J. Korean Fish. Soc. 32(2), 160~164, 1999 한수지, 32(2), 160~164, 1999

Alteromonas sp. SR-14에 의한 규조 *Chaetoceros calcitrans* 증식저해

김지회 · 박희연 · 조용철 · 조묘헌* · 장동석**
국립수산진흥원, *마산대학 간호학과, **부경대학교 식품공학과

Growth Inhibition of the Diatom, *Chaetoceros calcitrans* by *Alteromonas* sp. SR-14

Ji Hoe KIM, Hi Yun PARK, Yong Chul CHO, Myo Heon CHO* and Dong Suck CHANG**
National Fisheries Research and Development Institute, Pusan 619-900, Korea
**Nursing Department, Masan College, Kyongnam 630-729, Korea*
***Department of Food Science and Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea*

Algicidal activities of *Alteromonas* sp. SR-14 against *Chaetoceros calcitrans* were investigated at various culture conditions. The algicidal activity by *Alteromonas* sp. SR-14 was dependent on temperature. In mixed culture of *C. calcitrans* and *Alteromonas* sp. SR-14 at various temperatures, the algicidal activity of *Alteromonas* sp. SR-14 was the highest at 20℃, but not showed algicidal activity above 25℃. With the inoculation of 10^4 cells/mℓ of *C. calcitrans*, the diatom could not grow at the microalgal culture condition until 15 days by the simultaneous inoculation of less than 10 cells/mℓ of *Alteromonas* sp. SR-14.

***Alteromonas* sp. SR-14 showed the strongest algicidal activity against logarithmic phase cells of *C. calcitrans*. During the mixed culture of *C. calcitrans* and *Alteromonas* sp. SR-14, supplementation of Conwy medium nutrients, changes of light intensity with 1,300~4,600 lux and agitation with 200 rpm did not affect the algicidal activity.**

Key words: *Alteromonas* sp., algicidal activities, diatom, *Chaetoceros* sp..

서 론

우리 나라 연안에서는 수 종의 편모조류와 *Chaetoceros* spp. 및 *Skeletonema costatum* 등의 규조류에 의한 적조가 자주 발생하고 있다(김 등, 1997). 이 중 규조류는 통상 무독 적조생물로 알려져 있으나 *Chaetoceros* sp.의 특정한 종은 적조를 형성할 경우 연어 등의 어류에 직접적으로 피해를 끼치기도 하며 수중의 용존 산소를 감소시켜 수산자원에 영향을 미치기도 한다(Rensel, 1993; Tester and Mahoney, 1995). 또 김 양식장에서 규조류 적조가 발생할 경우에는 두 생물간의 용존 유기 영양염 경쟁으로 그 생산에 피해를 주는 것으로도 보고되고 있다(Uno and Sasaki, 1989). 그래서 편모조류 뿐만 아니라 규조류 적조도 수산업에서 중요한 문제의 하나라고 생각된다.

지금까지 적조 방제를 위하여 여러 가지 물리 · 화학적 처리방법이 연구되어 왔다(代田, 1980; 澤田 · 新田, 1980). 그러나 이러한 처리방법은 대부분 비용이 많이 들고 또한 2차적인 문제를 야기할 우려도 있어 최근에는 생물학적인 처리의 하나로 미생물을 이용한 미세조류 증식저해에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(Fukami et al., 1992; Imai et al., 1993; Mitsutani et al., 1992; Yoshinaga et al., 1995)

본 연구는 세균을 이용하여 규조류, *Chaetoceros* sp. 적조 방제를 위한 기초자료를 얻기 위하여 우리 나라 연안에서 분리한 *Alteromonas* sp. SR-14가 여러 가지 조건 하에서 *Chaetoceros calcitrans*의 증식에 미치는 영향을 시험하였다.

재료 및 방법

1. 시험 미세조류 및 균주

실험에 사용한 규조, *Chaetoceros calcitrans* CCMP 1315와 세균, *Alteromonas* sp. SR-14는 전보(Kim et al., 1998)에서와 같이 처리 또는 분리한 것을 사용하였다.

