

Comamonas terrigena의 균체지방산 조성

하덕모 · 안병학*

동국대학교 공과대학 식품공학과

Cellular Fatty Acid Composition in *Comamonas terrigena*

Ha, Duk-Mo and Byung-Hak Ahn

Department of Food Technology, College of Engineering, Dongguk University

ABSTRACT: Cellular fatty acid composition of eight strains, including six strains of *Comamonas terrigena*, and two type strains of *Pseudomonas acidovorans*, and *P. testosteroni* was determined by gas-liquid chromatography. Almost the same composition was found in all the strains tested, and hexadecanoic acid, hexadecenoic acid, and octadecenoic acid were accounted more than 70% of total fatty acid. However, *P. testosteroni* differed from *C. terrigena* and *P. acidovorans* by the presence of comparatively large amounts of 2-hydroxy-hexadecanoic acid, and *C. terrigena* contained three to eight times as much tetradecanoic acid in *P. acidovorans* and *P. testosteroni*. According to the similarity values calculated on the basis of fatty acid composition, *C. terrigena* strains were divided into three groups differentiated in the requirement of growth factors, and *C. terrigena*, *P. acidovorans*, and *P. testosteroni* strains occupied separate position each other in the dendrogram.

KEY WORDS □ *Comamonas terrigena*, Cellular fatty acid composition

Günther(1894)가 극속모에 의한 운동성이 있고 모양과 크기가 *Vibrio cholerae*와 구별되지 않으며 당을 발효하지 않는 간균을 처음 모양으로부터 분리하여 *Vibrio terrigenus*로 명명한 이래 분리원이 다른 이와 유사한 균주가 여러 연구자에 의해 분리되어 *V. percolans*(Mudd와 Warren, 1923), *V. alcaligenes*(Lehmann과 Neumann, 1927), *V. cyclosites*, *V. cuneatus*, *V. neocistes*(Gray와 Thornton, 1928)등으로 명명되었다.

그러나 이 균주들은 생리적, 형태적 특징 및 DNA 염기조성으로 보아 *Vibrio*와는 다르다는 것이 밝혀지게 되고(Colwell와 Liston, 1961; Davis와 Park, 1962; Galarneault와 Leifson, 1956; Hugo와 Rogers, 1958; Park, 1962;

Shewan 등, 1926). Galarneault와 Leifson(1956)은 그들이 분리한 *V. alcaligenes*의 synonym으로 생각되는 gram 음성의 속모가 있고 탄수화물을 분해하지 않는 간균군에 대해서 *Lophomonas alcaligenes*로 명명하였으나 Davis와 Park(1962)은 *Lophomonas*의 속명이 세균명명법(Int. Code. Nomen. Bact., Rule 24d)상 비합법명임을 지적하고 *Comamonas*속으로 할 것을 제안하게 되어 *V. percolans*는 *C. percolans*로서 *Comamonas*속의 기준종으로 인정되고 ATCC 8461 균주는 이 종의 기준균주로 되었다.

Hugh(1962)는 *C. percolans* ATCC 8461이 *V. terrigenus*의 subjective synonym이라는 이유로 *C. terrigena*로 할 것을 제안하였고 다시

* 현재 한국과학기술원 유전공학센터

Hugh(1965)는 이 균주가 *Pseudomonas testosteroni*의 기준균주인 ATCC 11996 균주와 유사하다고 해서 두 균주를 합쳐서 *P. terrigena*로 할 것을 제안하였으나 현재 이 균명은 유효명으로 되어 있지 않다. 또 *Comamonas*의 속명은 Approved Lists of Bacterial Names에 포함되지 않았으며 Bergey's manual of Determinative Bacteriology, 8 판 및 Bergey's manual of Systematic Bacteriology에도 유효명으로 되어 있지 않다. 또 *C. terrigena*는 Bergey's manual of Determinative Bacteriology에서 *Pseudomonas*속의 유연관계가 분명하지 않는 Addendum IV군에 속해 있다.

