

진동만의 살조세균의 동태와 살조 특성

김무찬 · 유홍식 · 옥미선* · 김창훈* · 장동석**
부경대학교 해양산업개발연구소, *부경대학교 양식학과, **부경대학교 식품공학과

The Activities and Characteristics of Algicidal Bacteria in Chindong Bay

Mu Chan KIM, Hong Sik YU, Mi Sun OK*, Chang Hoon KIM* and Dong Suk CHANG**
Research Center for Ocean Industrial Development (RCOID), Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea
*Department of Aquaculture, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea
**Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

For investigating the activities of algicidal bacteria, the variations of algicidal bacterial population and chlorophyll-a were checked weekly in Chindong Bay, Korea, from May to July, 1998. For identifying their killing characteristics, three strains were selected from the isolated algicidal bacteria. The density of algicidal bacteria kept changing in the range of 6.0×10^1 to 6.4×10^5 cells l^{-1} . The density flux of algicidal bacteria coincided with that of chlorophyll-a by a week of lag time. Three algicidal bacteria isolated from field strains, H519S5-4, H605S5-15 and H605S5-22, were investigated in nine microalgal species, *Heterosigma akashiwo*, *Chattonella* sp. (Raphidophyceae), *Gymnodinium catenatum*, *Gyrodinium impudicum*, *Cochlodinium polykrikoides* (Dinophyceae), *Chaetoceros* sp., *Coscinodiscus granii*, *Ditylum brightwellii*, *Thalassiosira rotula* (Bacillariophyceae). Strain H605S5-22 showed a wide algicidal activities over nine microalgae, strain H605S5-15 over *H. akashiwo*, *G. catenatum*, *T. rotula*, *Chattonella* sp. and strain H519S5-4 over *H. akashiwo*, *Chattonella* sp., *Chaetoceros* sp., *G. catenatum*. The activities of the three strains were detected by the secretion of algicidal substances. Therefore, it is suggested that the activities of algicidal bacteria have a significant influence over the population dynamics of phytoplankton and get involved with the sharp decrease in red tides in the coastal area.

Key words: the population dynamics, algicidal bacteria, chlorophyll-a, algicidal substances, red tides

서 론

연안해역의 부영양화의 진행과 환경조건의 변화에 따라 적조의 발생건수는 급격히 증가하고, 수산생물의 대량폐사 및 유독화 등을 일으켜 전세계적으로 심각한 어업피해를 야기하고 있다 (Hallgraeff, 1993). 이처럼 자연현장에서 특성의 미세조류가 우점하여 단기간에 대량발생하고 종종 1~2일 이내에 극적으로 소멸하는 현상은 자주 관찰되고 있으나 (本城 등, 1978; Hiroshima, 1989), 적조 발생과 소멸은 각각의 환경에 의해 좌우되는 양상을 보임으로서 이를 해석하여 이에 따른 적조 방제대책을 수립하는 것은 아직도 어려운 실정이다.

한편, 미세조류가 증식 또는 분해되는 과정에서 배출하는 유기물 (excreted organic matter; EOC)은 해양생태계에서 무시할 수 없는 양이며 (Mague et al., 1980), 이들 유기물중에는 세균의 증식촉진 혹은 항균물질이 함유되어 세균군집의 동태에 영향을 미치기도 하며, 마찬가지로 세균도 분해자로서의 역할 뿐만 아니라 미세조류의 증식촉진 또는 저해물질을 분비하여 미세조류의 천이에 영향을 미치는 것으로 알려져 있다 (Cole, 1982; 深見, 1995). 최근, 해양환경에 서식하고 있는 이들 살조세균을 응용하여, 농업 분야에서 실용화 단계에 접어들고 있는 미생물농약과 같이, 환경친화적인 적조방제법을 개발할 수 있지 않을까 하는 발상이 대두되는 한편 (石田, 1994; Ishida et al., 1997), 이러한 관점에서 적조생물을 사멸시키거나 증식을 저해하는 다양한 살조세균이 연안해역에 존재하고 있음이 여러 연구자들에 의해 밝혀지고 있다 (Ishio et al., 1989; Sakata et al., 1991; Fukami et al., 1992; Mitsutami

et al., 1992; Imai et al., 1993, 1995; Yoshinaga et al., 1995; Park et al., 1998). 그러나, 자연계에서 살조세균의 동태 및 적조조류의 소장과 살조세균의 상호관계에 관한 연구는 극히 일부의 결과보고 (Yoshinaga et al., 1995; Kim et al., 1998)되어 있을 뿐이어서, 이들 살조세균을 적조방제에 이용하려는 경우에는 자연환경 중에서 살조세균의 동태 및 그 생리를 충분히 검토하고, 주위의 생태계에 미치는 영향에 대한 평가가 선행되어야 할 것이다.

본 연구에서는 해양생태계의 영향을 최소한으로 하는 적조 방제법을 개발하기 위하여 적조현상이 빈발하는 현장지점을 선정하여 식물플랑크톤 현존량 (chlorophyll-a)의 변동과 살조세균의 상호관계를 검토하고, 이때 분리한 살조세균의 살조유형, 살조범위 (살조특이성) 및 살조활성을 검토하였다.

재료 및 방법

1. 조사시기 및 정점

적조다발 해역인 진동만에서 1정점 (C5)을 정하고 (Fig. 1), 1998년 5월 19일부터 7월 7일까지 일주일 간격으로 오후 1시 30분경, 표층수를 취하여 chlorophyll-a 및 살조세균의 변동상황을 조사하였다.

2. 살조세균 계수 및 chlorophyll-a 측정

Chlorophyll-a는 표준법으로 측정하였으며 (Strickland et al., 1972), 살조세균의 계수는 microplate MPN (most probable

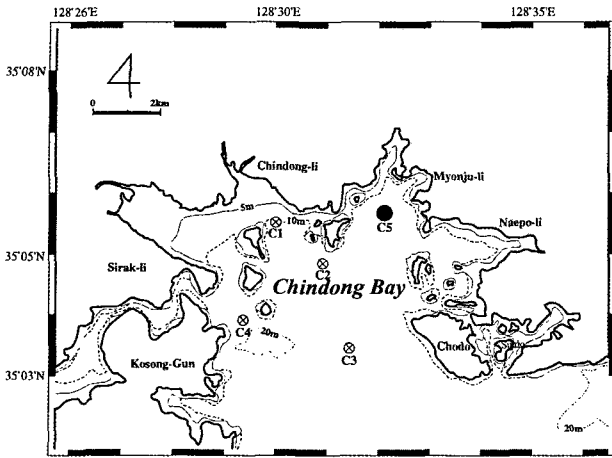


Fig. 1. Sampling stations in Chindong Bay, Korea.

number)법을 이용하였다 (Imai et al., 1998). 시료 해수를 여과 (0.8 μm)하여 세균 크기 이상의 다른 생물을 제거하고, 멸균 해수로 단계 희석하였다. 단계 희석된 시료 해수를 48 well microplate에 0.5 ml씩 분주하고 동시에 숙주조류로 선택한 *Heterosigma akashiwo*의 무균배양액 (약 2×10^4 cells ml^{-1})을 0.5 ml씩 분주하여 혼합한 후, 20°C, 14 L : 10 D, 50 μm^{-2} sec $^{-1}$ 의 광조건 하에서 15일간 배양하였다. 반응구의 판정은 매일 도립현미경으로 관찰하여 각 well에 존재하는 *H. akashiwo*가 99% 이상 사멸된 경우를 양성으로 하였다. 그리고 살조세균의 MPN값은 MPN 연산 프로그램 (Koch, 1994)을 이용하여 산출하였다.

