

Isolation and Identification of a Purple, Non-Sulfur Bacterium from Korea Coast

차미선, 김기한, 손형식, 이나은, 이정은, 조순자, 이상준

부산대학교 자연과학대학 미생물학과
전화 (051) 510-2193, FAX (051)514-1778

Abstract

A species of facultative photo-organotrophic, purple, non-sulfur bacterium was isolated from the west coast and the south coast 47 area of Korea at 2001 September. Separated 13 samples of changes with red color under 28~32 °C, 3000 lux, anaerobe conditions for 7 days cultivated in Basal medium. For a pure isolation from 13 samples it used agar-shake tube method (0.4 % agar) and it separated 5 strains through 13-repetition test. The RAPD(Random Amplified Polymorphic DNA)-PCR result of strains (EGH-9, EGH-13, EGH-23, EGH-24, EGH-30) that EGH-24 and EGH-30 was same strain. For wastewater biodegradation test that 4 isolation strains cultivated in synthesis wastewater in 7 days. EGH-24 was high 63000 mg/L (CODcr) to 43400 mg/L (CODcr). EGH-24 was selected with efficient waste water treated strain. Based on the results obtained from morphology, nutrient requirements, major bacteriochlorophyll content, 16S-rDNA phylogenetic analysis, this strain may be identified as a new strain of the genus *Rhodobacter* and named *Rhodobacter* sp. EGH-24.

서 론

Purple, non-sulfur bacteria는 다방면에서의 이용성이 타진될 수 있는데 먼저 이들이 생산하는 수소 gas를 이용한 무공해성 대체에너지의 개발을 들 수 있으며, 어류나 가축의 사료 및 비료로서의 사용가능 등은 이미 일부 연구자에 의해 그 성과가 보고된 바 있다. 또한 무엇보다도 purple, non-sulfur bacteria는 유기물을 많이 함유하고, 오탁이 진행되고 있는 고인 물에서 저급지방산류에서 고급지방산까지 자화를 잘하는 세균이다. 고농도의 폐수 및 유해물질의 처리가 가능하고 운전관리가 용이하다는 장점이 있으며, 생활하수에 비해 10 내지 20배정도 높은 고농도 유기물을 함유하고 있는 축산폐수의 처리에 탁월한 효과가 있으며, 이에 대한 특이적인 악취제거 기능까지 있

다. 그리고 purple, non-sulfur bacteria는 광조건하에서 폐기질을 이용하여 PHB를 생산함으로써 낮은 생산단가로 환경친화성 물질의 생산을 유도할 수 있다는 장점이 있다. 이러한 특성을 가진 purple, non-sulfur bacteria는 지금까지 대부분이 육수생태계를 중심으로 연구가 이루어져 왔다. 따라서 본 연구에서는 현재까지 대부분의 연구가 육수생태계를 중심으로 이루어진 purple, non-sulfur bacteria에 대해 삼면이 바다인 우리나라의 특성에 맞춰 해양으로부터 purple, non-sulfur bacteria를 분리하고, 폐수처리를 비롯하여 환경친화성 PHB의 생산을 유도함으로써 환경자원의 실제적인 응용가능성에 대해 연구하고자 한다.

재료 및 방법

광합성 균주의 분리

광합성세균을 분리하기 위해서 서해안과 남해안의 47개 지역의 해안에서 mud와 해수를 채취하여 본 실험의 시료로 이용하였다.

RAPD-PCR을 이용한 균주 검색

순수분리한 균주들로부터 genomic DNA를 분리하고, 이것을 주형으로 하여 RAPD-PCR을 실시하였다.

공시균주의 분류 및 동정

공시균으로 선정된 균주의 동정을 위하여 16S rDNA 유전자 분석을 실시하였다. 또한 공시균주로 선정된 균의 분류학적 위치를 검토하기 위하여 형태학적, 배양적, 생화학적 제반 특성을 검토하여 "Bergey's manual of systematic bacteriology"와 "Handbook of microbiology 제2판"을 참고로 하여 분류, 동정하였다.

PHB 생산성 검토

공시균의 PHB(poly- β -hydroxybutyric acid)의 생산성의 확인은 GC(gas chromatography)를 이용하였다.

결과 및 고찰

한국 남해안과 서해안의 47 지역에서 해수와 mud시료를 채취하여 Agar-shake tube method로 반복 배양하여 5종의 균주들을 순수분리 하였고, 이들 5종의 순수분리 된 균주들(EGH-9, 13, 23, 24, 30)을 대상으로 RAPD-PCR을 한 결과, 최종적으로 한국해안에서 순수분리된 광합성세균은 총 4종으로 확인되었다. 이 중 폐수처리능 이 우수한 EGH-24 균주를 공시균으로 선정하고, 형태학적, 배양적, 생화학적인 특성과 16S rRNA sequencing 결과를 종합하여 "Bergey's manual of systematic bacteriology[2]"와

“Handbook of microbiology 제2판[38,39]”을 비교하여 본 결과, 16S rRNA의 분석은 Proteobacteria의 γ subclass에 해당하는 *Marichromatium purpuratum* 와 가장 가깝게 나타났고, purple, non-sulfur bacteria 중에는 β subclass에 해당하는 *Rhodocyclus*속(대부분의 purple, non-sulfur bacteria는 α subclass에 해당)과 가깝게 나타났다. 하지만 Bergey's manual 상의 형태학적, 배양적, 생화학적 부분에서 *Marichromatium* 속과 다르고 *Rhodobacter* 속과 가장 유사한 결과를 가져왔다.

결론적으로 본 실험에서 공시균주로 선정된 균은 *Rhodobacter* 속으로 동정되었다. 또한 공시균주인 *Rhodobacter* sp. EGH-24의 전자현미경사진 관찰에서 PHB로 추정되는 물질이 관찰되었다. 따라서 GC를 이용하여 그 물질을 확인한 결과 fig. 8에서와 같이 PHB임이 확인되었다.

요 약

한국의 서해안과 남해안 47개소의 해수와 mud 시료로부터 광합성세균으로 유추되는 13개의 균주를 분리하였고, agar-shake tube method와 RAPD-PCR을 이용하여 4종의 서로 다른 균주를 순수분리 하였다. 이들 4종의 균주 중 폐수분해능이 우수한 균주를 선정하여, 형태학적, 배양적, 생화학적 특성 및 16S rRNA sequencing에 의한 동정을 실시하였고, 그 결과 purple, non-sulfur bacteria의 *Rhodobacter* 속에 가장 근접하여, *Rhodobacter* sp. EGH-24로 명명하였다. *Rhodobacter* sp. EGH-24가 생산하는 carotenoid 색소는 spheroidene(group 2)이었고, bacteriochlorophyll a를 가지고 있었으며, PHB를 생산하는 것으로 확인되었다.

참고문헌

1. 이은숙, 권애란. 1997. 수소 생성 광합성 세균 *Rhodobacter sphaeroides* KS 56 분리. Korean J. Food & Nutr. Vol. 10, No. 4, 549-552.
2. Bergy' Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 3. 1989. The William and Wilkins Co., U.S.A. Section 18, 1635-1696.
3. 李光雄. 1971. 光合成細菌의 生理 및 利用에 關한 最近의 動向. Kor. Jour. Microbiol. Vol. 9, 130-138.