-proteobacteria강 *Rheinheimera*속도 항균 작용을 갖고 있다고 알려져 있으며[37], *Alteromonas*속은 polyanionic과 polysaccharide의 항생제 물질을 합성한다고 알려져 있다[38]. 그리고 *Pseudoalteromonas*속은 그람 양성 세균에만 항균 작용을 나타낸다고 보고되었다[39]. 특히 *Rahnella*속은 근두암 종병이라 불리는 *Agrobacterium vitis*의 성장을 억제하며[11], 이 외에도 다양한 식물 병원성 세균에 항균 활성을 나타내었다[45]. *Acinetobacter*속은 endolysin을 분리하여 약물 내성 세균에 의한 감염을 효과적으로 방어할 수 있는 lysozyme으로 치료와 소독제로서의 좋은 역할을 할 수 있다고 보고되었다[40]. 그러나 본 연구에서 분리된 31속 88종의 모든 균주는 어류 질병세균 및 인체유해세균에 대한 억제력이 측정되지 않았다(자료 미제시). 이러한 점을 보아 팽생이모자반에서 서식하고 있는 균주를 이용한 유해 세균의 질병 제어 또는 예방을 위한 유용미생물로서의 이용가능성은 없다 사료된다.

16S rRNA 염기서열의 계통학적 분석

16S ribosomal RNA PCR로 증폭 된 88종은 EZBiocloud의 Identify을 통해 3문(Phylum) 8강(Class) 16목(Order) 22과(Family) 31속(Genus)으로 분석되었으며(Table 2), 계통수는 Fig. 1에서 보는 바와 같다.

Proteobacteria는 팽생이모자반에서 분리 된 균주 중 88%를 차지한 우점문으로 16S와 23S ribosomal RNA의 특이적 부위에 따라 alpha-, gamma-, beta-subclasses로 나뉘는데[22], 본 연구에서 alpha-proteobacteria강과 beta-proteobacteria강은 각각 10%, gamma-proteobacteria강은 65%로 우세하게 나타났다. 다음 Bacteroidetes문은 10%를 차지했고, 그 중 Cytophagia강, Flavobacteria강이 각각 4%, Actinobacteria강 2%, Sphingobacteriia강이 1%로 나타났다. 마지막 Actinobacteria 문은 2%를 차지했고 Actinobacteria강이 2%로 나타났다(Fig. 2).