3. 살조세균의 분리

MPN법을 이용한 살조세균의 계수과정에서, 살조세균이 존재한다고 판단된 well 내의 배양액을 1 loop 취하여 ST10 $^{-1}$ 한천 평판배지 (Ishida et al., 1986)에 희석하여, 20°C의 암소에서 2주간 배양하였다. 얻어진 colony를 형태학적인 기준에 따라 대별하고, 각 colony의 살조력 유무를 재확인하였다. 실험에 사용된 균주 H 519S5-4는 '98년 5월 19일 시료에서, 균주 H605S5-22와 H605S5-15는 '98년 6월 5일 시료에서 분리되었다.

4. 살조 특이성 및 살조활성

규조류 4종 (*Chaetoceros* sp, *Coscinodiscus granii*, *Ditylum brightwellii* 및 *Thalassiosira rotula*), 침편모조 2종 (*Chattonella* sp. 및 *H. akashiwo*), 그리고 와편모조 3종 (*Gymnodinium catenatum*, *Gyrodinium impudicum* 및 *Cochlodinium polykrikoides*)을 이용하여 살조 범위 (살조 특이성)를 조사하였다 (Table 1). 실험에 이용된 미세조류는 *C. granii*를 제외하고 모두 무균 배양주였으며, 20°C, 14L : 10D, 50 μm^{-2} sec $^{-1}$ 의 조건에서 배양하였다.

미세조류에 대한 살조 활성을 확인하기 위하여 18 mm × 180 mm 규격의 멸균 시험관에 대수증식기에 달한 각각의 조류 배양액을 10 ml씩 분주하고, 각각의 살조세균을 초기밀도 10 3 cells ml^{-1} 혹은 10 6 cells ml^{-1} 로 접종하여, 상기의 조류 배양조건에서 배양하였다. 살조활성은 형광광도계 (Turner Designs社; Model 10AU-005-CE)

Table 1. List of algae tested for bacterial reactions

Algae	Isolation		Medium
	Site	Date	
Bacillariophyceae			
<i>Chaetoceros</i> sp.	C5, Chindong Bay	98. 12	f/2
<i>Coscinodiscus granii</i> *	C5, Chindong Bay	98. 12	f/2
<i>Ditylum brightwellii</i>	Samchonpo	98. 11	f/2
<i>Thalassiosira rotula</i>	Samchonpo	98. 11	f/2
Raphidophyceae			
<i>Chattonella</i> sp.	C2, Chindong Bay	98. 8	SW II m
<i>Heterosigma akashiwo</i>	Samchonpo	98. 11	SWM III
Dinophyceae			
<i>Gymnodinium catenatum</i>	SJ2, Chinhae Bay	96. 7	GPM
<i>Gyrodinium impudicum</i>	C3, Chindong Bay	97. 3	f/2
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	C3, Chindong Bay	98. 8	f/2

* Non-axenic culture

를 이용하여, 각 미세조류 배양액의 chlorophyll-a의 감소량 및 증가량을 측정하여, 그 상대치로 판정하였다. 살조세균의 밀도는 48 시간 후에 DAPI 염색한 후 낙사 형광현미경하에서 직접 계수하였다 (Potter and Feig, 1980).

5. 살조 유형

상기의 살조세균 (H519S5-4 균주, H605S5-22 균주 및 H605S5-15 균주)에 대한 살조 유형을 조사하기 위하여 24 well microplate에 pore size 0.2 μm 의 TC insert를 삽입한 2조 배양계 (Fig. 2)를 이용하였다. TC insert 내부에는, 미리 SWMIII배지에서 전배양한 *H. akashiwo*의 배양액을 500 μl (10 5 cells ml^{-1}) 첨가하고, TC insert 외부에는 SWM III 배지를 700 μl 첨가하였다. ST10 $^{-1}$ 액체배지에 전배양하여 놓은 살조세균 700 μl (10 6 cells ml^{-1})를 TC insert 외부에 첨가하여, 상기의 미세조류의 배양조건에서 배양하였다. 그리고 살조세균 배양액 대신에 ST10 $^{-1}$ 액체배지만을 첨가하여 상기와 같이 배양을 한 well을 negative control로 하였고, TC insert 내부에 살조세균을 첨가한 well을 positive control로 하였다.

결 과

1. 살조세균과 chlorophyll-a의 변동

본 연구기간 동안 chlorophyll-a 및 살조세균수의 변동 양상을 Fig. 3에 나타내었다. Chlorophyll-a의 농도는 1.56~40.37 $\mu\text{g l}^{-1}$ 의 범위에서 변동하였다. 5월 26과 6월 5일에 22.40 $\mu\text{g l}^{-1}$ 이상의 높은 농도를 나타낸 후, 점차 감소하여, 6월 23일에는 최소치 1.56 $\mu\text{g l}^{-1}$ 나타내었다. 그후 급격히 증가하여 6월 30일에 최대치 40.37 $\mu\text{g l}^{-1}$ 을 나타내었다.

살조세균수는 6.0 × 10 4 ~ 6.4 × 10 5 cells l^{-1} 의 범위에서 변동하였다. 살조세균수는 5월 19일부터 증가하기 시작하여, chlorophyll-a가 22.40 $\mu\text{g l}^{-1}$ 이상의 고농도를 유지하는 6월 5일에 최대값 6.4 × 10 5 cells l^{-1} 이었다. 그후, chlorophyll-a가 감소하는 시기에 살조세균수도 점차 감소하여 6월 30일에는 최소값 6.0 × 10 4 cells l^{-1} 를 나타내었다.

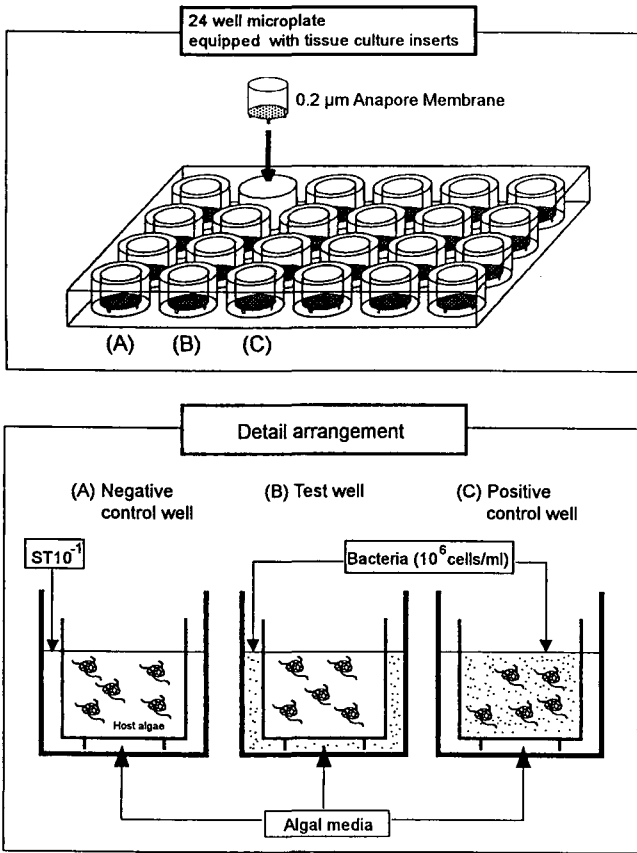


Fig. 2. Experimental procedure for determination of algicidal type of algicidal bacteria using TC inserts.

