J. Fd Hyg. Safety 14(3), 270–276 (1999)

Alteromonas sp. SR-14가 생산하는 조류증식 저해물질의 특성

김지회† · 이희정 · 이태식 · 김형락* · 이명숙** · 장동석***

*국립수산진흥원, *여수대학교 식품영양학과, **부경대학교 미생물학과, ***부경대학교 식품공학과*

Characteristics of the Algal Growth Inhibition Substances Produced by *Alteromonas* sp. SR-14

Ji Hoe Kim† , Hee Jung Lee, Tae Seek Lee, Hyeung Rak Kim*, Myung Suk Lee and Dong Suck Chang*****

National Fisheries Research & Development Institute, Pusan 619-900, Korea

**Dept. of Food Science & Nutrition, Yosu National University, Yosu 550-747, Korea*

***Dept. of Microbiology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea*

****Dept. of Food Science & Technology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea*

ABSTRACT – In previous reports, the authors isolated the algicidal marine bacterium, *Alteromonas* sp. SR-14 and demonstrated its growth inhibition of diatom, *Chaetoceros calcitrans* (*C. calcitrans*). In this paper, we studied the effects of cell free culture filtrate of *Alteromonas* sp. SR-14 on the growth of *C. calcitrans*, and the characteristics of the algal growth inhibition substance. The culture filtrate of *Alteromonas* sp. SR-14 grown in peptone broth showed growth inhibition activity against *C. calcitrans*. The reasonable culture conditions of the bacterium for producing of algal growth inhibition substances were 15~20°C in temperature, 7.0~9.0 in pH and 23~30‰ in salinity, respectively. The algal growth inhibition activity of culture filtrate was increased from stationary phase in growth curve of *Alteromonas* sp. SR-14. The molecular weights of algal growth inhibition substances produced by *Alteromonas* sp. SR-14 were ranged about from 3 KDa to 12 KDa. Among the substances, less than 10 KDa fraction were stable by heating at 100°C for 10 minutes, while more than 10 KDa fraction were heat labile. According to the experimental results, the algal growth inhibition substance produced by the bacterium was not a single compound.

Key word □ *Alteromonas* sp., Algal growth inhibition substance, Diatom, *Chaetceros* sp.

수계 생태계에서 세균은 미세조류의 증식에 가장 큰 영향을 미치는 생물의 하나이며 여러 가지 기작을 통하여 증식을 촉진시키거나 억제시킨다.[1] 세균의 미세조류 증식 저해 수단으로는 직접적 공격과 대사산물에 의한 생육저해 등 2가지 기구가 알려져 있다.[2] 이 중 세균의 대사산물에 의한 미세조류의 증식 저해는 특정한 미세조류 종에 대해서만 활성을 나타내는 경우가 많으므로 host range가 광범위한 직접적인 공격에 의한 저해보다 실제 해양에서 적조방제를 위한 이용면에서는 이점이 있다.[3-5]

세균의 대사산물에 의한 미세조류의 증식저해로 Baker and Herson[6]은 *Pseudomonas* sp.가 생성하는 일종의 단백질이 조류증식 저해물질임을 보고하였고, Fukami et al.[3]은 *Gymnodinium mikimotoi*에 대해서만 특이적인 저해 활성의 대사산물을 생성하는 *Flavobacterium* sp. 5N-3을, 吉永·石田[7]도 *Flavobacterium* sp. E401 균주를 각각 보고하고 있으며 이러한 저해물질은 저분자 물질에서 고분자의 단백질에 이르기까지 다양하다.

전보[8-9]에서 저자들은 규조류 중 *Chaetoceros* spp.에 대해서만 종 특이적으로 저해활성을 나타내는 해양세균 *Alteromonas* sp. SR-14를 분리하여 세균학적 특성과, 세균과 조류를 혼합 배양하면서 배양조건에 따른 세균의 조류증식 저해활성을 보고하였다.

본 연구에서는 *Alteromonas* sp. SR-14의 대사산물이 *Chaetoceros calcitrans*의 증식에 미치는 영향을 살펴보고,

†Author to whom correspondence should be addressed.

저해물질의 내열성과 분자량 등에 대해서도 시험하였다.

재료 및 방법

시험 균주 및 미세조류

실험에 사용한 *Alteromonas* sp. SR-14와 *Chaetoceros calcitrans* CCMP 1315 및 이들의 배양조건은 전보[8]에 나타내었다.