2. 미세조류의 배양

*C. calcitrans*는 Conwy 배지(Walne, 1979)에서 온도 21 ± 1℃, 조도 약 4,000 lux, 광주기 12 Light : 12 Dark로 정치배양하였으며, 조류와 세균과의 혼합 배양에서도 특별한 언급이 없으면 이 조건을 사용하였다.

3. 배양조건에 따른 *Alteromonas* sp. SR-14의 *C. calcitrans* 증식 저해활성 측정

*C. calcitrans*에 대한 *Alteromonas* sp. SR-14의 증식 저해활성은 혼합 배양법으로 측정하였다. 즉, 대수기로 배양한 *C. calcitrans*를 Conwy 배지에 일정량 접종한 후, peptone broth (peptone, 0.5 g; yeast extract, 0.05 g; 해수, 900 mℓ; 증류수 100 mℓ)에서 3일간 배양한 균액을 약 10^4 CFU/mℓ 되도록 조류 현탁액에 접종하고 배양 조건별 세균의 조류 증식저해를 측정하였다. 조류의 증식과 사멸은 750 nm에서 흡광도로 측정하였다(Douglas and Bates, 1992).

Alteromonas sp. SR-14의 조류 증식저해에 미치는 온도의 영향은 광조사 온도구배 incubator (EYELA, model MTI-201)를 사용하여 10~30℃에서 배양하였으며, 조도의 영향은 1,300, 2,000, 2,900 및 4,600 lux에서 배양하면서 측정하였다. 진탕의 영향은 교반기로 200 rpm으로 진탕배양하였을 때와 정치배양한 경우를 비교하였으며, 영양염 첨가의 영향은 균 접종시 규정농도의 1.5배가 되도록 Conwy 배지 성분을 보충하여 측정하였다. 접종균수의 영향은 1~10^5 cells/mℓ의 조류 현탁액에 초기균수를 각각 2~2.0×10^4 CFU/mℓ로 접종하고 3개의 시험관에 무균적으로 분주하여 조류 배양조건에서 15일간 배양한 후 조류의 증식여부로 나타내었다.

결과 및 고찰

1. 세균의 조류 증식저해에 미치는 온도의 영향

*C. calcitrans*에 *Alteromonas* sp. SR-14를 접종하고 10~30℃에서 혼합배양하였을 때 배양 온도에 따른 조류 증식 저해활성을 Fig. 1에 나타내었다.

C. calcitrans 현탁액 (OD_{750}=0.017)에 균을 접종하고 배양하였을 때, *Alteromonas* sp. SR-14의 조류 증식 저해활성은 온도에 따른 차이를 나타내었다. 10 및 15℃에서 시험구의 조류는 1일째에 대조구와 비슷한 증식을 나타낸 다음 2일째에 OD_{750}이 0.005 이하로 감소하였으나, 20℃의 경우 1일째부터 0.005 이하로 감소하여 *Alteromonas* sp. SR-14의 조류 증식 저해활성이 강하였다. 그러나 25℃ 이상에서는 대조구와 차이없이 증식하여 균의 저해활성은 나타나지 않았다.

今井 (1994)는 *Cytophaga* sp. J18/M01이 *Chattonella antiqua*를 15~25℃에서 온도에 관계없이 사멸시켰으며, *Ditylum brightwellii*에 대해서도 20℃ 이상에서는 저해활성이 있었으나 15℃ 이하에서는 영향이 없었다고 보고하여 본 실험 결과와는 차이를 나타내었다. 이러한 것은 균 종에 따른 차이로 생각되며, 본 실험에 사용한 *Alteromonas* sp. SR-14는 배양온도에 따라 생리상태가 달라지는 것으로도 추정되었다.

2. 세균의 조류 증식저해에 미치는 조도의 영향

Alteromonas sp. SR-14와 *C. calcitrans*를 1,300~4,600 lux에서 혼합배양하였을 때 조도에 따른 조류 증식 저해활성을 Fig. 2에 나타내었다.