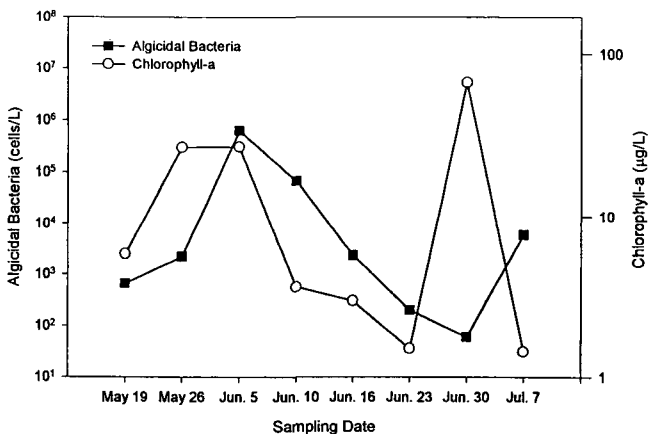


Fig. 3. Weekly fluctuations of algicidal bacteria and chlorophyll-a at St. C5 in Chindong Bay, 1998.

2. 살조 특이성 및 살조 활성

9종의 미세조류 (침편모조, *Chattonella* sp., *H. akashiwo*; 와편모조, *G. catenatum*, *G. impudicum*, *C. polykrikoides*; 규조, *Chaetoceros* sp., *C. granii*, *D. brightwellii*, *T. rotula*)에 대한 H519S5-4 균주, H605S5-15 균주 및 H605S5-22 균주의 살조력 유무를 조사한 결과는 Table 2와 같다. H605S5-22 균주는 실험에 사용된 모든 조류를 사멸시켰고, H605S5-22 균주와 동일 시기에 분리한

H605S5-15 균주는 4종의 조류 (*H. akashiwo*, *G. catenatum*, *Chaetoceros* sp., *Chattonella* sp.)를 사멸시켰으나 나머지 종에 대해서는 살조력을 나타내지 않았다. H519S5-4 균주도 4종의 조류 (*H. akashiwo*, *G. catenatum*, *Chaetoceros* sp., *T. rotula*)를 사멸시켰으나 나머지 종은 사멸시키지 못하였다. 9종의 미세조류 중에서 *H. akashiwo*, *Chaetoceros* sp. 및 *G. catenatum*의 3종은 모든 살조세균에 의해 사멸되었다. 이와 같이 H605S5-22 균주는 살조 특이성이 낮았으며, H605S5-15 균주와 H519S5-4 균주는 H605S5-22 균주에 비해 미세조류에 대한 살조범위가 한정되어 상대적으로 살조 특이성이 높았다.

H605S5-22 균주에 의해 파괴된 미세조류의 현미경 사진을 Fig. 4에 나타내었다. 침편모조의 경우 개체차이는 있으나, 배양 12시간 이내 (20분~12시간)에 세포 고유의 형태가 상실되고 구형으로 바뀌면서 운동성이 점차 상실되었다 (Fig. 4H). 이어 세포의 한쪽이 파열하듯이 갑자기 터져 세포 내용물이 밖으로 유출되었다. 와편모조의 경우도 유사한 양상을 보였는데, 대부분의 경우 연쇄상의 세포형태를 그대로 유지하면서 사멸되었다 (Fig. 4G). 규조류의 경우에도 세포 고유의 형태가 변하는 현상이 관찰되었으나, 침편모조에서처럼 세포가 완전 구형화하는 현상은 관찰되지 않았고 세포의 횡단이 팽윤하는 변화를 나타내었다 (Fig. 4D). 그리고 갑작스런 세포의 파괴와 세포질의 유출이 일어나는 대신 점진적인 탈색 및 세포 내용물의 소실이 2~3일에 걸쳐 일어났다.

초기밀도 10⁶ cells ml⁻¹로 H605S5-22 균주를 접종하였을 경우, *Chattonella* sp. *C. granii* 및 *D. brightwellii*를 제외한 6종의 조류 (*G. catenatum*, *G. impudicum*, *C. polykrikoides*, *Chaetoceros* sp., *H. akashiwo* 및 *T. rotula*)는 실험개시 후 24시간 이내에 형광광도값이 절반으로 감소하였다 (Fig. 5a 및 Fig. 5b). 이때 이들 배양액 100 µl를 무균적으로 취하여, 현미경하에서 관찰한 결과 대부분의 미세조류의 세포는 파괴되어 있었다. *Chattonella* sp.에 대해서는 배양 48시간 후부터 급격한 살조력을 보였고, *C. granii*와 *D. brightwellii*의 경우는 사멸까지 각각 9일과 8일이 소요되어

Table 2. Algicidal ranges of tested bacteria against 9 species of microalgae

Algae	Bacterial strains		
	H519S5-4	H605S5-15	H605S5-22
Bacillariophyceae			
<i>Chaetoceros</i> sp.	++	++	++
<i>Coscinodiscus granii</i>	-	-	-
<i>Ditylum brightwellii</i>	-	-	+
<i>Thalassiosira rotula</i>	++	-	++
Raphidophyceae			
<i>Chattonella</i> sp.	-	++	++
<i>Heterosigma akashiwo</i>	++	++	++
Dinophyceae			
<i>Gymnodinium catenatum</i>	++	++	++
<i>Gyrodinium impudicum</i>	-	-	++
<i>Cochlodinium polykrikoides</i>	-	-	++

Killing activity determined after 48 hours incubation noted as: ++, strong effect; +, weak effect or growth inhibition; -, no effect

