

젓갈(염장발효식품)에서 분리한 호염세균의 생리 및 성장특성

정유정 · 박두현*

서경대학교 이공대학 생물공학과

다섯 종류의 젓갈로부터 다섯 종의 호염성 세균을 분리하였다. 이들의 16S-rDNA 염기서열을 분석한 결과 한 종은 *Halomonas subglaciescola*, 다른 종들은 *H. marina*에 속하는 것으로 판명되었다. *H. subglaciescola*, *H. marina* IN, and *H. marina* SH-2는 염도가 3%에서 20%에 이르는 넓은 범위의 배양 조건에서, *H. marina* SQ and *H. marina* SH-1는 염도가 8%에서 19%에 이르는 비교적 좁은 범위의 배양 조건에서 성장하는 것으로 나타났다. 15% NaCl을 포함하는 LB 배지에서 배양한 *H. subglaciescola*, *H. marina* IN, *H. marina* SQ, *H. marina* SH-1, *H. marina* SH-2의 최대 균체량은 흡광도로서 각각 3.2, 4.5, 4.5, 5.7, 4.2 이었으나 5%의 NaCl을 포함하는 동일 배지에서 최대 균체량은 각각 2.2, 1.1, 0.7, 0.2, 2.4 이었다. 균체의 주사전자현미경 사진에서 균체의 표면에 부정형의 이물질이 부착되어 있는 것으로 확인되었다. 각 균체의 배양액에서 점성을 갖는 물질을 분리하여 대장균의 배양액에 첨가하였을 때 대장균은 15% NaCl을 갖는 배지에서 성장하였다. 이것은 호염균의 세포 표면에 부착한 물질이 NaCl의 차단효과를 갖기 때문으로 생각된다.

Key words □ *Halomonas marina*, *Halomonas subglaciescola*, halophilic bacteria, halotolerant, osmoregulation

0.5 M~2.5 M의 NaCl을 함유하는 배양조건에서 정상적으로 성장하는 세균을 호염성 세균이라 하며, 주로 해수, 염호, 염장식품 등에서 발견된다(2, 3, 9, 13, 14). 일반적으로 호염성 세균은 모두 중속영양세균으로 분류학적으로 다양한 속(genus)에 속한다(19). 과거 10 년 동안 지리적으로 다양한 지역에서 수행된 미생물의 극한 환경과 관련된 연구결과 호염성 세균의 존재가 확인되었고, 이들을 분리 배양하는 기술의 발달로 분류학적인 특성화가 가능하게 되었다. 분리된 종의 대부분은 eubacteria에 속하며, 호기 또는 통성 혐기성의 생리적인 특성을 지니고 있었다(11, 17). 일반적으로 0%~15%의 NaCl을 함유하는 환경에서 정상적으로 성장하는 호염성 세균 중 가운데 어떤 종은 정상적인 성장을 위해 5%~25%의 NaCl을 요구하는 경우도 있다(10). 염에 대한 저항능력을 갖는 또는 염을 요구하는 세균의 형태학 및 생리적인 특징은 매우 다양하다. Hirsch(7, 8)는 고염 환경의 Solar Lake의 호안으로부터 104 종의 형태학적 특징이 다른 호염성 세균을 분리하였으며, 다양한 염의 농도와 온도의 변이가 호염성 세균의 형태학적 다양성의 원인이 되는 것으로 제안하였다. 모든 호염성 세균은 정상적인 성장을 위해 염을 요구하며 내염성 세균은 고농도의 염을 함유하는 환경에 대한 저항능력이 있다. 정상적인 성장을 위하여 고염의 환경조건을 요구하는 또는 고염의 환경조건에 저항하여 성장하는 특징은 세균의 종에 따라 매우 다양하다. 또한 성장온도와 영양물질의 종류에 따른 내염성 또는 호염성의 특징이 달라질 수 있다(10). 혼합 배지를 이용하