조류 현탁액의 OD_{750}이 0.021인 것을 각 조도하에서 배양하였을 때 대조구의 조류는 조도가 강할수록 잘 증식하였다. 그러나 *Alteromonas* sp. SR-14를 접종하였을 경우 조류의 OD_{750}은 조도 차이에 관계없이 거의 비슷한 경향으로 감소하여 *Alteromonas* sp. SR-14의 조류 증식 저해활성은 조도 1,300~4,600 lux에서 그다지 영향을 받지 않음을 알 수 있었다.

3. 조류의 증식시간에 따른 감수성

조류의 증식시간에 따른 *Alteromonas* sp. SR-14에 대한 감수성은 조류 증식의 유도기, 대수기 및 정지기에 약 10^4 CFU/㎖의 균을 접종하고 배양하였을 때의 영향을 Fig. 3에 나타내었다.

각 증식기별 균 접종구에서 조류는 유도기의 경우 접종 5일 후까지 전혀 증식하지 못하였으며, 대수기에는 균 접종시 조류의 OD_{750}이 0.071에서 1일째에 0.026으로 급격히 감소하였고 그 후 점차 감소하는 경향을 나타내었다. 정지기의 경우 OD_{750}이 0.143에서 1일째에 0.134로 약간 감소한 다음 2일째에 0.064로 급격히 감소하였다. 따라서 대수기의 *C. calcitrans*가 *Alteromonas* sp. SR-14에 대하여 다소 민감한 것을 알 수 있었다. Cole (1982)은

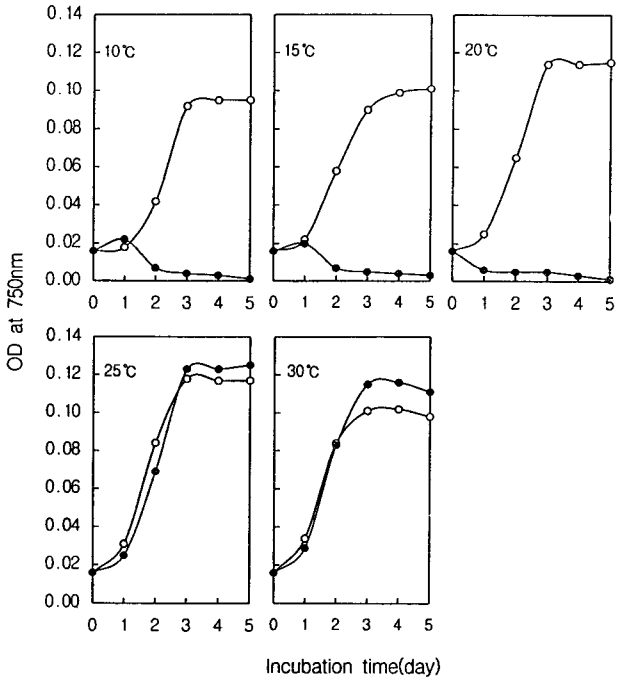

Fig. 1. Effects of *Alteromonas* sp. SR-14 on the growth of *Chaetoceros calcitrans* by the temperature.
– ○ –, control (*C. calcitrans* only); – ● –, algal growth in the mixed culture with bacteria.