조류 증식 저해물질의 생성조건 검토

Alteromonas sp. SR-14에 의한 조류 증식 저해물질의 생성에 미치는 환경요인의 영향은 배양온도, 배지의 pH, 염분농도 등 배양조건을 달리하여 배양한 후 측정하였다.

온도의 영향은 멸균한 peptone broth[8]에 균을 접종하고 10, 15, 20, 25 및 30℃에서 배양하였고, pH의 영향은 peptone broth의 pH를 6.0에서 11.0까지 pH를 1.0간격으로 조정하고 pore size 0.2 μm의 membrane filter로 여과 제균하여 균을 접종하고 20℃에서 배양하였으며, 염분농도의 영향은 해수를 증류수와 혼합하여 염분농도를 16.63~33.25 ‰(해수농도 50~100%)로 조절하여 peptone broth를 조제하고 균을 접종하여 20℃에서 각각 배양하였다. 각 조건에서 72시간 배양한 균액은 아래와 같이 처리하여 *C. calcitrans* 증식 저해활성을 측정하였다.

세균 배양여액의 *C. calcitrans* 증식 저해활성 측정

Alteromonas sp. SR-14의 대사산물이 *C. calcitrans* 증식에 미치는 영향은 세균 배양여액을 조류 현탁액에 농도별로 첨가하고 조류를 배양하면서 750 nm에서 흡광도로 측정하거나 육안으로 확인하여 나타내었다.

즉, 각 조건별로 배양한 균액은 4℃, 8,000 rpm으로 40분간 원심분리하고 상층액을 pore size 0.2 μm의 membrane filter로 여과한 다음, 멸균된 peptone broth로 1/2 농도씩 희석하였다. 배양여액의 원액 및 각 희석액은 Conwy 배지[10]에 *C. calcitrans*가 약 10^4 cells/m*l*의 농도로 4 m*l*씩 무균적으로 분주한 시험관에 각 희석단별로 1 m*l*씩 3개의 시험관에 첨가하고 조류를 배양하면서 배양 시간에 따른 조류의 증식을 측정하였다.

열 안정성 시험

조류 증식 저해물질의 열 안정성은 20℃, 5일간 배양한 균 배양여액을 멸균된 screw cap 시험관에 10 m*l*씩 무균적으로 분주하고 20, 45, 60, 80 및 100℃의 water bath에서 일정시간 가열처리한 다음 쇄빙에 넣어 급냉한 후 *C. calcitrans*에 대한 증식 저해활성을 측정하였으며, 대조구는 4℃에서 보관한 배양여액을 사용하였다.

조류 증식 저해물질의 투석막 투과시험

시험균이 생산하는 *C. calcitrans* 증식 저해물질의 투석막 투과여부는 Baker and Herson[6]의 방법에 따라 측정하였다. 즉, 조류 배양용 삼각 플라스크는 유리관을 2개 부착한 silicon 마개를 하였는데 이 때 한쪽의 유리관은 screw cap 시험관을 잘라서 사용하였고 다른 한쪽은 긴 유리관에 투석막(Sigma, D-9652)을 부착하였다. 유리관에 부착된 투석막은 80 m*l*의 Conwy 배지에 잠기도록 하여 고압증기 멸균한 다음 투석막 내에는 유리관을 통하여 대조구의 경우 멸균 peptone broth를 5 m*l*, 시험구의 경우 20℃에서 3일간 배양한 균액 2 m*l*와 peptone broth 3 m*l*를 각각 첨가하고 조류는 screw cap을 한 유리관을 통하여 플라스크에 바로 접종한 다음 배양하였다. 배양 5일 후 투석막은 무균적으로 절개하여 두 배양액은 혼합하고 계속 배양하면서 조류 증식 저해활성을 측정하였다.

조류 증식 저해물질의 분자량 측정

시험균이 생산하는 조류 증식 저해물질의 분자량은 20℃, 5일간 배양한 세균 배양여액 3 *l*를 한외여과막 장치(ultrafiltration membrane system)로 분획한 후 측정하였다. Pore size 0.2 μm의 membrane filter로 여과한 세균 배양여액은 molecular weight cut-off가 10KDa(UF-membrane, Hollow fiber, 대림)인 여과막으로 500 m*l* 되도록 6배 농축한 다음, 10KDa 여과막을 통과한 여액은 3KDa(Prep/Scale™-TFF Cartridge, Regenerated cellulose, Millipore)의 여과막으로 다시 500 m*l* 되도록 5배 농축하여 분자량 10KDa 이상, 3KDa 이상 10KDa 이하 및 3KDa 이하의 3가지 획분으로 분획하였다. 분획한 각 획분은 *C. calcitrans* 현탁액에 일정 농도로 첨가하거나 또는 100℃에서 10분간 가열처리한 다음 첨가하고 배양하면서 각 분자량별 조류 증식 저해활성과 내열성을 측정하였다. 이 때 대조구에는 멸균 peptone broth를 첨가하였다.