여 고염 환경에서 분리한 세균을 배양하여 성장특성을 비교한 결과에 따르면 고염 환경에서 성장하는 세균은 호염성 보다는 내염성의 특성을 갖는 종류가 우세한 것으로 나타났다(20). 그러나 분리한 내염성 세균을 제한 배지에서 배양한 결과 호염성의 특징을 나타내는 것으로 확인되었다(4). 또한 *Haloferax volcanii* 종은 성장온도가 증가함에 따라 염 요구성 또는 염에 대한 저항능력이 비례하여 증가하는 것으로 보고되었다(16). 호염성 세균의 이러한 특징은 다양한 환경변화에 적응하는 과정에서 발전된 것으로 생각된다. 그러나 환경요인의 변이에 따른 저항성 이외에 세포 내부에 삼투압에 대한 저항성을 갖는 물질을 축적하여 고염의 환경에서 적응하는 다양한 세균종이 보고되고 있다. 진정 세균류에 속하는 미생물 가운데 고농도의 다양한 염을 함유하는 환경에서 생존하기 위해 potassium ion, counter ion 등을 세포 내에 축적하여 삼투압의 차이에 의해 나타나는 불리한 환경을 극복하거나 choline, betaine, ectoine 등의 compatible solute(적합 용질)를 합성하여 세포내의 삼투압을 유지함으로써 세포 내 기능성 분자의 생화학적 활성을 유지하는데 필요한 생리학적 조건을 충족한다(5, 12). 본 연구에서는 자연 환경이 아닌 인공적으로 조성된 호염의 환경으로부터 호염성 세균을 분리하여 고염의 환경에서 성장특성을 확인하였고 분리균이 생산하는 점성의 물질이 비 호염성 세균의 성장에 미치는 영향을 분석함으로써 호염성 세균의 염에 대한 새로운 저항 기작을 제안하였다. 일반적으로 젓갈의 염 농도는 15%~20%로 호염성 세균의 생육에 적당하고 동물성 단백질과 동물조직을 구성하는 다양한 유기물질이 풍부하기 때문에 다양한 종의 호염성 세균이 생육할 수 있을 것으로 예상하였으나, 15%의 소금을 함유하는 Luria-Bertani 고체배지를 이용하여 5 종류의 젓갈로부터 분리한 호염성 미생물은

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 82-2-940-7190, Fax: 82-2-919-0345
E-mail: baakdoo@skuniv.ac.kr

*Halomonas marina*와 *Halomonas subglaciescola* 등 2 종이었다. 이러한 종의 호염성 미생물에 관해 보고된 연구 결과로 서식환경에 따른 생태학적 특성과 분류학적인 비교 자료가 발견되고 있으나, 생리적인 특성이나 내염 기작 등에 관한 자료는 충분하지 않다. 이 논문에서 5 종류의 젓갈에서 분리한 각각의 호염성 세균이 15% NaCl을 함유하는 고염의 성장 환경에서 공통적으로 분비하는 점성의 물질의 생리적인 기능을 시험하고 그 기능을 유추하였다.

재료 및 방법

사용 균주 및 성장 배지

연구에 사용한 호염성 세균은 오징어젓(SQ), 새우젓(SH-1), 조개젓(SH-2), 명태장란젓(IN), 대구아가미젓(*H. subglaciescola*) 등, 5 종류의 젓갈로부터 15% NaCl을 함유하는 LB agar plate를 이용하여 분리하였다. 15%의 NaCl은 각각의 젓갈의 NaCl 농도를 측정하여 가장 낮은 염도를 갖는 젓갈의 염도를 기준으로 설정하였다. 세균은 실험적으로 결정한 성장 최적온도(25°C) 및 호기적인 조건에서 배양하였으며 모든 실험 과정에서 동일 배양조건을 적용하였다. 고체배지에서 성장한 세균의 집락을 분리하여 15%의 NaCl을 함유하는 LB broth에서 배양하였으며, 배양균은 미생물의 유전적인 변이의 가능성을 배제하기 위하여 -85°C의 초저온 냉동기에 저장하면서 필요할 때 해동, 배양하여 사용하였다. 균체량은 660 nm의 흡광도를 이용하여 측정하였다.