Proteobacteria문 alpha-proteobacteria강은 97-99%의 상동

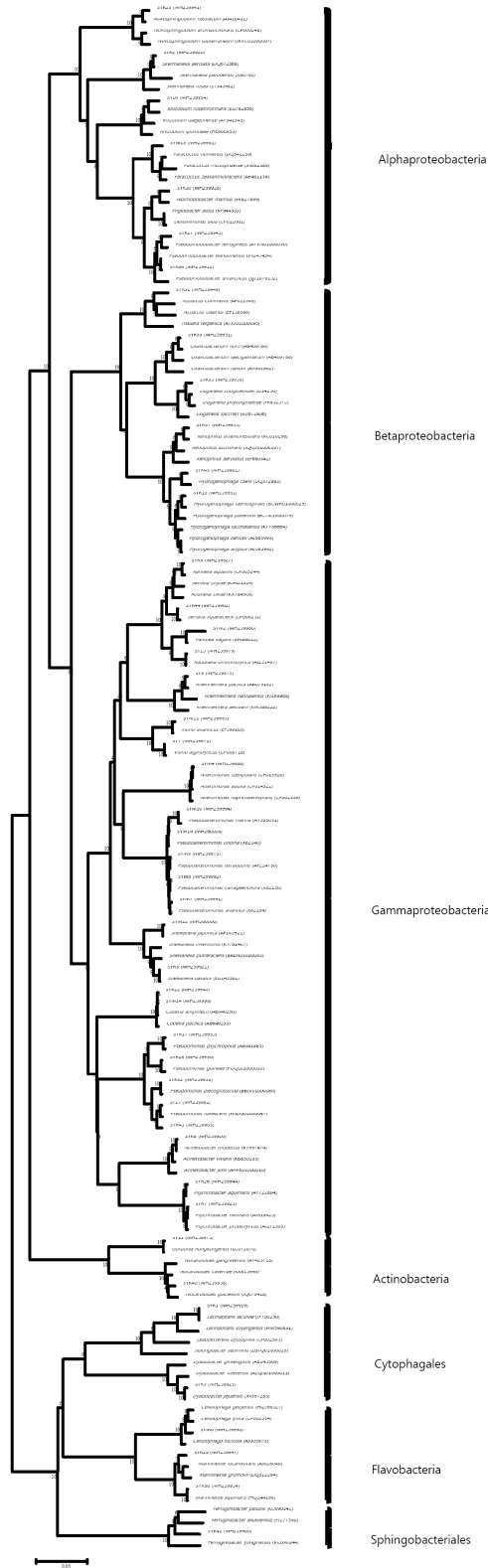


Fig. 1. Neighbour-joining phylogenetic tree determined from the 16S rDNA sequences of bacteria from the *Sargassum horneri*. GenBank accession numbers given in parentheses. Bootstrap values (>50%) based on 1,000 replications are shown.

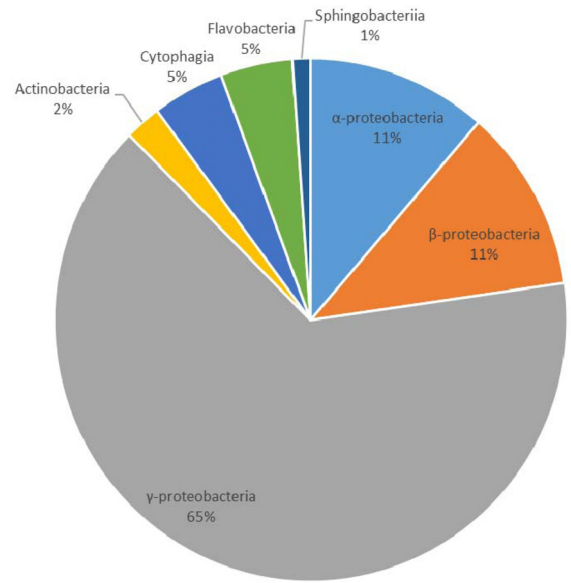


Fig. 2. Pie-diagram showing various genus of bacterial isolated from *Sargassum horneri*.

성을 나타냈고 6속 10종으로 *Pseudorhodobacter*속이 40%를 차지했다. 이 속은 그람 음성균으로 세균 염록소(Bacteriochlorophyll)가 존재하지 않고 non-photosynthetic으로 알려져 있다[30]. 나머지 *Paracoccus*속은 20%, *Rhizobium*, *Albirhodobacter*, *Skermanella* 및 *Novosphingobium* 속은 각각 10%를 차지했다. *Paracoccus*속은 그람 음성균으로 다양한 신진대사를 나타내며 [20], 유독물질을 분해한다고 알려져 있고[33], 팽생이모자반에서 분리된 이 종은 97%의 상동성을 나타내어 추후 신종 실험이 진행되어야 한다. *Rhizobium*속은 식물 뿌리에 부착 되는 세균으로 식물 성장 및 molecular mechanism에 관여하며 농업에선 중요 세균으로 인식되고 있다[6]. *Albirhodobacter*속은 해안가에서 주로 분리되며[24], 전세계적으로 문제되고 있는 해조류 증식을 억제되는 것을 방지할 수 있다고 알려져 있어 [18] 추가 연구를 통해 현재 대량으로 발생되고 있는 유조 현상을 막는데 도움이 될 것이라 사료된다.

beta-proteobacteria강은 97-98%의 상동성을 나타냈고 5속 10종으로 *Hydrogenophaga*속이 50%, *Azoarcus*속 20%, 나머지 *Oxalicibacterium*, *Duganella*, *Xenophilus*속은 각각 10%를 차지했다. *Hydrogenophaga*속은 폐수[4, 34]나 섬유 하수 처리장[8], 쓰레기[42] 등과 같은 오염된 곳에서 쉽게 분리되고 질산염을 질소로 탈질화 시켜준다고 알려져 있다[19]. 그리고 식물 근권 세균으로 알려진 *Azoarcus*속은 생태계의 식물 성장을 억제할 수 있는 질소를 감소시키고 알코올 탈수소 효소를 조절한다고 알려져 있으며[11, 17], 팽생이모자반에서 분리된 *Azoarcus*속은 *Azoarcus communis* (AF011343) 종과 97%의 상동성을 지니 추가 신종 실험이 필요하다 여겨진다.