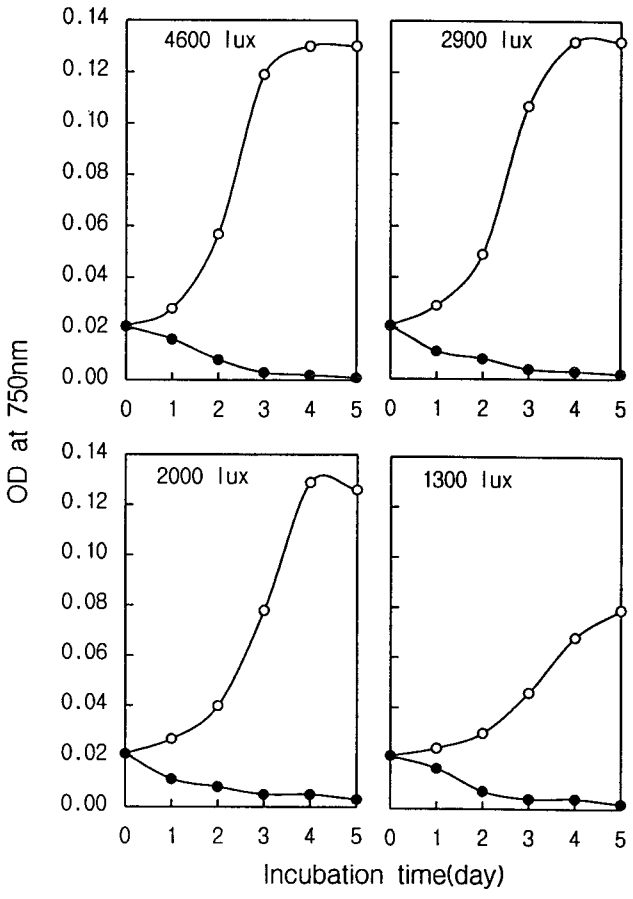

Fig. 2. Effects of *Alteromonas* sp. SR-14 on the growth of *Chaetoceros calcitrans* by the light intensity.
– ○ –, control (*C. calcitrans* only); – ● –, algal growth in the mixed culture with bacteria.

조류가 활발히 증식하고 있을 때 세포벽이 연약하게 되므로 세균 등에 대한 감수성이 강하다고 하였으며, 深見 · 西島 (1994)도 *Gimnodinium mikimotoi*에 대한 *Flavobacterium* sp. 5N-3의 조류 증식기별 영향에서 비슷한 경향의 결과를 보고한 바 있다.

4. 접종균수에 따른 조류 증식저해

초기 조류농도를 1~10^5 cells/㎖로 조정한 조류 현탁액에 *Alteromonas* sp. SR-14를 2.0~2.0×10^4 CFU/㎖ 접종하고 15일간 배양하였을 때 조류농도별 접종균수에 따른 증식저해 결과를 Table 1에 나타내었다.

조류농도가 10^5 cells/㎖인 현탁액에 *Alteromonas* sp. SR-14를 2.0×10^1 CFU/㎖ 접종하였을 때 조류는 증식하지 못하였고, 또 동일농도의 조류 현탁액에 2 CFU/㎖로 균을 접종하였을 때에도 3개의 시험관중 1개에서만 조류가 증식하였다. 그러나 그 이하의 조류농도에서는 균을 2 CFU/㎖로 접종하여도 15일 배양 후 조류의 증식은 육안으로 확인되지 않았다. 따라서 *Alteromonas* sp. SR-14는 10^4 cells/㎖의 조류 현탁액에 ㎖당 10 cell 이하로 접종하여도 *C. calcitrans*의 증식을 저해함을 알 수 있었다. 한편, 시험결과를 나타내지 않았지만 조류와 *Alteromonas* sp. SR-14의 혼합 배양액에서 조류는 생균수가 10^6 CFU/㎖ 이상 달하였을 때 사멸하여

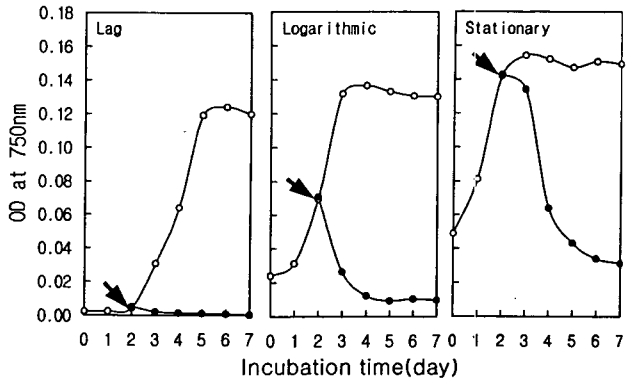

Fig. 3. Effects of *Alteromonas* sp. SR-14 on the growth of *Chaetoceros calcitrans* by the added time of bacteria.
Arrow means added time of bacteria.
− ○ −, control (*C. calcitrans* only); − ● −, algal growth in the mixed culture with bacteria.