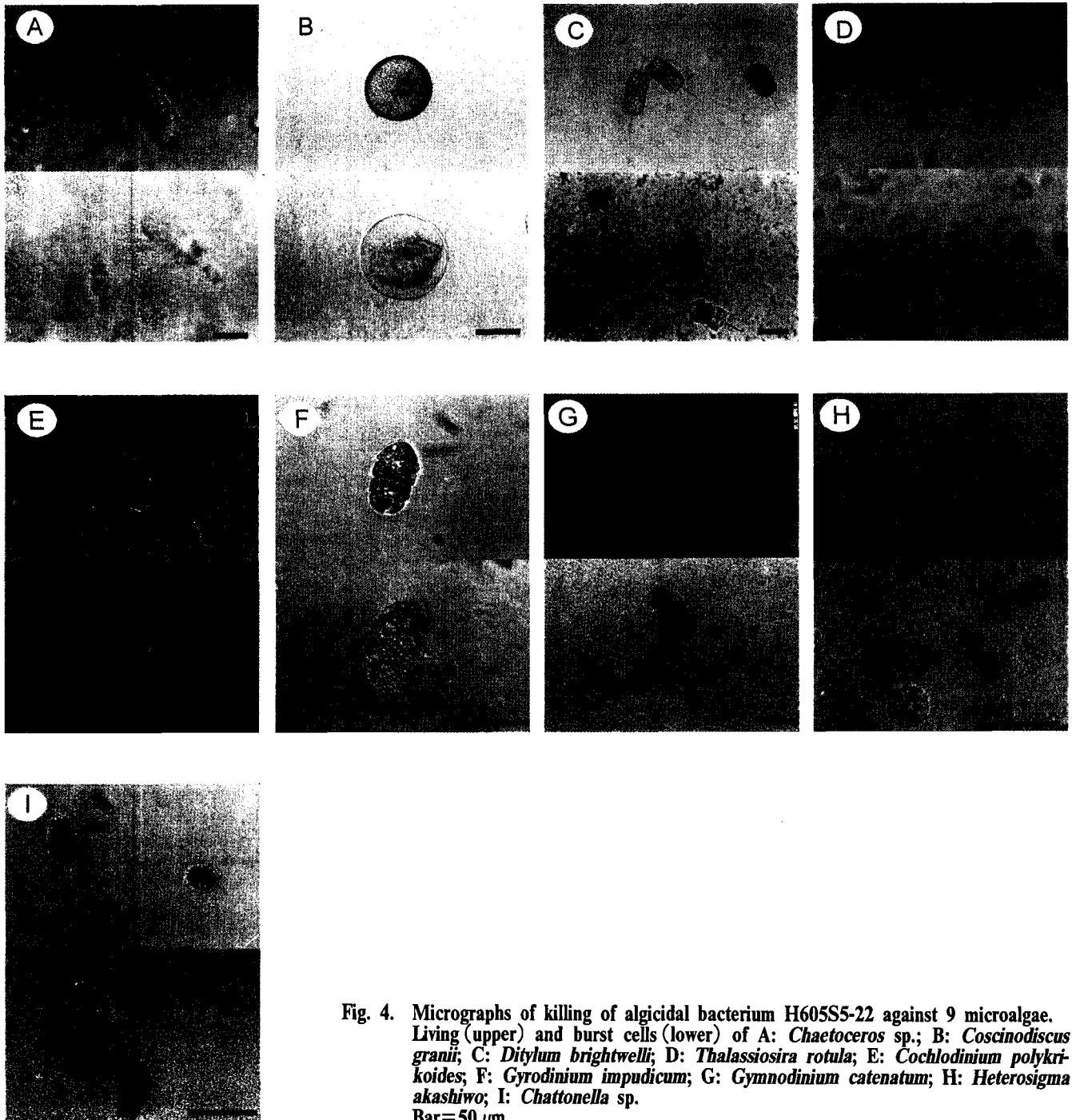


Fig. 4. Micrographs of killing of algicidal bacterium H605SS5-22 against 9 microalgae. Living (upper) and burst cells (lower) of A: *Chaetoceros* sp.; B: *Coscinodiscus granii*; C: *Ditylum brightwellii*; D: *Thalassiosira rotula*; E: *Cochlodinium polykrikoides*; F: *Gyrodinium impudicum*; G: *Gymnodinium catenatum*; H: *Heterosigma akashiwo*; I: *Chattonella* sp. Bar = 50 μ m

상대적으로 약한 살조활성을 나타내었다 (Fig. 4B, C). *H. akashiwo*, *G. catenatum*, *T. rotula*, *Chattonella* sp.에 대한 H605SS5-15 균주의 살조 활성 (Fig. 6)과, *H. akashiwo*, *Chattonella* sp., *Chaetoceros* sp., *G. catenatum*에 대한 H519S5-4 균주의 살조 활성 (Fig. 7)도, 실험개시 후 24시간 이내에 형광광도값이 절반으로

감소하여 H605SS5-22 균주와 유사한 경향을 보였다.

모든 살조세균이 살조력을 나타내는 *Chaetoceros* sp., *H. akashiwo* 및 *G. catenatum*에 대하여 초기 세균밀도를 10^3 cells ml^{-1} 와 10^6 cells ml^{-1} 로 각각 접종하여, 살조활성과 세균의 밀도변화를 비교하였다 (Table 3). 모든 살조세균은 10^6 cells ml^{-1} 를

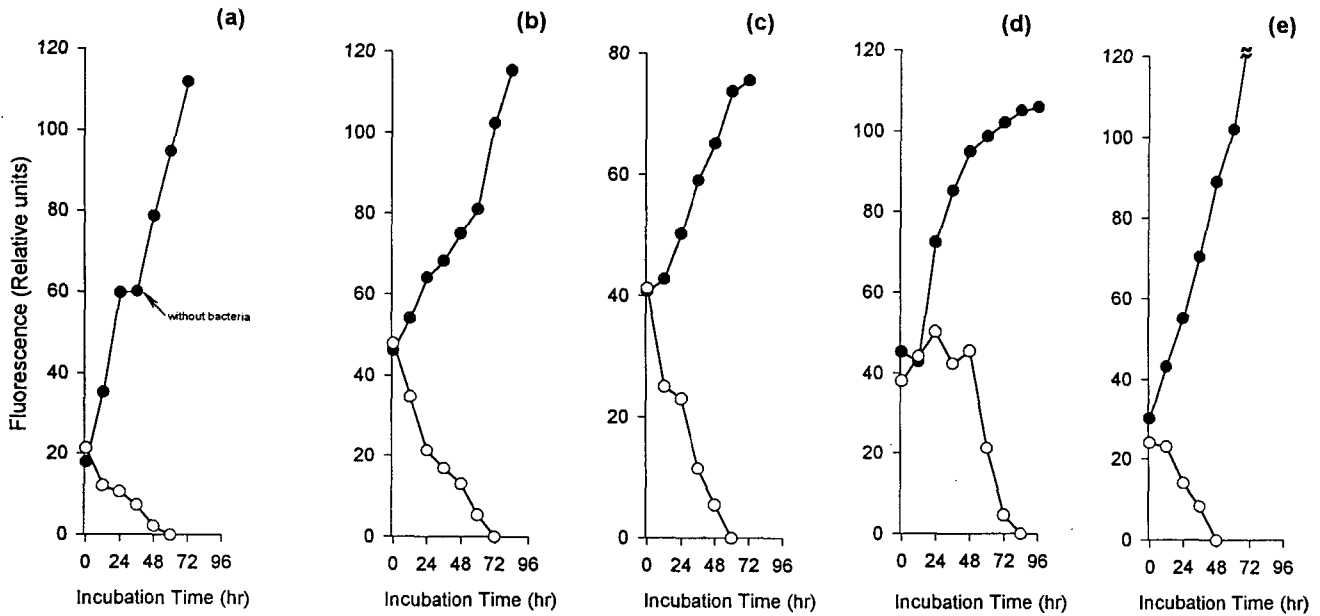


Fig. 5a. Inhibitory effect by an isolated algicidal bacterium (H605S5-22) on the growth of (a) *Gymnodinium catenatum*, (b) *Gyrodinium impudicum*, (c) *Cochlodinium polykrikoides*, (d) *Chattonella* sp., and (e) *Heterosigma akashiwo*. The growth and survival of phytoplankton with bacteria and without bacteria were monitored by the autofluorescence from chlorophyll of phytoplankton cells using Turner Fluorometer™. Initial density of killing bacteria was 10^6 cells ml^{-1} .