동정

분리균의 분자생물학적인 동정을 위하여 16S rDNA를 분리하였고 PCR을 이용하여 증폭한 후 염기서열 분석전문회사(Macrogen, Korea)에 의뢰하여 16S rDNA의 정방향과 역방향의 염기서열자료를 획득하였으며, Genbank database를 이용하여 표준 균의 16S rDNA의 염기서열과 비교하였다. 시험에 사용한 PCR primer의 정방향 염기서열은 5'-GAGTTGGATCCTGGCTCAG-3'이고 역방향의 염기서열은 5'-AAGGAGGGGATCCAGCC-3'이었다. 표준균주의 16S rDNA와 염기가 일치하는 정도를 이용하여 계통수를 작성하고 이를 근거로 분리균의 속명과 종명을 결정하였다.

대사산물의 분리

미생물이 성장하면서 분비하는 점액성 물질은 Fig. 1과 같은 과정에 따라 분리하였으며 점액성의 물질의 기능을 시험하고 점액성의 물질이 NaCl을 흡착하는 정도를 시험하기 위하여 세 가지 분획(미생물의 균체, mucus, NaCl)을 분리하였다.

NaCl의 분석

NaCl의 농도는 Mohr법(1)에 따라 적정에 의해 정량하였다. 미생물 배양액을 원심분리(5000 × g, 30min)하여 1ml을 취하고 3차수로 100 배 희석하여 100 ml 용량의 삼각 플라스크에 희석액 20 ml과 10% K₂Cr₂O₇을 넣는다. 0.02N AgNO₃로 적정하여 크롬

산은의 적갈색 침전물이 나타난 후 침전물이 즉시 없어지지 않고 약 15초 동안 남아있을 때 까지 적정한다. 농도는 다음 식에 따라 계산하여 결정하였다.

$$\text{NaCl (\%)} = (0.00117 \times V \times F \times 100 \times \text{희석배수}) / S$$

V: 0.02 N AgNO₃ 적정치

F: 0.02 N AgNO₃의 factor (1.001)

S: 시료채취량

시험균의 최적 성장을 위한 NaCl 농도 결정

0%~25%의 NaCl을 2% 간격으로 첨가한 LB 배지에 NaCl 15%를 함유하는 배지에서 배양한 시험 균을 각각 2% (v/v)접종하고 25°C에서 24 시간 동안 진탕배양(200 rpm)한 후 각각 배양액의 세균 밀도를 측정하였다.

전자현미경 사진

15% NaCl을 함유하는 LB 배지에 시험 균을 18 시간 동안 배양한 후 원심분리(5,000 × g, 20 min)하여 생리식염수에 현탁하였다. 현탁액을 0.22 mm의 pore를 갖는 한외여과막으로 여과하여 균체를 막위에 부착하였다. 2% glutaraldehyde와 1% osmium tetroxide를 1시간 씩 순서대로 처리하여 균체를 고정한 후 30%, 50%, 80%, 90%, 95% ethanol을 각각 순서대로 20분씩 처리하여 탈수하였다. 탈수한 균체는 5°C에서 80%의 액화CO₂를 이용하여 30분간, 20°C에서 20분간, 38°C에서 5분간 처리하여 건조하였다. 건조시료는 금입자를 입힌 후 10,000배의 배율에서 관찰하고 촬영하였다.

호염균 배양액에서 분리한 점액성 물질이 대장균의 성장에 미치는 영향

각각의 호염균의 배양액에서 분리한 점액성의 물질을 Fig. 1과 같은 방법으로 분리하고 대장균을 접종한 15%의 NaCl을 함유하는 LB broth에 200 mg/ml의 농도로 첨가하여 25°C에서 48시간 배양한 후 대장균의 생균수를 평판배양법과 10-fold dilution 방법으로 계수하였다.