gamma-proteobacteria강의 상동성은 98-100%였고 13속 57종으로 Proteobacteria문에서 74%로 우점강에 속한다. *Shewa-*

*nella*는 23%를 차지한 속으로 저온에서 보관 된 해산물에서 쉽게 찾아볼 수 있고 H₂S를 생성하는 균주로 알려져 있다[32]. 또한 *Cobetia*, *Pseudomonas*, *Pseudoalteromonas*속 등은 해양에서 우점속으로 분리된다는 기존 보고 내용과 일치하였다[5]. Actinobacteria문은 1997년 Stackebrandt 등에 의해 처음 분류되었고[27], *Gordonia*와 *Nocardioide*속은 방선균으로 다양한 생리 활성 화합물을 지니고 있어 일부 약물로 개발되기도 했고 천연 약제로 이용되고 있다[19].

Bacteroidetes문 Cytophagia강은 99-99% 상동성을 나타냈고 1속 2종으로 우점속인 *Lacihabitans*속은 담수나 강에서 분리되어 보고된 바 있으나 추가 연구가 미비한 실정이다[12]. Flavobacteria강은 상동성 98-99%, 1강 2속으로 *Cellulophaga*, *Mariniflexile*로 동정되었고 Sphingobacteria강은 *Ferruginibacter*속 *Ferruginibacter paludis* (KC690141)종과 95%의 상동성을 나타내었고, 추후 표준균주와 함께 신종 실험이 진행되어야 할 것이며, 이들은 주로 갈조류나 해수 및 담수와 같은 곳에서 발견되었다[13, 21, 43].

이처럼 펙셀이모자반에 서식하고 있는 미생물은 주로 식물이나 해수 또는 담수 심지어 오염된 지역에서도 분리되는 것을 확인할 수 있었다. 또한, 이 중 분리된 몇몇 균주는 환경적으로 문젯거리가 되고 있는 부분에 관한 연구가 진행되고 있었다.

본 연구에서 분리된 균주는 질병 제어나 예방을 위한 이용 가치가 없었지만 추후 추가 연구를 통한 유용미생물로서의 이용가치는 무궁무진하다 사료된다.

감사의 글

본 논문은 정부의 재원으로 한국 연구재단의 지원을 받아 수행된 지역 신 산업 선도인력양성사업과 중견연구사업의 성과임(2016H1D5A1911152 & 2107R1A2B4005688).