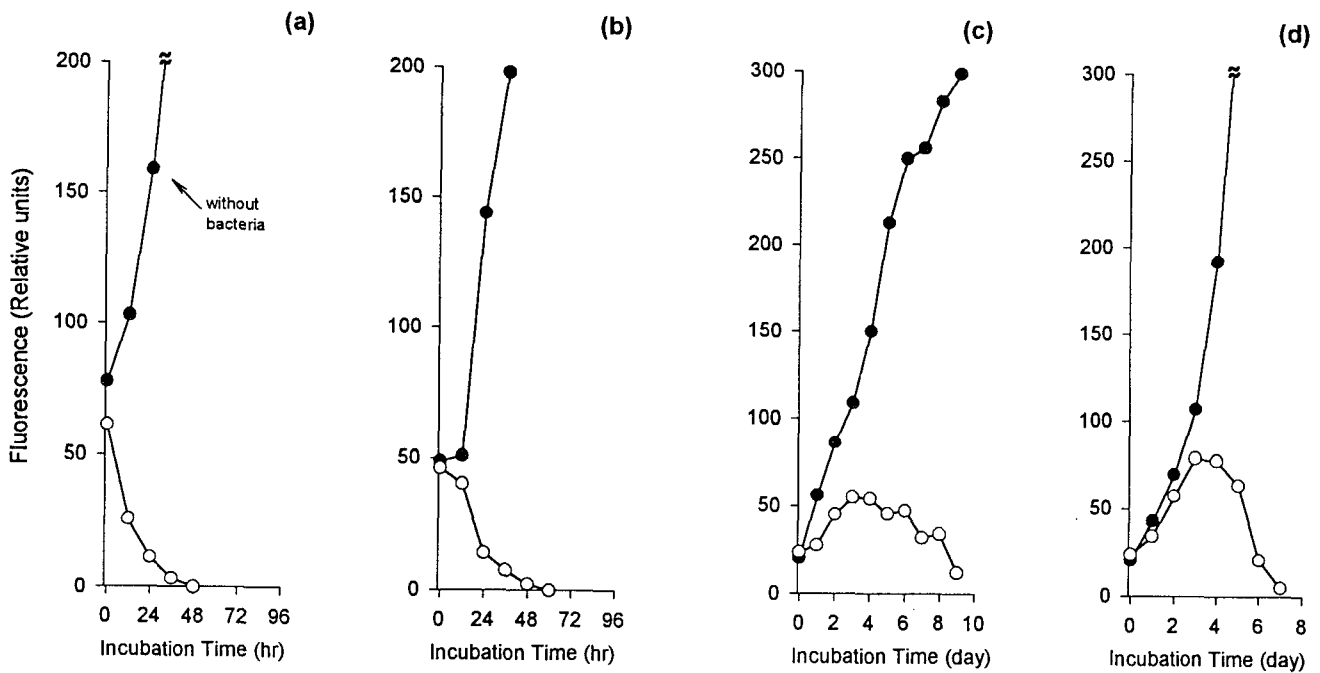


Fig. 5b. Inhibitory effect by an isolated algicidal bacterium (H605S5-22) on the growth of (a) *Chaetoceros* sp., (b) *Thalassiosira rotula*, (c) *Coscinodiscus granii*, and (d) *Ditylum brightwellii*.

집중하였을 경우가 10^3 cells ml^{-1} 를 집중하였을 경우보다 높은 살조 활성을 나타내었다. 또한 모든 살조세균은 10^3 cells ml^{-1} 를 집중하였을 경우, 48시간 이내에 10^7 cells ml^{-1} 이상으로 증식하였다.

3. 살조 유형

살조세균이 조류에 부착하여 사멸시키는 직접공격형인지, 물질

을 분비하여 사멸시키는 살조인자분비형인지를 실험한 결과, 3종의 살조세균은 모두 세포 외로 물질을 분비하여 살조하는 살조인자분비형이었다 (Table 4). TC insert 내부에 *H. akashiwo*와 살조세균을 함께 접종한 모든 positive control well에서는 *H. akashiwo*가 사멸되고, 살조세균 배양액 대신에 세균배지인 ST10⁻¹ 액체배지만 접종한 모든 negative control well에서는

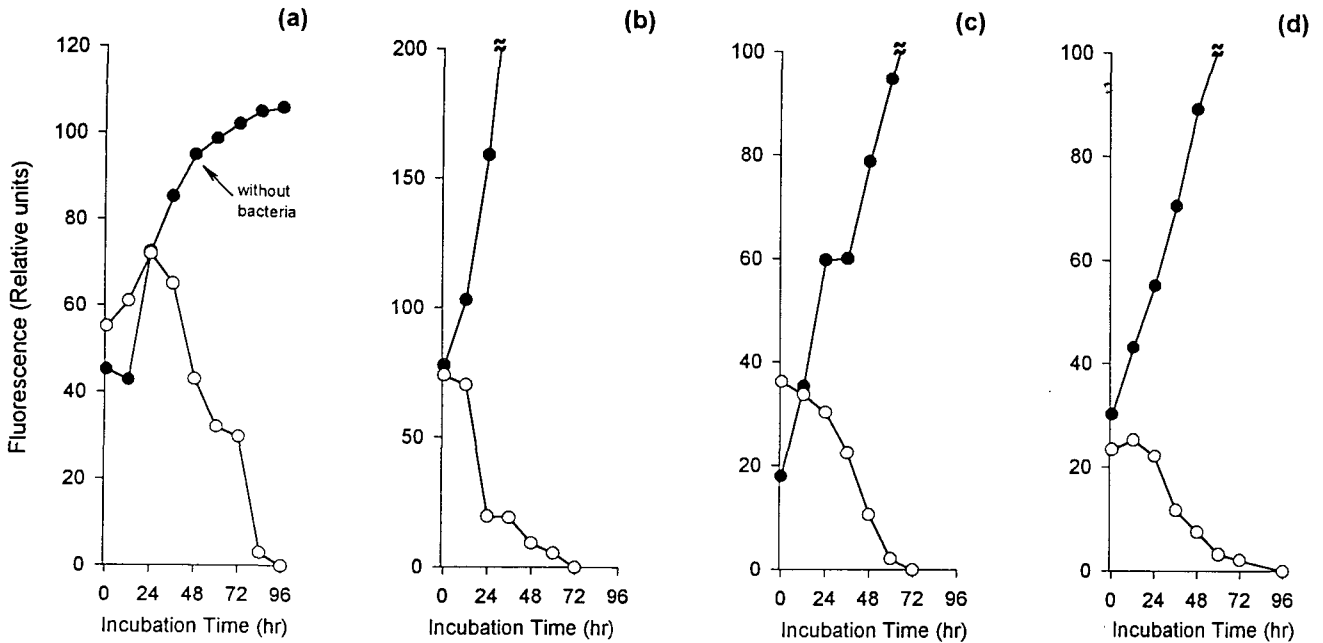


Fig. 6. Inhibitory effect by an isolated algalicidal bacterium (H605S5-15) on the growth of (a) *Chattonella* sp., (b) *Chaetoceros* sp., (c) *Gymnodinium catenatum*, and (d) *Heterosigma akashiwo*.