결과 및 고찰

분리균의 계통발생학적 분류

분리균의 16S rDNA의 염기서열을 표준 균주와 비교하여 작성한 계통수는 Fig. 2와 같다. Fig. 2에서 보는 바와 같이 4종류의 젓갈에서 분리한 *H. marina*는 상호 1% 미만의 유전적인 차이를 보였으며 표준균과의 일치도는 모두 97% 이상이었다. *H. subglaciescola*는 표준균과의 일치도는 95% 정도로 나타났다. 한편, *H. marina*와 *H. subglaciescola* 사이의 유전적인 동질성은 90% 이상으로 나타났다. 이상의 결과에서 보는 바와 같이 젓갈에서 분리한 세균의 종류와 유전적인 다양성은 매우 낮은 것으로 나타났는데 이것은 젓갈의 종류에 관계없이 젓갈이 갖는 미생물에 대한 환경적인 유사성 때문으로 생각된다.

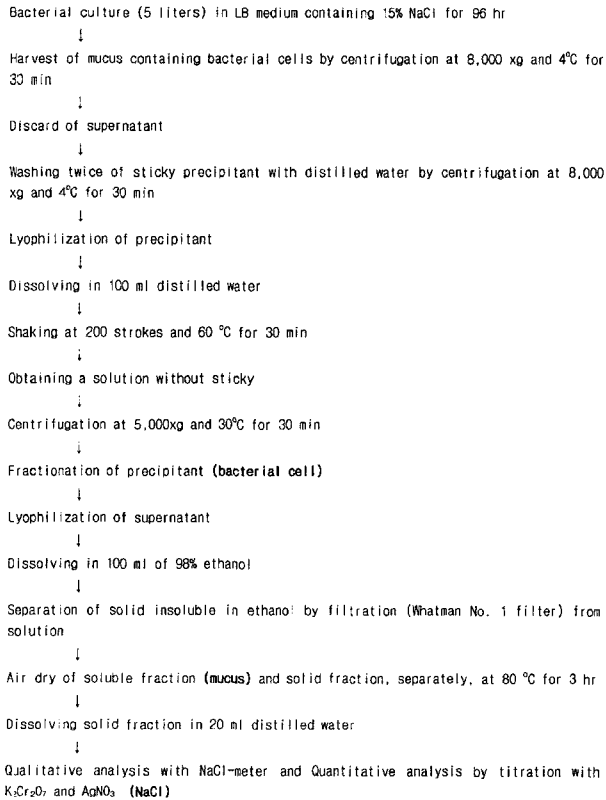


Fig. 1. Procedures for fractionation of bacterial cells, mucus and NaCl from halophilic bacterial cultures.

분리균의 성장을 위한 최적 NaCl 농도

각각의 분리균을 0%~25%의 NaCl을 함유하는 LB 배지에 배양하였을 때 NaCl에 대한 적응성은 Fig. 3에서 보는 바와 같이 *H. subglaciescola*는 2%~20%에 이르는 넓은 범위의 NaCl 농도에서 성장하는 것으로 나타났으며 최적 성장을 위한 NaCl 농도는 5%~15%이었다. *H. marina* SQ와 SH-1의 최적 성장을 위한 NaCl의 농도는 12~13% 정도로 확인되었으며, *H. marina* IN과

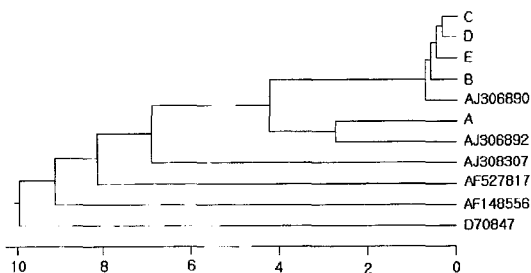


Fig. 2. Phylogeny of 5 species of *Halomonas* sp. isolated from salted seafoods. *Halomonas marina* (AJ306890), *H. subglaciescola* (AJ306892), *Pseudomonas fluorescens* (AJ308307), *Escherichia coli* (AF527817), *Burkholderia cepacia* (AF148556), *Phodobacter sphaeroides* (D70847) were used as the standard organisms for comparison of homology and measurement of phylogenetic distance. A, *H. subglaciescola*; B, *H. marina* IN; C, *H. marina* SQ; D, *H. marina* SH-1; E, *H. marina* SH-2. The bar scale indicates a 1.0% difference.