*C. terrigena*는 영양요구성이라는 것 이외는 생리적 성질에 있어서 *P. testosteroni*와 큰 차이가 없다. 또 *P. acidovorans*와 *P. testosteroni*의 두 균종은 많은 공통된 생리적 성질을 가지고 있으며 testosterone 등의 자화성에 있어서 약간의 차이가 있을 뿐이다. 이들의 *P. acidovorans-testosteroni* group는 당으로부터 산을 생성하지 않으며 수용성색소를 생성하지 않는 점에서 *Pseudomonas*속 중에서도 특이하기 때문에 국제 세균분류 명명위원회(International Committee on Systematic Bacteriology)의 *Pseudomonas* 및 관련미생물소위원회에서는 그 회의록(Int. J. Syst. Bacteriol. 32, 256-257, 1982)에 의하면 이 균종을 새로운 속으로 독립시키자는 제안도 있었으며 또 De Vos 등(1985)은 DNA-DNA 교잡, 가용성단백질의 전기영동, 혈청학적 연구, 표현형적 특징의 수치분석등의 결과로부터 *C. terrigena*는 *P. acidovorans* 및 *P. testosteroni*와는 다른 종으로 결론하고 *Comamonas*속을 부활하여 ATCC 8461 균주를 기준균주로 할 것을 주장하였다.

그러나 공통점이 많아서 *Pseudomonas*속의 같은 subgeneric group에 포함되기도 하였던(Stanier 등, 1966) *P. acidovorans*와 *P. testosteroni*, 그리고 이들과 유사한 *C. terrigena*와의 관계는 분명하지 않으며 *C. terrigena*의 여러균주에 대한 검토도 아직 충분하지 않으므로 본 연구에서는 *C. terrigena*의 기준균주를 포함한 균주들과 *P. acidovorans* 및 *P. testosteroni*의 기준균주의 균체지방산조성을 비교하여 화학분류법에 의한 *C.*

*terrigena*의 분류학적인 유연관계를 살폈기에 그 결과를 보고하는 바이다.

재료 및 방법

시험균주

*C. terrigena*의 기준균주(KS 0020, ATCC 8461)를 포함한 6 균주, *P. acidovorans*의 기준균주(KS 0057, ATCC 15668) 및 *P. testosteroni*의 기준균주(KS 0043, ATCC 11996)를 시험균주로 사용하였다(Table 1).

이들 시험균주는 동경대학 응용물연구소로부터 분양받은 균주이다.

균체의 배양 및 건조

시험균주는 육즙배지(meat extract 10g, peptone 10g, NaCl 5g, 증류수 1 l, pH 7.2)에 접종하여 30°C에서 40시간 진탕배양하였다. 배양균체는 원심분리하고 증류수로 세척한 다음 동결건조하여 지방산분석의 시료로 하였다.

균체 지방산의 분석

시험균주의 균체지방산은 gas-liquid chromatography(GLC)에 의하여 분석하였다.

건조균체는 Ikemoto 등(1978a)의 방법에 따라 5% HCl-methanol로서 메틸에스테르화하여 석유에테르로 추출하고 질소가스흐름속에서 농축하여 GLC의 분석시료로 하였다.

Table 1. Bacterial strains tested.

Species and strain number	Other designation		Taxonomic status
	RH ^a	ATCC ^b	
<i>Comamonas terrigena</i>	KS0020	247 8461	Type
<i>Comamonas terrigena</i>	KS0079	260 17758	
<i>Comamonas terrigena</i>	KS0220	1810 9494	
<i>Comamonas terrigena</i>	KS0217	1401	
<i>Comamonas terrigena</i>	KS0218	1572 11330	
<i>Comamonas terrigena</i>	KS0214	573	
<i>Pseudomonas acidovorans</i>	KS0057	2167 15668	Type
<i>Pseudomonas testosteroni</i>	KS0043	1104 11996	Type

a RH, Rudolph Hugh. George Washington University, Washington, D.C., U.S.A.

b ATCC, American Type Culture Collection, Rockville, Maryland, U.S.A.

GLC의 분석조건은 flame ionization detector가 부착된 gas-chromatograph(Varian 3700)에 10% EGSS-X를 입힌 80-100 mesh의 Chromosob W-AW를 충전한 스테인레스 스틸 컬럼(6ft×2mm i.d.)를 장치하였고 컬럼의 온도는 170°C로 하여 운반기체인 질소의 속도는 30 ml/min로 하였다. Chromatogram에 나타난 각 봉우리는 표준지방산(Sigma 회사)의 것의 머무른 시간과 비교하여 동정하였다. 또 균체지방산으로서 3-OH C_{10:0}, 2-OH C_{12:0}, 3-OH C_{12:0}등을 함유하는 *P. aeruginosa*와 3-OH C_{14:0}, 2-OH C_{16:0}, 3-OH C_{16:0}등을 함유하는 *P. cepacia* (Ikemoto 등, 1978b)의 균체를 이용하여 그 특이한 지방산조성의 chromatogram도 참고로 하였다. 각 지방산의 함량은 그 봉우리의 면적으로부터 총지방산에 대한 백분율을 나타내었다.