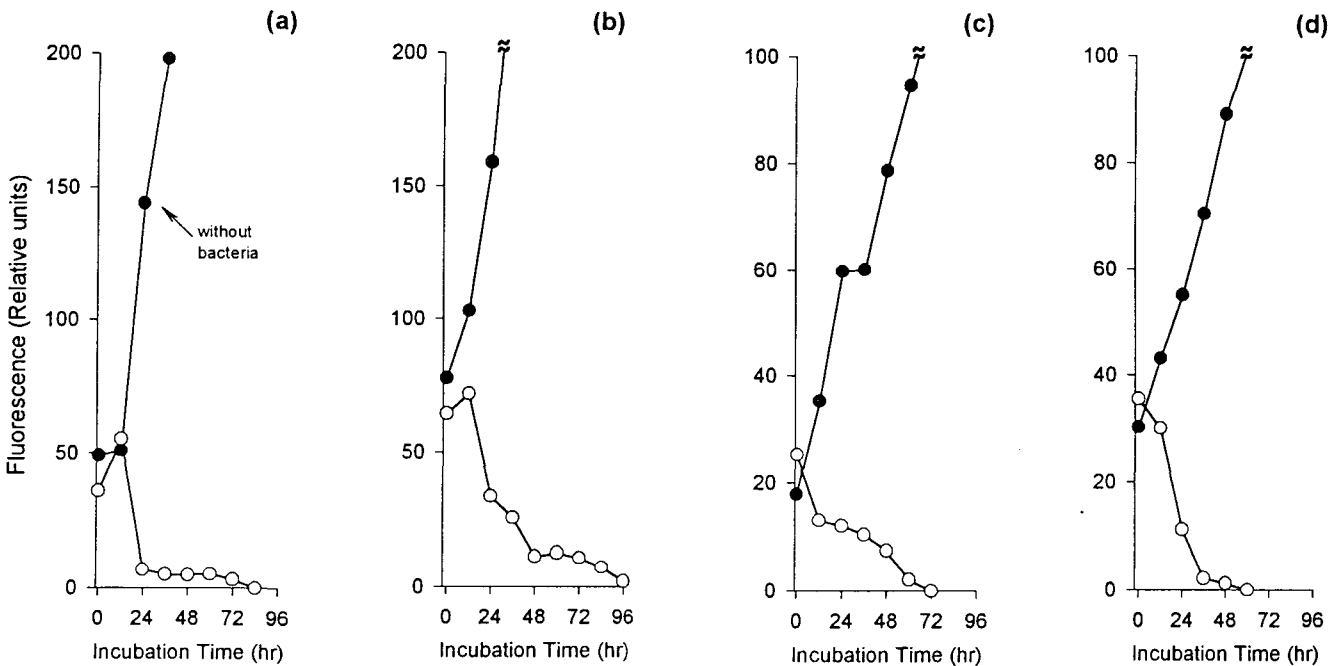


Fig. 7. Inhibitory effect by an isolated algalicidal bacterium (H519S5-4) on the growth of (a) *Thalassiosira rotula*, (b) *Chaetoceros* sp., (c) *Gymnodinium catenatum*, and (d) *Heterosigma akashiwo*.

*H. akashiwo*가 사멸되지 않았다. 실험에 사용된 모든 살조세균은 0.2 μm의 필터로 *H. akashiwo*와 격리된 상태에서도 *H. akashiwo*를 사멸시켰다. 이때 *H. akashiwo*가 사멸된 TC insert 내부의 배양액을 취하여 DAPI 염색한 후 낙사 형광현미경 하에서 관찰한 결과 세균은 발견되지 않았다. 따라서 3종의 살조세균은 물질을 분비하여 *H. akashiwo*를 사멸시키는 살조인자분비형의 살조세균인 것으로 확인되었다.

고 찰

담수 생태계에서 미세조류와 살조세균의 상호관계에 관한 연구는 중층한천배지법 (soft-agar overlayer technique; Safferman and Morris, 1963; 山本, 1978)이라는 기법을 이용하여 이전부터 진행되어 왔다 (Steward and Brown, 1971; Daft et al., 1975). 그러나 해산미세조류, 특히 유해 편모조류는 한천 배지상에서 증식하지

Table 3. Growth of algicidal bacteria in co-cultivation with selected microalgae

Algae	Growth, cells ml ⁻¹								
	H519S5-4			H605S5-15			H605S5-22		
	Initial density	After 24 hours	After 48 hours	Initial density	After 24 hours	After 48 hours	Initial density	After 24 hours	After 48 hours
<i>Heterosigma akashiwo</i>	4.6×10 ³	9.5×10 ⁵	6.6×10 ⁷	8.6×10 ³	6.6×10 ⁶	3.1×10 ⁷	1.6×10 ³	3.6×10 ⁵	2.3×10 ⁷
	6.7×10 ⁶	6.7×10 ⁷	7.7×10 ⁸	4.9×10 ⁶	5.4×10 ⁷	3.2×10 ⁸	7.4×10 ⁶	4.5×10 ⁷	8.2×10 ⁸
<i>Gymnodinium catenatum</i>	1.2×10 ³	2.2×10 ⁵	5.5×10 ⁷	3.6×10 ³	2.5×10 ⁵	2.7×10 ⁷	3.6×10 ³	2.6×10 ⁵	4.2×10 ⁷
	4.1×10 ⁶	5.3×10 ⁷	3.7×10 ⁸	5.5×10 ⁶	1.3×10 ⁷	9.9×10 ⁷	5.6×10 ⁶	5.3×10 ⁷	5.8×10 ⁸
<i>Chaetoceros</i> sp.	4.4×10 ³	7.4×10 ⁶	4.6×10 ⁷	3.4×10 ³	9.9×10 ⁵	6.4×10 ⁷	6.5×10 ³	5.6×10 ⁵	1.2×10 ⁷
	2.1×10 ⁶	4.3×10 ⁷	1.7×10 ⁸	5.1×10 ⁶	3.1×10 ⁷	3.9×10 ⁸	3.4×10 ⁶	5.1×10 ⁷	7.1×10 ⁸

The number of bacteria was determined by the direct counting method with DAPI staining.

Table 4. Determination of algicidal type against *H. akashiwo* using the tissue culture insert

Strains	Negative control well	Positive control well	Test well
H519S5-4	-	+	+
H605S5-15	-	+	+
H605S5-22	-	+	+

Negative control well: *H. akashiwo* inside and ST10⁻¹ (the bacterial medium) outside

Positive control well: *H. akashiwo* and algicidal bacteria inside

Test well: *H. akashiwo* inside and algicidal bacteria outside

+ : *H. akashiwo* cells inside were killed within 48 hours

- : *H. akashiwo* cells inside were not killed within 48 hours

않으므로 (長崎·今井, 1994), 중층한천배지법을 이용한 연구가 불가능하였다. 최근 그 대안으로 microplate MPN법이 도입되어, 액체 배지를 이용하는 이 MPN 방법을 살조세균의 검색과 계수에 응용한 것이다 (Imai et al., 1998). 본 연구에서 이러한 MPN법을 이용하여 살조세균을 계수한 결과, 살조세균이 6.0×10⁴~6.4×10⁵ cells l⁻¹의 밀도로 존재하고 있어 (Fig. 3), 진동만에서는 살조세균이 연중 상존할 가능성을 보이고 있다.

본 연구에서 MPN법으로 살조세균을 계수할 때, 대형의 포식동물이나 미세조를 제거하기 위해 0.8 μm의 Nuclepore filter에 여과한 시수를 사용하였다. 0.8 μm 이하의 미생물로서는 세균이외에 바이러스도 생각할 수 있다. 특히, 최근 해산미세조를 살조하는 바이러스가 분리됨 (Bratbak et al., 1996; Nagasaki et al., 1999)에 따라 MPN법에 의한 계수치가 바이러스에 의한 값일 가능성도 배제할 수 없지만, 일본 히로시마만에서 실시한 Kim et al. (1998)에 의한 연구결과를 보면, 바이러스에 의한 계수값은 살조세균에 의한 계수값보다 무시할 정도로 적고, 또한 본 연구 기간동안 살조세균을 계속적으로 분리하였으므로, 본 연구의 MPN법에 의한 계수치는 바이러스에 의한 값보다는 살조세균에 의한 값이라고 생각된다.