References

- Athukorala, Y., Lee, K. W., Kim, S. K. and Jeon, Y. J. 2007. Anticoagulant activity of marine green and brown algae collected from Jeju Island in Korea. *Bioresour. Technol.* **98**, 1711-1716.
- Cho, J. Y., Kwon, E. H., Choi, J. S., Hong, S. Y., Shin, H. W. and Hong, Y. K. 2001. Antifouling activity of seaweed extracts on the green alga *Enteromorpha prolifera* and the mussel *Mytilus edulis*. *J. Appl. Phycol.* **13**, 117-125.
- Cho, S. H., Myoung, J. G., Kim, J. M. and Lee, J. H. 2001. Fish fauna associated with drifting seaweed in the coastal area of tongyeong, Korea. *T. Am. Fish. Soc.* **130**, 1190-1202.
- Contzen, M., Moore, E. R. B., Blumel, S., Stolz, A. and Kampfer, P. 2000. *Hydrogenophaga intermedia* sp. nov., a 4-aminobenzene-sulfonate degrading organism. *Syst. Appl. Microbiol.* **23**, 487-493.
- Dang, H., Zhu, H., Wang, J. and Li, T. 2009. Extracellular hydrolytic enzyme screening of culturable heterotrophic bacteria from deep-sea sediments of the southern okinawa trough. *world. J. Microbiol. Biotechnol.* **25**, 71-79.
- Ditta, G., Stanfield, S., Corbin, D. and Donald, R. 1980. Broad host range DNA cloning system for gram-negative bacteria: construction of a gene bank of *Rhizobium meliloti*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **77**, 7347-7351.
- Du, J., Singh, H. and Yi, Y. H. 2017. Biosynthesis of silver nanoparticles by *Novosphingobium* sp. THG-C3 and their antimicrobial potential. *Artif. Cells. Nanomed. Biotechnol.* **45**, 211-217.
- Egan, S., Harder, T., Burke, C., Steinberg, P., Kjelleberg, S. and Thomas, T. 2012. The seaweed holobiont: understanding seaweed-bacteria interactions. *Fems. Microbiol. Rev.* **37**, 462-476.
- Gan, H. M., Shahir, S., Ibrahim, Z. and Yahya, A. 2011. Biodegradation of 4-aminobenzenesulfonate by *Ralstonia* sp. PBA and *Hydrogenophaga* sp. PBC isolated from textile wastewater treatment plant. *Chemosphere* **82**, 507-513.
- Gauthier, M. J. and Flatau, G. N. 1976. Antibacterial activity of marine violet-pigmented *Alteromonas* with special reference to the production of brominated compounds. *Can. J. Microbiol.* **22**, 1612-1619.
- Guo, Y. B., Li, J., Chen, F., Wu, W., Wang, J. and Wang, H. 2009. Mutations that disrupt either the pqq or the gdh gene of *Rahnella aquatilis* abolish the production of an antibacterial substance and result in reduced biological control of grapevine crown gall. *Applied and environmental. Appl. Environ. Microbiol.* **75**, 6792-6803.
- Gupta, H. K., Gupta, R. D., Singh, A., Chauhan, N. S. and Sharma, R. 2011. Genome sequence of *Rheinheimera* sp. strain A13L, isolated from pangong lake, india. *J. Bacteriol.* **193**, 5873-5874.
- Heo, S. J., Lee, K. W., Song, C. B. and Jeon, Y. J. 2003. Antioxidant activity of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Algae* **18**, 71-81.
- Heo, S. J., Park, E. J., Lee, K. W. and Jeon, Y. J. 2005. Antioxidant activities of enzymatic extracts from brown seaweeds. *Bioresour. Technol.* **96**, 1613-1623.
- Hurek, T., Reinhold-Hurek, B., Montagu, M. V. and Kellenberger, E. 1994. Root colonization and systemic spreading of *Azoarcus* sp. strain BH72 in grasses. *J. Bacteriol.* **176**, 1913-1923.
- Joung, Y., Seo, M. A., Kang, H., Kim, H., Ahn, T. S., Cho, J. C. and Joh, K. 2015. *Emticicia aquatica* sp. nov., a species of the family *Cytophagaceae* isolated from fresh water. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **65**, 4358-4362.
- Jung, Y. T. and Yoon, J. H. 2013. *Mariniflexile jejuense* sp. nov., isolated from the junction between seawater and a freshwater spring, and emended description of the genus *Mariniflexile*. *Int. J. Syst. Evol. Micr.* **63**, 1329-1334.
- Kim, M. E., Jung, Y. C., Jung, I., Lee, H. W., Youn, H. Y. and Lee, J. S. 2015. Anti-inflammatory effects of ethanolic extract from *Sargassum horneri* (turner) C. Agardh on lipopolysaccharide-stimulated macrophage activation via NF-