지방산조성에 따른 균주간의 similarity

균주간의 similarity value는 각 균주의 지방산 조성에 의해서 산출한 상관계수로 나타내었고 unweighted average pair group method로 dendrogram을 작성하였다(Sneath와 Sokal, 1973).

결과 및 고찰

균체지방산 조성

시험균주의 균체지방산 조성은 Table 2와 같다.

*C. terrigena*의 기준균주(KS 0020)를 포함한 6균주의 지방산조성은 거의 같으며 주된 지방산은 C_{16:1}, C_{16:0} 및 C_{18:1}의 직쇄지방산으로 이들이 총 지방산의 70% 이상을 차지하였다. 또 소량의 C_{12:0}, C_{14:0}, C_{15:0}, C_{17:0}, C_{18:0} 및 C_{19:0}의 직쇄지방산 이외에 소량의 3-OH C_{10:0}과 cyclopropane C_{17:0} 및 미량의 2-OH C_{16:0}과 cyclopropane C_{19:0}이 함유되어 있었다.

*P. acidovorans*와 *P. testosteroni*의 기준균주인 KS 0057과 KS 0043의 2 균주에서도 *C. terrigena*의 6균주와 같이 주된 균체지방산은 C_{16:1}, C_{16:0} 및 C_{18:1}의 직쇄지방산이었다. 또 소량의 여러 직쇄지방산 이외에 소량의 3-OH C_{10:0}과 cyclopropane C_{17:0} 및 미량의 cyclopropane C_{19:0}이 함유되어 있었으며 KS 0057 균주는 미량의 2-OH C_{16:0}을 함유하고 있는데 대해서 KS 0043 균주는 그 함량이 약 4%로 많았다. 이들 균

Table 2. Cellular fatty acid composition in *Comamonas terrigena* and related species.

Species and strain number	Fatty acid ^a															
	12:0	14:0	15:0	16:0	16:1	17:0	18:0	18:1	19:0	Δ-17	Δ-19	3-OH 10:0	2-OH 16:0	Un-1	Un-2	
<i>Comamonas terrigena</i>																
KS 0020	2.2 ^b	3.1	1.9	29.3	36.1	1.2	tr	12.1	2.2	4.1	tr	4.0	tr	1.2	1.7	
KS 0079	2.3	3.1	1.9	30.1	35.3	1.2	tr	12.4	2.4	3.7	tr	3.8	tr	1.4	1.6	
KS 0220	1.9	3.5	1.8	33.0	38.9	tr	tr	10.3	1.4	3.7	tr	2.3	tr	0.8	1.1	
KS 0218	1.8	2.9	4.1	26.0	39.9	1.8	tr	10.5	2.9	5.4	tr	1.6	tr	0.6	1.8	
KS 0214	2.9	3.3	2.8	27.8	42.1	1.2	tr	8.5	2.0	4.8	tr	1.4	tr	1.0	1.6	
KS 0217	3.3	2.9	2.8	26.4	41.5	tr	tr	15.1	1.1	3.6	tr	1.5	tr	tr	1.1	
<i>Pseudomonas acidovorans</i>																
KS 0057	3.4	0.9	0.9	37.3	30.1	0.9	tr	12.1	2.3	8.4	tr	3.0		tr	tr	
<i>Pseudomonas testosteroni</i>																
KS 0043	2.2	tr	tr	29.5	29.0	1.9	tr	18.9	3.4	4.2	1.3	1.9	4.1	1.3	1.7	

a The number before the colon refers to the number of carbon atoms, and that after the colon refers to the numbers of double-bonds; Δ indicates cyclopropane acid; 2-OH and 3-OH show 2-hydroxy and 3-hydroxy acids; Un denotes unidentified acid.

b The number refers to the area percentage of an acid to a total acid; tr shows the presence of acid less than 0.5%.