Chlorophyll-a와 식물플랑크톤의 현존량은 높은 정의 상관관계를 나타내고 있으며 (Riquelme et al., 1987), 중층한천배지법을 이용하여 남조류와 살조세균의 변동을 조사한 결과, chlorophyll-a 농도와 남조 *Anabaena solitaria*dp 살조세균수의 변동양상은 잘 일치하는 것으로 보고하고 있다 (滿谷, 1994). 한편, 일본 히로시마만에서 발생한 *Heterosigma akashiwo*적조의 소멸시기에 γ-

proteobacteria 군에 속하는 살조세균이 증가하여 적조소멸에 기여한다는 보고도 있다 (Kim et al., 1998; Yoshinaga et al., 1998). 본 연구기간 동안에도 살조세균의 변동양상은, 1주일의 lag time을 가지고 chlorophyll-a의 변동과 잘 일치하며 (Fig. 3), chlorophyll-a가 고농도가 된 후 살조세균이 급격히 증가하여 chlorophyll-a의 감소에 기여하는 것으로 보인다. 그러나, chlorophyll-a의 농도는 MPN계수를 위해 숙주조로 이용한 *H. akashiwo*보다도, *Ceratium furca*에 의해 좌우되었다. 이러한 결과로부터 다음과 같은 가능성 등을 추정할 수 있다. 미세조류가 배출하는 유기물 (EOC)은 세균 군집의 동태에 영향을 미칠 뿐 아니라, 세균도 미세조류의 증식촉진물질이나 저해물질을 분비하여 미세조류의 천이에 영향을 미치므로 (Mague et al., 1980; Cole, 1982; 深見, 1995), 첫째, *C. furca*의 bloom이 형성된 환경은 *H. akashiwo* 살조세균의 증식을 촉진하는 요인이 함유되어 있고, 이들 살조세균은 *C. furca*에게도 살조력을 가지며 *C. furca*의 bloom소멸에 기여한다. 둘째, 본 연구정점에서는 *H. akashiwo* 살조세균이 다수 존재하고 있으므로 *H. akashiwo* 적조가 발생하지 않았다.

Chlorophyll-a가 고농도인 시기 (6월5일)에 분리한 균주 H605S5-22와 H605S5-15, 상대적으로 저농도일 시기 (5월19일)에 분리한 균주 H519S5-4는 모두 해산미세조 (*Chaetoceros* sp., *H. akashiwo* 및 *G. catenatum*) 배양액에 10³ cells ml⁻¹를 접종하였을 경우, 48 시간 이내에 10⁷ cells ml⁻¹ 이상으로 증식하였다 (Table 3). 해산미세조류가 배출하는 EOM 이외에는 유기물이 함유되지 않은 f/2 배지에서도 살조세균이 잘 증식한다는 것은, 이들 살조세균이 조류에서 분리된 EOM 혹은 사멸된 미세조류의 분해산물을 영양원으로 이용하여 증식된 결과로 여겨진다.

지금까지 여러 연구자들에 의해 분리된 살조세균에는 조류세포에 직접 부착해서 살조하는 「직접공격형」과 살조물질을 생산·분비해서 적조생물을 살조하는 「살조인자분비형」으로 크게 나눌 수 있다. 전자로는 주로 활주세균 (*Cytophaga*속, *Saprospira*속 등)이 점하고 있으며 (Imai et al., 1991, 1993; Sakata et al., 1991; Sakata and Yasumoto, 1992), 후자로는 주로 진정세균 (*Flavobacterium*속, *Alteromonas*속, *Pseudomonas*속 등)이 점하고 있다 (Fukami et al., 1992; Mitsutami et al., 1992; Yoshinaga et al., 1995). 직접공격형 살조세균은 다양한 해산미세조에 대하여 살조력을 나타낸다 (살조특이성이 낮음)고 보고되고 있다. *Flavobacterium* sp.

5N-3 균주와 *Alteromonas* sp. 6/6-46 균주는, 수용성 저분자 살조인자를 분비하여 *Gymnodinium mikimotoi*를 살조하지만, 규조 및 침편모조에는 살조력이 없다고 보고되고 있다 (深見·西島, 1994; 菅原 등, 1994). 또한, *Flavobacterium* sp. E401 균주는 고분자 살조인자를 분비하여 *G. mikimotoi*를 살조하지만, 이것은 규조 및 침편모조에는 살조력이 나타나지 않는다고 보고하고 있다 (Yoshinaga et al., 1995). 이와 같이 대부분의 살조인자분비형 살조세균은 살조특이성이 높다고 보고되고 있지만, 본 연구해역에서 분리한 3종의 살조세균은 살조인자분비형 살조세균임에도 불구하고 살조특이성이 상대적으로 낮았다.

그리고 3종의 살조세균은 모두 살조인자를 분비하여 살조함 (Table 4)에도 불구하고 해산미세조에 대한 살조범위가 다르게 나타났다 (Table 2). 이러한 원인으로서는 다음과 같은 가능성 등을 들 수 있다. 우선, 앞에서 언급한 바와 같이 살조인자는 고분자물질 및 저분자물질이 있으므로, 이들 3종의 살조세균이 분비하는 살조인자는 각각 다른 성분일 것이라고 추정된다. 또한, 각 해산미세조는 각 살조인자에 대한 저항력이 차이가 있을 가능성도 생각할 수 있다.

해양생태계에 존재하고 있는 살조세균의 적조 발생 및 소멸 환경에 따른 개체군 동태를 파악하고, 각각의 살조인자의 생산 및 살조기작의 해명과 더불어서 응용방법을 개발하면 환경에 무해한 살조세균에 의한 적조방제의 길이 멀지 않을 것으로 기대된다.

요 약

적조 다발지역인 진동만에서 살조세균의 동태를 파악하기 위하여, 1998년 5월 19일부터 7월 7일까지, chlorophyll-a 및 살조세균의 계수·분리하였고, 분리한 살조세균의 살조특성을 조사하였다.

본 연구기간동안 살조세균의 밀도는 $6.0 \times 10^1 \sim 6.4 \times 10^5$ cell ℓ^{-1} 의 범위에서 변동하였으며, chlorophyll-a의 농도의 증가 및 감소에 대하여 각각 1주일의 lag time을 두고 이와 동일한 변동양상을 나타내었다.

현장시료에서 분리된 3종의 살조세균 H519S5-4, H605S5-15 및 H605S5-22 균주의 살조범위를 침편모조류 *Heterosigma akashiwo*와 *Chattonella* sp., 와편모조류 *Gymnodinium catenatum*, *Gyrodinium impudicum* 및 *Cochlodinium polykrikoides*, 규조류 *Chaetoceros* sp., *Coscinodiscus granii*, *Ditylum brightwellii* 및 *Thalassiosira rotula*를 대상으로 조사하였다. H605S5-22 균주는 실험에 사용된 9종의 미세조류를 전부 사멸시켜 광범위한 살조범위를 나타내었다. 또한, 균주 H605S5-15는 *H. akashiwo*, *G. catenatum*, *T. rotula* 및 *Chattonella* sp.에 대하여, H519S5-4는 *H. akashiwo*, *Chattonella* sp., *Chaetoceros* sp. 및 *G. catenatum*에 대하여 살조력을 나타내었다. 살조유형은 3종 모두 세포 외 물질을 분비하여 살조하는 살조인자분비형 세균으로 나타났다.

세균이 나타내는 살조력은 식물성 플랑크톤의 군집동태에 영향을 미치는 중요한 요인이며, 연안에서 적조의 급격한 소멸에 관여하는 것으로 사료된다.