결과 및 고찰

세균 배양 여액의 조류 증식 저해활성

Alteromonas sp. SR-14 배양 여액이 *C. calcitrans* 증식에 미치는 영향은 peptone broth에서 20℃, 72시간 배양한 균 배양여액을 조류 현탁액에 5 및 10% 첨가하고 배양하면서 OD_{750}을 측정하여 Fig. 1에 나타내었다.

C. calcitrans 현탁액에 세균 배양여액을 5% 첨가하였을 경우 조류는 멸균 peptone broth를 첨가한 대조구와 큰 차

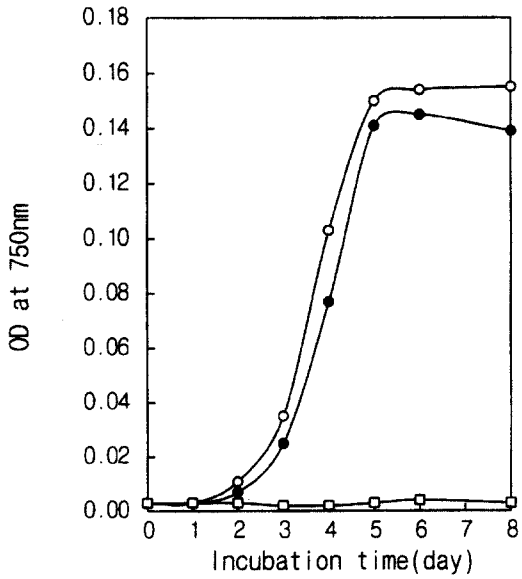


Fig. 1. Effects of *Alteromonas* sp. SR-14 culture filtrate on the growth inhibition against *Chaetoceros calcitrans*. Bacterial culture filtrate was prepared after cultured at 20°C for 3 days in peptone broth. -○- , control ; -●-, 5% culture filtrate ; -□-, 10% culture filtrate.

Table 1. Effects of culture filtrate on the growth inhibition against *Chaetoceros calcitrans* by the incubation temperature of *Alteromonas* sp. SR-14

Incubation temp.(°C)	Growth (OD_{660})	Added filtrate(%)	Inhibition result 6	8	10
10	0.065	20	—	—	—
		10	—	+++	
		5	+++		
15	0.080	20	—	—	—
		10	—	—	+++
		5	+++		
20	0.089	20	—	—	—
		10	—	—	+++
		5	+++		
25	0.095	20	—	—	—
		10	—	+++	
		5	+++		
30	0.102	20	—	++-	+++
		10	+++		
		5	+++		

Culture filtrate were prepared after 72 hours culture at given temperature.
Inhibition results were checked during the incubation period(day).
−, no growth; ±, weak growth; +, well growth.

이없이 증식하였으나, 10% 첨가한 경우에는 배양 8일째에도 조류는 증식하지 않아 *Alteromonas* sp. SR-14의 균체를 제거한 배양여액은 조류의 증식 저해활성을 나타내었다. Fukami et al.[3]은 *Flavobacterium* sp. 5N-3을 peptone broth에서 배양하였을 때 *G. mikimotoi* 증식 저해물질이 생성되었으며, 조류 현탁액에 세균 배양여액을 25% 이상 첨가하였을 경우 조류의 증식이 저해된다고 보고한 바 있다.

한편, Imai et al.[4]은 *Chattonella antiqua*에 대하여 저해활성이 있는 *Alteromonas* sp.을 4 균주 분리하였는데 이 중 두 균주는 대사산물로, 나머지 두 균주는 직접적인 공격으로 조류를 사멸시켰다고 보고하여 동일한 *Alteromonas* sp.에 있어서도 균주에 따라서 조류 증식저해 양상은 차이가 있었다.