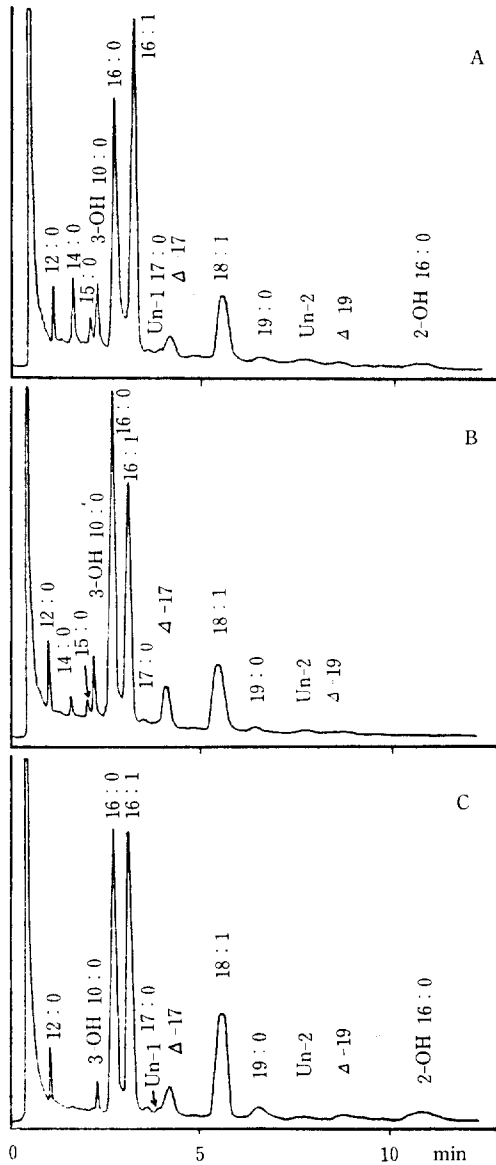


Fig. 1. Fatty acid profiles of *Comamonas terrigena* KS 0020(A), *Pseudomonas acidovorans* KS 0057 B), and *P. testosteroni* KS 0043(C). For abbreviations of fatty acids, see footnote a, Table 2.

주의 균체지방산 조성은 Ikemoto 등(1978b), Oyaizu와 Komagata(1983), Moss 등(1972)의 결과와 거의 같았다.

이와같이 *C. terrigena*, *P. acidovorans* 및 *P. testosteroni*의 3 균종의 지방산조성은 대체적으로 같으며 이들 시험균주 모두가 3-히드록시산중

3-OH $C_{10:0}$ 만을 함유하고 있었는데 이것은 미생물중에서도 gram 음성의 세균 특유의 균체지방산인 3-히드록시산의 조성에 따라서 *Pseudomonas* 속 균종을 여러 군으로 나누어 *P. acidovorans*, *P. testosteroni* 및 *C. terrigena*는 여러 3-히드록시산중에서 3-OH $C_{10:0}$ 만을 함유하는 균으로 분류하고 있는 Oyaizu와 Komagata(1983)의 결과와도 같다. 2-OH $C_{16:0}$ 은 *C. terrigena*의 6 균주에서는 미량 함유되어 있고 *P. acidovorans* KS 0057에서는 검출할 수 없었으나 *P. testosteroni* KS 0043에서는 비교적 높은 값을 나타내어 특이하였고 또 직쇄지방산의 $C_{14:0}$ 은 *C. terrigena* 6 균주 모두가 *P. acidovorans* 및 *P. testosteroni*의 3 배 이상을 함유하여 큰 차이를 보였다.

균체지방산 조성에 따른 similarity

시험균주의 지방산조성에 따른 균주간의 similarity value로부터 작성한 dendrogram은 Fig. 2와 같다.