감사의 글

본 연구는 한국 과학기술부가 주관한 한·일 국제공동연구 「한국연안에서의 적조발생 예보 및 억제기작 확립에 관한 연구」와 한국과학재단 우수연구센터 연구비 지원에 의해 이루어진 것이며, 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Bratbak, G., W. Wilson and M. Heldal. 1996. Viral control of *Emiliania huxleyi* blooms?. J. Mar. Syst., 9, 75~81.
- Cole, J.J. 1982. Interaction between bacteria and algae in aquatic ecosystems. Ann. Rev. Ecol. Syst., 13, 291~314.
- Daft, M.J., S.B. McCord and W.D.P. Stewart. 1975. Ecological studies on algal-lysing bacteria in fresh waters. Freshwat. Biol., 5, 577~596.
- Fukami, K., A. Yuzawa, T. Nishijima and Y. Hata. 1992. Isolation and properties of a bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasakiense*. Nippon Suisan Gakkaishi, 58, 1073~1077.
- Hallegraeff, G.M. 1993. A review of harmful algal blooms and their apparent global increase. Phycologia, 32, 79~99.
- Hiroshima, K. 1989. Red tides. In *Biology, Environmental Science, and Toxicology*. Elsevier, New York, pp. 317~320.
- Imai, I., Y. Ishida, S. Sawayama and Y. Hata. 1991. Isolation of a marine gliding bacterium that kills *Chattonella antiqua* (Raphidophyceae). Nippon Suisan Gakkaishi, 57, 1409.
- Imai, I., Y. Ishida and Y. Hata. 1993. Killing of marine phytoplankton by a gliding bacterium *Cytophaga* sp., isolated from the coastal sea of Japan. Mar. Biol., 116, 527~532.
- Imai, I., Y. Ishida, K. Sakaguchi and Y. Hata. 1995. Algicidal marine bacteria isolated from northern Hiroshima Bay, Japan. Fish. Sci., 61, 624~632.
- Imai, I., M.C. Kim, K. Nagasaki, S. Itakura and Y. Ishida. 1998. Detection and enumeration of killer microorganisms against harmful phytoplankton in the coastal sea. Plankton Biol. Ecol., 45 (1), 15~25.
- Ishida, Y., M. Eguchi and H. Kadota. 1986. Existence of obligatorily oligotrophic bacteria population in the south China Sea and West Pacific Ocean. Mar. Ecol. Prog. Ser., 30, 197~203.
- Ishida, Y., I. Yoshinaga, M.C. Kim and A. Uchida. 1997. Possibility of bacterial control of harmful algal blooms. In *Progress in Microbial Ecology*, pp. 495~500.
- Ishio, O., R.E. Mangindaan, M. Kuwahara and H. Nakagawa. 1989. A bacterium-hostile to flagellates: identification of species and characters. In *Red Tides: Biology, Environmental Science, and Toxicology*, T. Okaichi, D.M. Anderson and T. Nemoto, eds. Elsevier, New York, pp. 205~208.
- Kim, M.C., I. Yoshinaga, I. Imai, K. Nagasaki, S. Itakura, A. Uchida and Y. Ishida. 1998. A close relationship between algicidal bacteria and termination of *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) blooms in Hiroshima Bay, Japan. Mar. Ecol. Prog. Ser., 170, 25~32.
- Koch, A.L. 1994. Growth measurement. In *Methods for general and molecular biotechnology*. Am. Soc. Microbiol., Washington, pp. 248~277.

- Mague, T.H., E. Friberg, D.J. Hughes, I. Morris. 1980. Extracellular release of carbon by marine phytoplankton: A physiological approach. *Limnol. Oceanogr.*, 25, 262~279.
- Mitsutani, A., K. Takesue, M. Kirita and Y. Ishida. 1992. Lysis of *Skeletonema costatum* by *Cytopaga* sp. isolated from the coastal water of the Ariake Sea. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58, 2158~2167.
- Nagasaki, K., K. Tarutani and M. Yamaguchi. 1999. Growth characteristics of *Heterosigma akashiwo* virus and its possible use as a microbiological agent for red tide control. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65 (3), 898~902.
- Park, Y.T., J.B. Park, S.Y. Chung, B.C. Song, W.A. Lim, C.H. Kim and W.J. Lee. 1998. Isolation of marine bacteria killing red tide microalgae. I. Isolation and algicidal properties of *Micrococcus* sp. LG-1 possessing killing activity for harmful dinoflagellate, *Cohlodinium polikrikoides*. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 31 (5), 767~773 (in Korean).
- Porter, K.G. and Y.S. Feig. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.*, 25, 943~948.
- Riquelme, C.E., K. Fukami and Y. Ishida. 1987. Annual fluctuation of phytoplankton and bacterial communities in Maizuru Bay and their interrelationship. *Nihon Biseibutsu Seitai Gakkaishi*, 2 (1), 29~37.
- Safferman, R.S. and M.E. Morris. 1963. Algal virus isolation. *Science*, 140, 678~680.
- Sakata, T., Y. Fujita and H. Yasumoto. 1991. Plaque formation by algicidal *Saprospira* sp. a lawn of *Chaetoceros ceratosporum*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56, 1147~1152.
- Stewart, J.R. and R.M. Brown. 1971. Algicidal non-fruiting myxobacteria with high G+C ratio. *Arch. Mikrobiol.*, 80, 176~190.
- Strickland, J.D.H. and T.R. Parsons. 1972. A practical handbook of sea water analysis (2nd edn.). *Bull. Fish. Res. Board Canada*, 167, pp. 130.
- Yoshinaga, I., T. Kawai and Y. Ishida. 1995. Lysis of *Gymnodinium nagasakiense* by marine bacteria. In *Harmful Marine Algal Blooms*, Lavoisier, P. Lassus, G. Arzul, E. E. Denn, P. Gentien and C. M. Baut, ed. Paris, pp. 687~692.
- Yoshinaga, I., M.C. Kim, N. Katanozaka, I. Imai, A. Uchida and Y. Ishida. 1998. Population structure of algicidal marine bacteria targeting *Heterosigma akashiwo* (Raphidophyceae) through restriction fragment length polymorphism analysis of the bacterial 16S ribosomal RNA genes, during H. akashiwo red tide. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 170, 33~44.
- 石田祐三郎. 1994. 赤潮藻の微生物學的防除に関する現状と対策. 赤潮と微生物-環境にやさしい微生物農薬を求めて (石田祐三郎, 菅原 庸編), 恒星社厚生閣, 東京, pp. 9~22.
- 菅原 庸, 西村昭史, 石村美佐・土橋靖史. 1994. 五ヶ所湾における赤潮発生と細菌相及び環境要因との関係-V. 平成5年度赤潮対策技術開発試験報告書 [マリンバイオテクノロジーによる赤潮被害防止技術開発試験], pp. 78~95.
- 長崎慶三, 今井一郎. 1994. 海産微細鞭毛藻類の固相培養. *日本微生物生態學會報*, 9, 37~43.
- 深見公雄, 西島敏隆. 1994. 赤潮プランクトンの種の選擇的増殖および優占種の遷移現象におけるバクテリアの關係試験. 平成5年度赤潮対策技術開発試験報告書 [マリンバイオテクノロジーによる赤潮被害防止技術開発試験], pp. 61~69.
- 深見公雄. 1995. 微細藻と細菌類の共生と拮抗. 微生物の共生系 (清水潮編). 學會出版センター, 東京, pp. 1~16.
- 本城凡夫, 下瀧瀬 忠, 上田直子, 花岡 資. 1978. 赤潮発生期における植物プランクトン組成の推移とその特徴. *日本プランクトン學會報*, 25, 13~19.
- 満谷 淳. 1994. 有明海における細菌相調査およびBioassay試験による赤潮關與細菌の檢索. 平成5年度赤潮対策技術開発試験報告書 [マリンバイオテクノロジーによる赤潮被害防止技術開発試験], pp. 9~19.
- 山本鎔子. 1978. 寒天重層法による湖沼中ラン藻溶解性生物因子の測定. *陸水學雜誌*, 39, 9~14.

1999년 3월 31일 접수

1999년 5월 15일 수리