조류 증식 저해물질 생성에 미치는 환경요인

1) 배양온도

Alteromonas sp. SR-14의 조류 증식 저해물질 생성에 미치는 온도의 영향은 peptone broth (pH 8.0)에 균을 접종하고 각 온도에서 72시간 배양한 다음 균의 증식과 각 온도별 배양여액의 조류 증식 저해활성을 측정하였다. 조류 농도가 약 10^4 cells/ml인 조류 현탁액에 균 배양여액을 농도별로 첨가하고 배양하면서 배양 6, 8 그리고 10일째에 조류의 증식을 육안으로 확인한 결과를 Table 1에 나타내었다.

각 온도에서 *Alteromonas* sp. SR-14를 배양하였을 때 균은 온도가 높을수록 잘 증식하였다. 그러나 배양 온도별 세균 배양여액의 조류 증식 저해활성은 조류 현탁액에 배양여액을 10% 첨가하였을 때 10°C와 25°C의 경우 8일째에, 15°C 및 20°C의 경우 10일째에 각각 조류의 증식이 확인되었고, 30°C의 균 배양여액은 20%를 첨가하여도 8일째에 3개의 시험관 중 2개에서 조류가 증식하였다. 따라서 배양온도에 따른 배양여액의 조류 증식 저해활성은 15~20°C에서 강하였으며 25°C 이상에서는 균은 잘 증식하였으나 조류 증식 저해활성은 낮아 균의 최적 증식온도와 조류 증식 저해물질 생성 온도는 차이가 있었다.

Kato et al.[11]도 단백분해 활성이 강한 해양성 저온세균 *Pseudomonas* sp. No. 548의 최적 증식온도는 20°C이지만 배양액 중에 생성된 protease는 5°C에서 가장 많고, 온도가 높을수록 감소하여 35°C 이상에서는 효소의 활성이 나타나지 않았다고 보고한 바 있다. 그래서 세균에 의한 대사산물의 최적 생성온도는 균의 최적 증식 조건과 반드시 일치하는 것은 아닌 것으로 사료되었다.

2) pH

Alteromonas sp. SR-14에 의한 조류 증식 저해물질 생

Table 2. Effects of culture filtrate on the growth inhibition against *Chaetoceros calcitrans* by the incubation pH of *Alteromonas* sp. SR-14

pH	Growth (OD_{660})	Added filtrate(%)	Inhibition result 6	8	10
6.0	0.093	20	−−−	−−−	−−−
		10	−−−	−−±	−−+
		5	−−−	+++	
7.0	0.127	20	−−−	−−−	−−−
		10	−−−	−−−	−−+
		5	−−−	−±±	+++
8.0	0.121	20	−−−	−−−	−−−
		10	−−−	−−−	−−−
		5	−−−	−++	−++
9.0	0.139	20	−−−	−−−	−−−
		10	−−−	−−−	−−−
		5	−−−	−−+	−++
10.0	0.122	20	−−−	−−−	−−−
		10	−−−	−++	±++
		5	−−−	−++	+++
11.0	0.040	20	−−−	−−−	−−−
		10	−++	±++	+++
		5	±++	+++	

Culture filtrate were prepared after 72 hours culture at 20°C. Inhibition results were checked during the incubation period(day).
Symbols mean the same as in Table 1.

Table 3. Effects of culture filtrate on the growth inhibition against *Chaetoceros calcitrans* by the culture salinity of *Alteromonas* sp. SR-14

Salinity(‰)	Growth (OD_{660})	Added filtrate(%)	Inhibition result 6	8	10
16.63	0.044	20	−−−	−−−	−−−
		10	−−−	+++	
		5	+++		
19.95	0.104	20	−−−	−−−	−−−
		10	−−−	−−−	+++
		5	+++		
23.28	0.137	20	−−−	−−−	−−−
		10	−−−	−−−	−−−
		5	+++		
26.60	0.150	20	−−−	−−−	−−−
		10	−−−	−−−	−−−
		5	+++		
29.93	0.150	20	−−−	−−−	−−−
		10	−−−	−−−	−−−
		5	±±±	+++	
33.25	0.151	20	−−−	−−−	−−−
		10	−−−	−−−	−±±
		5	+++		

Culture filtrate preparation method and other foot notes are same as in Table 2.

성에 미치는 pH의 영향은 pH 6.0~11.0의 peptone broth에서 균을 배양하였을 때 각 pH 별 균의 증식과 배양여액의 조류 증식 저해활성을 측정하여 Table 2에 나타내었다.