Table 1. Relationship between initial density of *Chaetoceros calcitrans* and inoculated cell number of *Alteromonas* sp. SR-14 for alga growth inhibition

Alga inoculation density (cells/㎖)	Inoculated bacterial cell number (CFU/㎖)					
	2.0×10^4	2.0×10^3	2.0×10^2	2.0×10^1	2.0×10^0	Control
100,000	− − −	− − −	− − −	− − −	+ − −	+ + +
10,000	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −	+ + +
1,000	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −	+ + +
100	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −	+ + +
10	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −	+ + +
1	− − −	− − −	− − −	− − −	− − −	+ + −

Inhibition patterns were checked after mixed culture for 15 days.
−; no growth, +; growth.

Yoshinaga et al. (1995)이 *G. mikimotoi* 배양액에 *Flavobacterium* sp. E401을 1~10 cells/㎖로 접종하였을 때 균은 조류 배양액에서 10^6 cells/㎖ 이상으로 증식하여 조류를 사멸시켰다는 보고와도 일치하였다.

5. 세균의 조류 증식저해에 미치는 영양염 첨가의 영향

Alteromonas sp. SR-14에 감수성이 비교적 강하였던 대수기의 조류 배양액에 균을 접종한 경우와, 균 접종시 규정농도의 1.5배가 되도록 Conwy 배지 성분을 보충한 경우의 배양기간에 따른 조류 증식 저해를 Fig. 4에 나타내었다.

Alteromonas sp. SR-14를 접종한 시험구 *C. calcitrans*의 OD_{750}은 균 접종시 0.049에서 1일 후 Conwy 배지 성분을 보충하지 않은 시험구는 0.019로, 첨가한 시험구는 0.022로 각각 감소하여 Conwy 배지 성분의 첨가에 관계없이 조류는 비슷한 경향으로 사멸하였다. 따라서 *Alteromonas* sp. SR-14에 의한 *C. calcitrans* 증식저해는 영양의 경합 때문이 아닌 것으로 사료되었으며, Mitsutani et al. (1992)도 *Cytophaga* sp.의 *S. costatum*에 대한 증식 저해활성이 영양염의 첨가로 영향을 받지 않았다고 보고하여 본 실험결과와 유사한 경향이었다.

6. 세균의 조류 증식저해에 미치는 진탕의 영향

C. calcitrans 배양액에 *Alteromonas* sp. SR-14를 접종하고 200 rpm으로 진탕하였을 때와 정치배양하였을 때 각각의 시험구와 대조구의 OD_{750} 변화를 Fig. 5에 나타내었다. 정치 또는 진탕조건에서 4일간 배양 후 대조구의 OD_{750}은 진탕 배양한 것이 0.171, 정치 배양한 것은 0.151로 진탕 배양한 것이 다소 빨리 증식

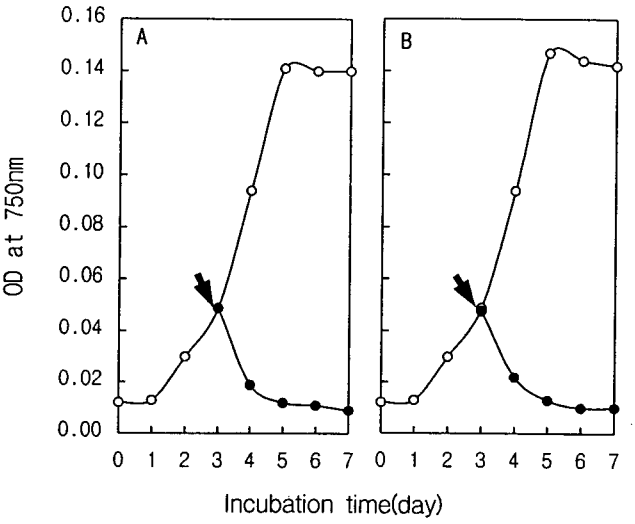

Fig. 4. Effects of supplemented inorganic salts on the growth inhibition of *Chaetoceros calcitrans* by the *Alteromonas* sp. SR-14 in Conwy medium.
A, added *Alteromonas* sp. SR-14 ; B, added *Alteromonas* sp. SR-14 plus inorganic salts. Arrow means added time of bacteria and/or inorganic salts.
− ○ −, control (*C. calcitrans* only); − ● −, algal growth in the mixed culture with bacteria.