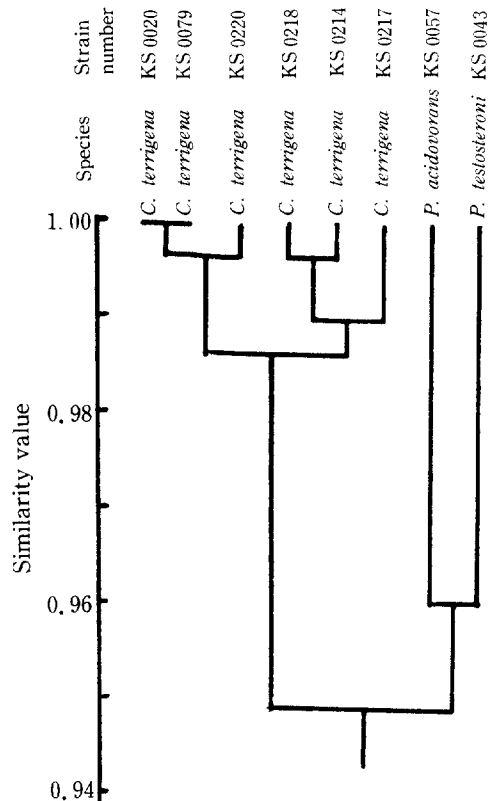


Fig. 2. Dendrogram of similarity values based on cellular fatty acids.

*C. terrigena*의 6 균주는 KS0020, KS0079 및 KS0220의 균, KS0218 및 KS0214의 균, 그리고 KS0217의 3 균으로 분류되었다. *C. terrigena*는 *P. acidovorans*나 *P. testosteroni*와는 달리 영양요구성이라는 것이 특징이며 Alwine (1969)에 의하면 이 영양요구성도 균주에 따라 차이가 있고 β -hydroxybutyrate broth에서의 생육에는 KS0020, KS0079 및 KS0220 균주들은 niacinamide 및 pteroylglutamate를, KS0214 및 KS0218 균주들은 niacinamide 만을, KS0217 균주는 niacinamide, pantothenate 및 pteroylglutamate를 각각 요구하는 것으로 보고되고 있으며 이들 영양요구성의 차이는 균체지방산 조성에 따른 분류와 일치하였다. 또 *C. terrigena* 균주군과 *P. acidovorans* KS0057 및 *P. testosteroni* KS0043은 dendrogram 상의 *C.*

terrigena 균주군보다 낮은 similarity value에서 서로 연결되어서 *C. terrigena*와 *P. acidovorans* 또는 *P. testosteroni*와의 관계는 *P. acidovorans*와 *P. testosteroni*와의 관계정도로 서로 다르다는 것을 나타내고 있고 이것은 DNA 교잡, 가용성 단백질의 전기영동, 혈청학적 연구, 포현형적 특징의 수치분석등의 결과로부터 *C. terrigena*는 *P. acidovorans*나 *P. testosteroni*와 구별된다는 De Vos 등(1985)의 결론과도 같으며 또 GC 함량에 있어서도 여러 연구결과(Stanier, 1966; Alwine, 1969; De Vos, 1985)로부터 *C. terrigena*는 *P. acidovorans* 및 *P. testosteroni*와 분명히 차이가 있다는 것이 밝혀지고 있으므로 이들 3균은 서로 대단히 가까운 유연관계에 있는 각각 다른 균으로 생각된다.

적 요

*Comamonas terrigena*의 기준균주를 포함한 6 균주와 *Pseudomonas acidovorans* 및 *P. testosteroni*의 2 기준균주의 지방산조성을 GLC로 분석하고 그 조성으로부터 수치분석으로 균주간의 유연관계를 검토하였다. 시험균주의 균체지방산 조성은 대체적으로 같으며 주된 지방산은 $C_{16:1}$, $C_{16:0}$ 및 $C_{18:1}$ 의 직쇄지방산으로 총 지방산의 70% 이상을 차지하였고 3-하이드록시산으로서는 3-OH $C_{10:0}$ 만을 함유하고 있었다. 2-OH $C_{16:0}$ 은 *C. terrigena*에는 미량 함유되어 있고 *P. acidovorans*에서는 검출되지 않았으나 *P. testosteroni*에서는 비교적 그 함량이 많았으며 $C_{14:0}$ 은 *C. terrigena*가 *P. acidovorans* 및 *P. testosteroni*의 3배 이상을 함유하고 있는 것이 특이하였다. 균체지방산 조성에 따른 균주간의 similarity value로부터 얻은 dendrogram에서 *C. terrigena*의 6 균주는 영양요구성이 다른 3 균으로 분류되었고 *C. terrigena*, *P. acidovorans* 및 *P. testosteroni*는 서로 다른 균종을 나타내었다.