각 pH별 배지에서 *Alteromonas* sp. SR-14는 pH 7.0~10.0에서는 잘 증식하였으며 그 중 pH 9.0에서 특히 잘 증식하였다. 한편, 각 pH별 세균 배양여액의 조류 증식 저해활성은 배양여액을 조류 현탁액에 10% 첨가하였을 때 pH 6.0~9.0에서는 조류의 증식이 배양 10일째까지 억제되어 큰 차이가 없었다. 그러나 pH 10.0과 11.0에서는 각각 8일 및 6일째에 3개의 시험관 중 2개에서 조류의 증식이 확인되어 활성이 다소 낮아지는 경향을 나타내었다.

3) 염분농도

염분농도가 조류 증식 저해물질 생성에 미치는 영향은 해수를 증류수와 혼합하여 염분농도를 16.63~33.25‰로 각각 조절한 peptone broth에서 20°C, 72시간 *Alteromonas* sp. SR-14를 배양한 후 각 염분농도별 균의 증식과 배양여액의 조류 증식 저해활성을 Table 3에 나타내었다.

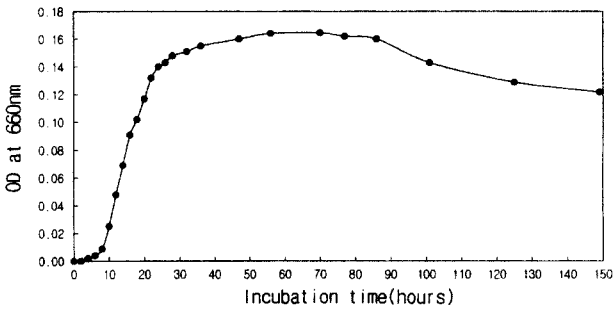
Alteromonas sp. SR-14는 염분농도가 증가할수록 잘 증식하였으며 26.6‰ 이상에서는 비슷한 증식을 나타내었다. 또한 염분농도별 세균 배양여액의 조류 증식 저해활성도 염분농도가 높을수록 강하였다. 각 염분농도별 배양여액을 조류 현탁액에 10% 첨가하였을 때 16.6 및 20.0‰의 배양여액은 각각 8일 및 10일째에 조류의 증식이 확인되었으나, 23.3~29.9‰의 배양여액 첨가구는 10일째까지도 증식이 나타나지 않았으며, 33.3‰의 배양여액은 10일 후에 3개의 시험관중 2개에서 약한 증식을 보였다. 따라서 배양여액의 조류 증식 저해활성은 염분농도가 23~30‰인 배지에서 배양하였을 때 강하였다.

균의 증식에 따른 조류 증식 저해물질의 생성

Alteromonas sp. SR-14를 peptone broth(pH 8.0, 염분농도 30‰)에서 20°C에 배양하였을 때 균의 생육곡선과 균의 증식에 따른 배양여액의 *C. calcitrans* 증식 저해활성을 Fig. 2에 나타내었다.

Alteromonas sp. SR-14는 peptone broth에서 약 8시간의 유도기를 가진 다음 급격히 증식하여 약 30시간 후에 정지기에 달하였고 그 후 거의 비슷한 OD_{660}을 유지하다가 약 90시간 후에는 OD_{660}이 감소하였다.

Alteromonas sp. SR-14의 생육곡선에서 증식기에 따른 배양여액의 조류 증식 저해활성은 정지기 초기인 32시간까



Growth phase (Incubation period, hours in the upside figure)		Added filtrate(%)	Inhibition result*
Lag	(0~ 8)	20	+++
Logarithmic	(10~ 22)	20	+++
Early stationary	(24~ 28)	20	+++
Mid stationary	(32~ 47)	20	−−−
		10	+++
Late stationary	(56~ 86)	10	−−−
		5	+++
Death	(100~150)	5	−−−

Fig. 2. The growth curve of *Alteromonas* sp. SR-14 in peptone broth at 20°C (upper) and results of culture filtrate on the growth inhition against *Chaetoeeros calcitroms* by the growth phase of the bacterial culture (lower).
*** Inhibition results were checked after mixed culture for 6 days. Symbols mean the same as in Table 1.**

지의 배양여액은 조류 현탁액에 20% 첨가하여도 6일째에 조류가 증식하여 저해활성이 거의 없었다. 그러나 정지기 중기의 배양여액은 20% 첨가구에서, 정지기 후기의 배양여액은 10% 첨가구에서, 사멸기의 배양여액은 5% 첨가구에서 각각 6일째까지 조류의 증식이 억제되어 증식기에 따른 조류 증식 저해활성은 정지기부터 증가하는 것으로 생각되었다.