- κB pathway regulation. *Immunol. Invest.* **44**, 137-146.
19. Komatsu, T., Matsunaga, D., Mikami, A., Sagawa, T., Boisnier, E., Tatsukawa, K., Ishida, K., Takashige, H. T. and Sugimoto, T. 2008. Abundance of drifting seaweeds in eastern east china sea. *J. Appl. Phycol.* **20**, 801-809.
 20. Komatsu, T., Tatsukawa, K., Filippi, J. B., Sagawa, T., Matsunaga, D., Mikami, A., Ishida, K., Ajisaka, T., Tanaka, K., Aoki, M., Wang, W. D., Liu, H. F., Zhang, S. D., Zhou, M. D. and Sugimoto, T. 2007. Distribution of drifting seaweeds in eastern east china sea. *J. Mar. Syst.* **67**, 245-252.
 21. Krause, A., Julich, H., Mankar, M. and Reinhold-Hurek, B. 2017. The regulatory network controlling ethanol-induced expression of alcohol dehydrogenase in the endophyte *Azoarcus* sp. strain BH72. *Mol. Plant Microbe Interact.* **30**, 778-785.
 22. Kristyanto, S. and Kim, J. 2016. Isolation of marine algicidal bacteria from surface seawater and sediment samples associated with harmful algal blooms in Korea. *Kor. J. Microbiol.* **52**, 40-48.
 23. Lai, M. J., Lin, N. T., Hu, A., Soo, P. C., Chen, L. K. and Chang, K. C. 2011. Antibacterial activity of *Acinetobacter baumannii* phage ΦAB2 endolysin (LysAB2) against both gram-positive and gram-negative bacteria. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **90**, 529-539.
 24. Lambo, A. J. and Patel, T. R. 2006. Cometabolic Degradation of polychlorinated biphenyls at low temperature by psychrotolerant bacterium *Hydrogenophaga* sp. IA₃-A. *Curr. Microbiol.* **53**, 48-52.
 25. Lee, J. H., Kim, Y. S., Choi, T. J., Lee, W. J. and Kim, Y. T. 2004. *Paracoccus haeundaensis* sp. nov., a gram-negative, halophilic, astaxanthin-producing bacterium. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **54**, 1699-1702.
 26. Lim, J. H., Baek, S. H. and Lee, S. T. 2009. *Ferruginibacter alkalilentus* gen. nov., sp. nov. and *Ferruginibacter lapsinanis* sp. nov., novel members of the family 'Chitinophagaceae' in the phylum *Bacteroidetes*, isolated from freshwater sediment. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **59**, 2394-2399.
 27. Manz, W., Amann, R., Ludwig, W., Wagner, M. and Schleifer, K. H. 1992. Phylogenetic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of proteobacteria: problems and solutions. *Syst. Appl. Microbiol.* **4**, 593-600.
 28. Nakai, M., Kageyama, N., Nakahara, K. and Miki, W. 2006. Phlorotannins as radical scavengers from the extract of *Sargassum ringgoldianum*. *Mar. Biotechnol.* **8**, 409-414.
 29. Nupur., Vaidya, B., Tanuku, N. R. S. and Pinnaka, A. K. 2013. *Albirehodobacter marinus* gen. nov., sp. nov., a member of the family *Rhodobacteraceae* isolated from sea shore water of visakhapatnam, india. *Antonie. Van. Leeuwenhoek.* **2**, 347-355.
 30. Pang, S. J., Ti, F. L., Shan, F., Gao, S. G. and Zhang, Z. H. 2009. Cultivation of the brown alga *Sargassum horneri*: sexual reproduction and seedling production in tank culture under reduced solar irradiance in ambient temperature. *J. Appl. Phycol.* **21**, 413-422.
 31. Shnit-orland, M., Sivan, A. and Kushmaro, A. 2012. Antibacterial activity of *Pseudoalteromonas* in the coral holobiont. *Microbiol. Ecol.* **64**, 851-859.
 32. Smetacek, V. and Zingone, A. 2013. Green golden seaweed tides on the rise. *Nature* **504**, 84-88.
 33. Stackebrandt, E., Rainey, F. A. and Ward-rainey, N. L. 1997. Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **47**, 479-491.
 34. Tifeng, L. S., Pang, S. S. and Li, J. 2017. Analyses of the genetic structure of *Sargassum horneri* in the yellow sea: implications of the temporal and spatial relations among floating and benthic populations. *J. Appl. Phycol.* **1**, 1-8.
 35. Uchida, T. 1993. The life cycle of *Sargassum horneri* (phaeophyta) in laboratory culture. *Eur. J. Phycol.* **29**, 231-235.
 36. Uchino, Y., Hamada, T. and Yokota, A. 2002. Proposal of *Pseudorhodobacter ferrugineus* gen. nov., comb. Nov., for a non-photosynthetic marine bacterium, *Agrobacterium ferrugineum*, related to the genus *Rhodobacter*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **48**, 309-319.
 37. Uchiyama, S., Hashizume, M., Hokari, Y., Nakagawa, T., Igarashi, A. and Yamaguchi, M. 2004. Characterization of active component in marine alga *Sargassum horneri* extract in stimulating bone calcification *in vitro*. *J. Health Sci.* **50**, 634-639.
 38. Voge, B. F., Venkateswaran, K., Masataka, S. and Lone, G. 2005. Identification of *Shewanella baltica* as the most important H₂S-producing species during iced storage of danish marine fish. *Appl. Environ. Microbiol.* **71**, 6689-6697.
 39. Xu, G., Zheng, W., Li, Y., Wang, S., Zhang, J. and Yan, Y. 2008. Biodegradation of chlorpyrifos and 3,5,6-trichloro-2-pyridinol by a newly isolated *Paracoccus* sp. strain TRP. *Int. Biodeter. Biodegr.* **62**, 51-56.
 40. Yoon, J. H., Kang, S. J., Ryu, S. H., Jeon, C. O. and Oh, T. K. 2008. *Hydrogenophaga bisanensis* sp. nov., isolated from wastewater of a textile dye works. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **58**, 393-397.
 41. Yoshioka, H., Ishida, M., Nishi, K., Oda, H., Toyohara, H. and Sugahara, T. 2014. Studies on anti-allergic activity of *Sargassum horneri* extract. *J. Funct. Foods* **10**, 154-160.
 42. Kokita, T. and Omori, M. 1998. Early life history traits of the gold-eye rockfish, *Sebastes thompsoni*, in relation to successful utilization of drifting seaweed. *Mar. Biol.* **132**, 579-589.
 43. Hoven, R. N. V. and Santini, J. M. 2004. Arsenite oxidation by the heterotroph *Hydrogenophaga* sp. str. NT-14: the arsenite oxidase and its physiological electron acceptor. *Biochim. Biophys. Acta.* **1656**, 148-155.
 44. Barbeyron, T., L'Haridon, S., Michel, G. and Czjzek, M. 2008. *Mariniflexile fucanivorans* sp. nov., a marine member of the *Flavobacteriaceae* that degrades sulphated fucans from brown algae. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **58**, 2107-2113.
 45. Chen, F., Li, J. Y., Guo, Y. B., Wang, J. H. and Wang, H. M. 2009. Biological control of grapevine crown gall: purification and partial characterization of an antibacterial substance produced by *Rahnella aquatilis* strain HX2. *Eur. J. Plant. Pathol.* **124**, 427-437.