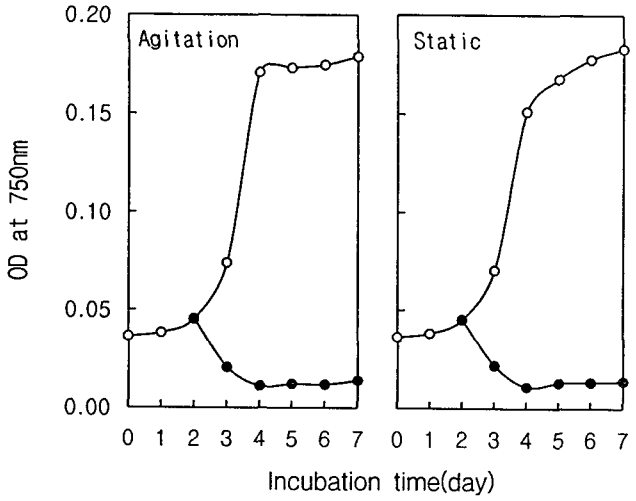

Fig. 5. Effects of *Alteromonas* sp. SR-14 on the growth of *Chaetoceros calcitrans* by the agitation with 200 rpm and static culture.
－○－, control (*C. calcitrans* only); －●－, algal growth in the mixed culture with bacteria.

하였으나 균 접종구의 OD_{750}은 배양 2일 후 공히 0.011로 배양조건에 따라 차이가 없어 진탕에 의한 조류세포의 동요가 세균의 조류증식 저해 활성에 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다.

Cole (1982)은 세균에 의한 조류의 사멸에서 세균이 조체에 부착하여 직접적인 공격으로 조류를 사멸시키는 경우 정치배양시 조류사멸이 잘 일어나므로 진탕은 조류의 사멸을 방지할 수 있을 것으로 보고하였고, 또 Imai et al. (1993)도 운동성이 활발한 조류는 세균의 직접적인 공격을 피하였다고 보고한 바 있다. 그러나 본 실험에서 *Alteromonas* sp. SR-14는 조류를 활발히 움직이게 하여도 조류 증식저해 작용은 영향을 받지 않아 이 균은 직접적인 공격보다는 대사산물을 생성하여 조류의 생육을 저해하는 것으로 추정된다.

요 약

해양 세균을 이용하여 규조류, *Chaetoceros* spp. 적조의 방제기술 개발을 위한 목적의 일환으로 우리 나라 연안에서 분리된 *Alteromonas* sp. SR-14가 여러 가지 조건하에서 *Chaetoceros calcitrans*의 증식에 미치는 영향을 조사하였으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

Alteromonas sp. SR-14를 *C. calcitrans*와 혼합배양하였을 때 조류 증식 저해활성은 20℃에서는 강하였으나 25℃ 이상에서는 활성이 없었다. 그리고 *C. calcitrans*의 초기농도가 약 10^4 cells/㎖이었을 때 *Alteromonas* sp. SR-14를 10 cells/㎖ 이하만 접종하여도 증식을 저해하였다.

Alteromonas sp. SR-14는 대수기의 *C. calcitrans*에 대해서 저해활성이 강하였고, 무기 영양염의 첨가나 1,300~4,600 lux에서 조도변화 및 200 rpm으로의 진탕 등의 배양조건은 세균의 조류 증식 저해활성에 영향을 미치지 않았다.