조류 증식저해 물질의 열 안정성

Alteromonas sp. SR-14가 생산하는 조류 증식 저해물질의 열 안정성은 균 배양여액을 20~100°C에서 일정시간 처리한 후 *C. calcitrans* 저해활성을 측정하여 Table 4에 나타내었다.

20°C에서 90분간 방치한 배양여액의 저해활성은 4°C에서 90분간 둔 대조구와 차이가 없었고, 45°C에서 처리한 배양여액도 가열 10분까지는 대조구와 차이가 없어 10%를 조류 현탁액에 첨가하였을 때 10일째까지 조류의 증식이 억제되었으나 90분간 가열처리 시에는 20%를 첨가하여도 8일째에 조류의 증식이 나타나 활성이 저하하였다. 또한 80°C 이상에서는 5분만 가열하여도 20% 첨가시 배양 6일째에 조류가 증식하여 대조구에 비하여 활성이 현저히 감소하였다. 따라서 *Alteromonas* sp. SR-14가 peptone broth에서 생산하는 조류 증식 저해물질은 열에 불안정한 것으로 나타났다.

Table 4. Effects of heated bacterial culture filtrate on the growth inhibition against *Chaetoceros calcitrans*

Heat treatment		Added	Inhibition result		
Temp.(°C)	Time(min.)	filtrate(%)	6	8	10
4	90	10	−−−	−−−	−−−
		5	+++		
20	90	10	−−−	−−−	−−−
		5	+++		
45	10	10	−−−	−−−	−−−
		5	+++		
	30	20	−−−	−−−	−−−
		10	−−−	−−−	+++
		5	+++		
	60	20	−−−	+++	
		10	+++		
	90	20	−−−	+++	
		10	+++		
60	5	20	−−+	−−+	−++
		10	+++		
	15	20	+++		
80	5	20	+++		
100	5	20	+++		

Inhibition results were checked during the incubation period(day).
Symbols mean the same as in Table 1.

조류증식 저해물질의 투석막 투과성

Alteromonas sp. SR-14가 peptone broth에서 생산하는 *C. calcitrans* 증식 저해물질의 분자량을 추정하기 위하여 투석막을 경계로 세균은 투석막 내에서, 조류는 투석막 외에서 각각 독립적으로 증식하도록 제작한 기구를 사용하여 조류와 세균을 배양하였을 때와 조류 배양액에 균을 접종하고 혼합배양 하였을 때의 배양기간에 따른 조류의 OD_{750}을 Fig. 3에 나타내었다.

투석막 내에 균액대신 peptone broth를 첨가한 대조구에서 *C. calcitrans*는 1일 정도의 유도기를 가진 다음 증식하였으며, 투석막 내에 *Alteromonas* sp. SR-14를 접종한 시험구에서는 2일 정도의 유도기를 가진 후 증식하여 대조구보다 증식이 지연되었다. 그리고 배양 5일 후 투석막을 무균적으로 절개하여 혼합하였을 때 대조구는 다시 1일 정도의 유도기를 가진 다음 계속 증식하였으나 시험구에서 OD_{750}은 급격히 감소하였다. 그러나 *Alteromonas* sp. SR-14를 직접 조류 배양액에 접종한 경우 조류는 시종 증식하지 않았다. 따라서 *Alteromonas* sp. SR-14가 생산하는 조류 증식 저해물질의 분자량은 투석막을 투과할 수 있는 12KDa 이하로 추정되었다.

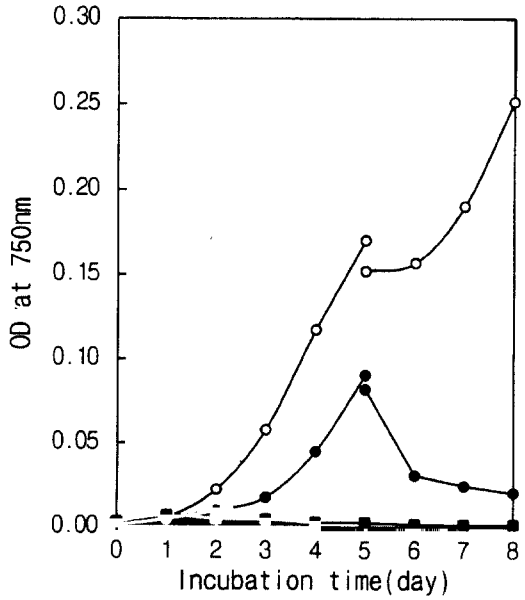


Fig. 3. Comparison of growth inhibitory effects of *Alteromonas* sp. SR-14 against *Chaetoceros calcitrans* by mixed culture or separate culture in dialysis experiment. *After 5 days incubation, the peptone broth or bacterial culture were mixed with *C. calcitrans* by broke the dialysis bag. -○-, control(only peptone broth was contained in dialysis bag) ; -●-, separate culture(bacteria were contained in dialysis bag) ; -■- , mixed culture(the bacteria plus the alga).