사 사

본 연구를 위하여 균주의 분양과 조언을 해주신 동경대학 응용미생물연구소 Komagata, Kazuo 교수에게 감사사를 드리는 바이다.

REFERENCES

1. Alwine, H.M., 1969. A comparison of *Comamonas terrigena* and related bacteria. M. Sc. Thesis, George Washington University, Washington.
2. Buchanan, R.E., and N.E. Gibbons(ed.), 1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
3. Colwel, R.R., and J. Liston, 1961. Taxonomic relationships among the pseudomonads. *J. Bacteriol.* **82**, 1-14.
4. Davis, G.H.G., and R.W.A. Park, 1962. A taxonomic study of certain bacteria currently classified as *Vibrio* species. *J. Gen. Microbiol.* **18**, 17-46.
5. De Vos, P., K. Kersters, E. Falsen, B. Pot, M. Gillis, P. Segers, and J. De Lay, 1985. *Comamonas* Davis and Park 1962 gen. nov., rev. emend., and *Comamonas terrigena* Hugh 1962 sp. nov., nom. rev. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **35**, 443-453.
6. Galarneault, T.P., and E. Leifson, 1956. Taxonomy of *Lophomonas* n. gen. *Can.*

- J. Microbiol.* **2**, 102-110.
7. Gray, P.H.H., and H.G. Thornton, 1928, Soil bacteria that decompose certain aromatic compounds. *Zentralbl. f. Bakteriolog. Abt. 2*, **73**, 74-96.
 8. Günther, C., 1894, Über einen neuen in Erdboden gefundenen Kommabacillus. *Hygienische Rundschau*, **4**, 721-724.
 9. Hugh, R., 1962, *Comamonas terrigena* comb. nov., with proposal of a neotype and request for an opinion. *Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon.* **12**, 33-35.
 10. Hugh, R., 1965, A comparison of *Pseudomonas testosteroni* and *Comamonas terrigena*. *Int. Bull. Bacteriol. Nomencl. Taxon.* **15**, 125-132.
 11. Hugo, W.B., and M.K. Rogers, 1958, Then nutrition and some biochemical studies of *Vibrio cycloides* and *Vibrio neocistes*. *J. Appl. Bacteriol.* **21**, 20-25.
 12. Ikemoto, S., K. Katoh, and K. Komagata, 1978a, Cellular fatty acid composition in methanol-utilizing bacteria. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **24**, 41-49.
 13. Ikemoto, S., H. Kuraish, K. Komagata, R. Azuma, T. Suto, and H. Murooka, 1978b, Cellular fatty acid composition in *Pseudomonas* species. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **24**, 199-213.
 14. Krieg, N.R.(ed.), 1984, *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1. 1st ed. The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
 15. Lehmann, K.B., and R.O. Neumann, 1927, Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik, 7th ed. J.F. Lehmann, Munich, Federal Republic of Germany.
 16. Moss, C.W., S.B. Samuels, and R.E. Waver, 1972, Cellular fatty acid composition of selected *Pseudomonas* species. *Appl. Microbiol.* **24**, 596-598.
 17. Mudd, S., and S. Warren, 1923, A readily cultivable vibrio, filterable through Berkefeld "V" candles, *Vibrio percolans*(new species). *J. Bacteriol.* **8**, 447-457.
 18. Oyaizu, H., and K. Komagata, 1983, Grouping of *Pseudomonas* species on the basis of cellular fatty acid composition and the quinone system with referens to the extence of 3-hydroxy fatty acids. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **29**, 17-40.
 19. Park, R.W.A., 1962, A study of certain heterotrophic polarly flagellate water bacteria: *Aeromonas*, *Pseudomonas* and *Comamonas*. *J. Gen. Microbiol.* **27**, 121-133.
 20. Skerman, V.B.D., V. McGowan, and P.H. A. Sneath(ed.), 1980, Approved lists of bacterial names. *Int. J. Syst. Bacteriol.* **30**, 225-420.
 21. Sneath, P.H.A., and R.R. Sokal, 1973, Numerical taxonomy, The principles and practice of numerical classification. W.H. Freeman and Co., San Francisco.
 22. Stanier, R.Y., N.J. Palleroni, and M. Doudoroff, 1966, The aerobic pseudomonads: a taxonomic study. *J. Gen. Microbiol.* **43**, 159-271.

(Received Feb. 23, 1987)