초록 : 제주 연안의 갯생이모자반(*Sargassum horneri*)에서 분리된 세균의 계통학적 다양성 및 군집 구조 분석

문경미 · 박소현 · 허문수*

(제주대학교 해양생명과학과)

최근 갯생이모자반(*Sargassum horneri*)은 제주의 해안가와 해변, 연근해 양식장 등 매년 대량으로 축출되어 인근 양식업자 및 주민에게 막대한 피해를 주고 있는 추세이다. 본 연구에서는 제주 인근 연안으로 흘러 들어온 갯생이모자반에 서식하고 있는 미생물의 다양성을 탐색하고 동정을 통한 미생물의 기능을 파악함으로써 생태학적 문제에 관한 기초자료를 제공하고자 하였다. Proteobacteria는 분리된 균주 중 88%를 차지한 우점문으로 α -proteobacteria강은 6속 10종으로 *Pseudorhodobacter*속이 40%를 차지하고 *Paracoccus*속 20%, *Rhizobium*, *Albirhodobacter*, *Skermanella* 및 *Novosphingobium* 속은 각각 10%를 차지했다. β -proteobacteria강은 5속 10종으로 *Hydrogenophaga*속이 50%, *Azoarcus* 20%, 나머지 *Oxalicibacterium*, *Duganella*, *Xenophilus*속은 각각 10%를 차지했다. γ -proteobacteria강은 13속 57종으로 Proteobacteria문에서 74%로 우점강을 차지했고, *Shewanella*는 23%, *Pseudomonas*속 12%, *Cobetia* 19%, *Rahnella*, *Vibrio* 및 *Serratia*속은 4%, 나머지 *Rheinheimera*, *Raoultella*, *Pantoea*, *Acinetobacter*, *Moraxella* 및 *Psychrobacter*속은 2%를 차지했다. Actinobacteria는 1속 2종으로 *Gordonia*와 *Nocardioides*속이 각각 50%를 나타냈다. Bacteroidetes문은 3속 5종으로 *Lacihabitans*, *Mariniflexile*속은 33%, 나머지 *Dyadobacter*, *Cellulophaga*와 *Ferruginibacter*속은 11%를 차지했다.