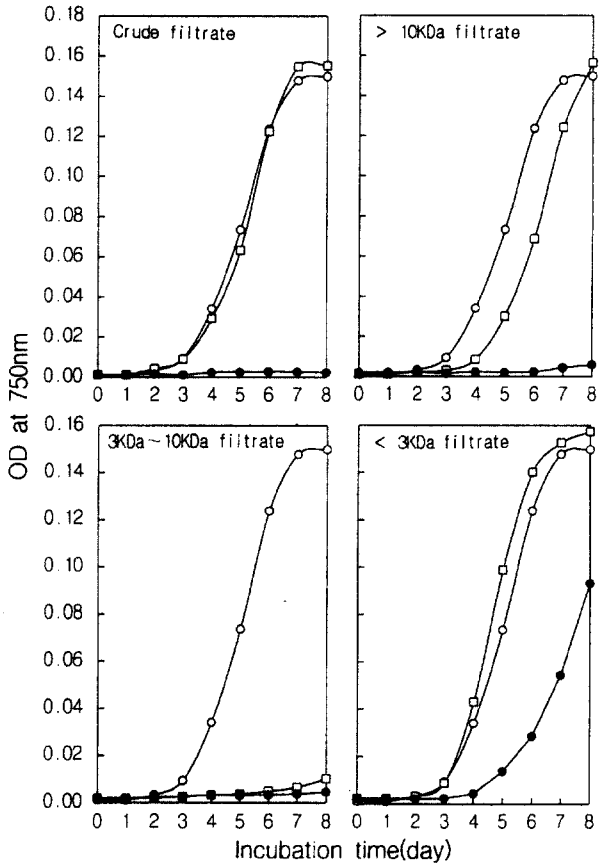


Fig. 4. Comparison of growth inhibitory effects of culture filtrate by molecular weight and heat treatment against *Chaetoceros calcitrans*.
Bacterial culture filtrate was prepared after cultured at 20°C for 5 days in peptone broth. -○-, control(20% peptone broth) ; -●-, 20% culture filtrate ; -□-, 20% culture filtrate heated at 100°C for 10 minutes.

분자량 획분별 조류 증식저해 활성 및 열 안정성

Alteromonas sp. SR-14를 peptone broth에서 순수배양하였을 때 생성되는 *C. calcitrans* 증식 저해물질의 분자량을 알아보기 위하여 배양여액을 한외여과막 장치로 분자량 10KDa 이상, 10KDa 이하에서 3KDa 이상 그리고 3KDa 이하의 3가지 획분으로 각각 분획하고, 각 획분을 100°C에서 10분간 열 처리한 것과 열 처리하지 않은 것을 조류 현탁액에 20% 첨가하여 배양기간에 따른 조류의 OD_{750}을 Fig. 4에 나타내었다.

Pore size 0.2 μm의 membrane filter로 여과한 배양여액의 경우 가열처리하지 않은 것은 20% 첨가시 8일 후까지 조류의 증식이 저지되었으나 가열처리한 배양여액을 첨가하였을 때는 대조구와 같이 3일째부터 증식하기 시작하여 7일 후에 정지기에 도달하였다. 10KDa 이상의 획분에서는 배양여액과 거의 비슷한 경향을 나타내어 가열처리하지 않은 획분 첨가구에서는 조류의 증식이 저지되었으나 가열처리 획분의 첨가구에서는 대조구에 비하여 1일 정도 증식이 지연되었다. 그러나 3KDa~10KDa의 획분 첨가구에서는 가열처리하지 않은 것과 가열처리한 것에서 모두 8일 후까지 거의 증식이 나타나지 않아 이 획분은 내열성을 가지는 것으로 판단되었다. 한편, 3KDa 이하의 획분 첨가구에서는 가열처리 획분 첨가구가 대조구보다 증식이 빨랐으며, 가열처리하지 않은 획분 첨가구에서는 대조구에 비하여 조류의 증식이 다소 지연되었으나 완전 저지되지는 않았다.