사 사

본 연구의 일부는 부경대학교 해양산업개발연구소의 지원에 의하여 수행되었음을 밝힙니다.

참 고 문 헌

Cole, J.J. 1982. Interactions between bacteria and algae in aquatic ecosystems. Ann. Rev. Ecol. Syst., 13, 291~314.

Douglas, D.J. and S.S. Bates. 1992. Production of domoic acid, a neurotoxic amino acid, by an axenic culture of the marine diatom *Nitzschia pungens* f. *multiseries* Hasle. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 49, 85~90.

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.

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.

Kim, J.H., J.H. Park, Y.H. Song and D.S. Chang. 1998. Isolation and characterization of the marine bacterium, *Alteromonas* sp. SR-14 inhibiting the growth of diatom, *Chaetoceros* species. J. Kor. Fish. Soc., in press (in Korean).

Mitsutani, A., K. Takesue, M. Kirita and Y. Ishida. 1992. Lysis of *Skeletonema costatum* by *Cytophaga* sp. isolated from the coastal water of the Ariake Sea. Nippon Suisan Gakkaishi, 58, 2159~2169.

Rensel, J.E. 1993. Severe blood hypoxia of atlantic salmon (*Salmo salar*) exposed to the marine diatom *Chaetoceros concavicornis*. in "Toxic Phytoplankton Blooms in the Sea" ed. by T. J. Smayda and Y. Shimizu, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp. 625~630.

Tester, P.A. and B. Mahoney. 1995. Implication of the diatom, *Chaetoceros convolutus*, in the death of red king crabs, *Paralithodes camtschatica*, Captains bay, Unalaska Island, Alaska. in "Harmful Marine Algal Blooms" ed. by P. Lassus, G. Arzul, E. Erard, P. Gentien and C. Marcaillou, Lavoisier Publishing Inc., Paris, pp. 95~100.

Uno, S. and K. Sasaki. 1989. Volumetric consideration of some species of diatoms composing red tide in the Nori culture area in Ariake bay. in "Red Tide : Biology, environmental science and toxicology" ed. by T. Okaichi, D. M. Anderson and T. Nemoto, Elsevier Science Publishing Co., New York, pp. 157~160.

Walne, P.R. 1979. Culture of bivalve molluscs, 50 year's experience at Conwy. The Whitefriars Press Ltd., London, pp. 189.

Yoshinaga, I., T. Kawai and Y. Ishida. 1995. Lysis of *Gymnodinum nagasakiense* by marine bacteria. in "Harmful Marine Algal Blooms" ed. by P. Lassus, G. Arzul, E. Erard, P. Gentien and

C. Marcaillou, Lavoisier Publishing Inc., Paris, pp. 687~692.
今井一郎. 1994. *Cytophaga* 屬細菌などによる赤潮藻殺滅. "赤潮と微生物 - 環境にやさしい微生物農藥を求めて" (石田祐三郎, 菅原 庸 編), 水產學シリーズ No. 99, 恒星社厚生閣 (東京), pp. 67~76.
김학균, 이삼근, 안경호, 윤성화, 이필용, 이창규, 조은섭, 김정배, 최희구, 김평중. 1997. 한국연안의 적조. 國立水產振興院 (부산), pp. 292.
代田昭彦. 1980. 赤潮の驅除. 赤潮-發生機構と對策-(日本水產學會編), 水產學シリーズ No. 34. 恒星社厚生閣 (東京), pp 105~123.
深見公雄, 西島敏隆. 1994. *Gymnodinium* 殺滅細菌の生態. "赤潮と微生物 -環境にやさしい微生物農藥を求めて" (石田祐三郎, 菅原 庸 編), 水產學シリーズ No. 99, 恒星社厚生閣 (東京), pp. 46~56.
澤田保夫, 新田忠雄. 1980. 赤潮の回收・除去. "赤潮に關する近年の問題點" (日本水產資源保護協會編), 水產業叢書 33, 日本水產資源保護協會 (東京), pp. 215~222.

1998년 11월 14일 접수
1999년 2월 20일 수리