이상의 결과에서 peptone broth에서 *Alteromonas* sp. SR-14가 생산하는 조류 증식 저해물질은 3KDa~10KDa의 내열성의 성분과 10KDa~12KDa의 이열성의 성분이 복합적으로 구성되어 있는 것을 알 수 있었다.

세균이 생산하는 조류 증식저해 물질의 분자량으로 吉永·石田[7]은 *Flavobacterium* sp. E401이 생산하는 조류 증식 저해물질의 활성은 10KDa 이상의 획분에서 검출되었고, 이 활성은 80°C, 10분간의 처리로 실활되었다고 보고하였다. 深見·西島[12]는 peptone broth에서 *Flavobacterium* sp. 5N-3이 생성하는 조류 증식 저해물질의 분자량은 109로 추

정되었으나 아주 불안정하여 화학적 동정에는 이르지 못하였다고 보고하여 세균이 생산하는 미세조류 증식 저해물질의 분자량은 균 종에 따라 저분자에서 고분자 물질에 이르기까지 다양하였다.

국문요약

Alteromonas sp. SR-14의 배양여액을 사용하여 *C. calcitrans*의 증식에 미치는 영향과 조류 증식저해 물질의 특성을 살펴 보았다. *Alteromonas* sp. SR-14의 peptone broth 배양여액은 *C. calcitrans*에 대하여 증식 저해활성을 나타내었으며, 이 균에 의한 조류 증식 저해물질은 온도 15~20°C, pH 7.0~9.0, 염분농도 23~30‰의 배양조건에서 강한 활성으로 생성되었으며, 이러한 조건(온도 20°C, pH 8.0, 염분농도 30‰)에서는 정지기부터 활성이 증가하였다. *Alteromonas* sp. SR-14가 peptone broth에서 생산하는 조류 증식 저해물질의 분자량은 약 3KDa~12KDa의 복합물질이었는데, 100°C에서 10분간 열처리하였을 때 3~10KDa 이하의 물질은 내열성이 있었으나 10KDa 이상의 물질은 불활성화되었다.

참고문헌

1. 清水潮: 海洋微生物とバイオテクノロジー. 技報堂出版(東京), pp. 256-280 (1991).
2. 今井一郎: Cytophage 屬細菌などによる赤潮藻殺滅. In "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 (1994).
3. Fukami, K., Yuzawa, A., Nishijima, T. and Hata, Y.: Isolation and properties of a bacterium inhibiting the growth of *Gymnodinium nagasakiense*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **58**, 1073-1077 (1992).
4. Imai, I., Ishida, Y., Sakaguchi, K. and Hata, Y.: Algicidal marine bacteria isolated from northern Hiroshima bay, Japan. *Fisheries Sci.*, **61**, 628-636 (1995).
5. Yoshinaga, I., Kawai, T. and Ishida, Y.: Analysis of algicidal ranges of the bacteria killing the marine dinoflagellate *Gymnodinium mikimotoi* isolated from Tanabe Bay, Wakayama Pref., Japan. *Fisheries Sci.*, **63**, 94-98 (1997).
6. Baker, K. H. and Herson, D. S.: Interactions between the diatom *Thalassiosira pseudonanna* and an associated Pseudomonad in a mariculture system. *Appl. Environ. Microbiol.*, **35**, 791-796 (1978).
7. 吉永郁生, 石田祐三郎: 田邊灣から分離した有害赤潮藻 *Gymnodinium mikimotoi*殺滅細菌E401株の分類學的性狀およびその殺滅機作. 環境科學總合研究所年報, **14**, 47-58 (1995).
8. 김지회, 박정흠, 송영환, 장동석: 규조류 *Chaetoceros* sp. 증식 저해균 *Alteromonas* sp. SR-14의 분리 및 특성. 한국수산학회지, **32**, 155-159 (1999).
9. 김지회, 박희연, 조용철, 조묘헌, 장동석: *Alteromonas* sp. SR-14에 의한 규조 *Chaetoceros calcitrans* 증식저해. 한국수산학회지, **32**, 160-164 (1999).
10. Walne, P.R.: Culture of bivalve molluscs, 50 year's experience at Conwy. The Whitefriars Press Ltd., London, pp. 189 (1979).
11. Kato, N., Nagasawa, T., Tani, Y. and Ogata, K.: Protease formation by a marine psychrophilic bacterium. *Agri. Biol. Chem.*, **36**, 1177-1184 (1972).
12. 深見公雄, 西島敏隆: Gymnodinium 殺滅細菌の生態. In "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 (1994).