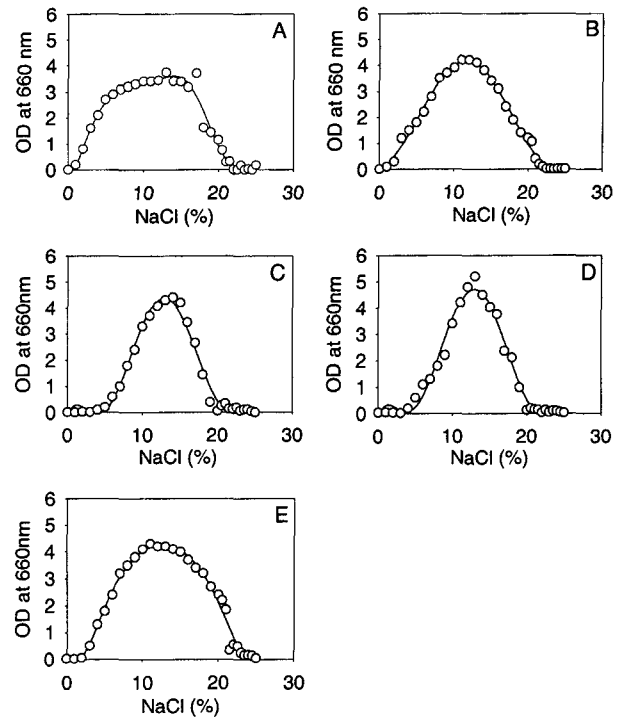


Fig. 3. Growth profile fo halophilic bacteria in LB medium containing serial concentration of NaCl from 0 to 25%. Biomass was spectrophotometrically measured after 48 hr incubation. A, *Halomonas subglaciescola*; B, *Halomonas marina* IN; C, *Halomonas marina* SQ; D, *Halomonas marina* SH-1; E, *Halomonas marina* SH-2.

H. marina SH-2의 최적 성장을 위한 NaCl농도는 10~15% 정도로 다소 범위가 넓은 것으로 나타났다. 이것은 각 젓갈의 NaCl 함량의 차이에 의한 적응정도의 차이에 의한 것으로 생각된다.

분리균의 성장특성

분리균은 각각 5%와 12%의 NaCl을 함유하는 LB배지를 이용하여 배양하였으며 배양시간에 따른 균체량은 660 nm의 흡광도를 이용하여 측정하였다. Fig. 4에서 보는 바와 같이 *H. subglaciescola*를 제외한 다른 분리균의 성장특성은 전반적으로 유사하였으며 최적 농도의 NaCl을 함유하는 조건에서 매우 활발하게 성장하는 것으로 나타났다. 그러나 5%의 NaCl을 함유하는 조건에서는 성장이 크게 둔화되거나 성장하지 못하는 것으로 나타났다. 이것은 *H. marina*는 최적 성장을 위해 NaCl을 절대적으로 요구하는 호염성의 특성을 *H. subglaciescola*는 NaCl의 농도차이에 따른 대응 능력이 큰 내염성 특징을 갖기 때문으로 생각된다.

세포표면의 부착물질의 현미경적 관찰

분리균의 전자현미경 사진에서 발견되는 공통적인 특징은 세포의 표면에 부정형의 이물질이 부착되어 있는 것이다(Fig. 5). 이것은 세균을 고체 평판 배지에서 배양할 때 colony가 점성을 갖는 특징이나 액체 배지에서 배양할 때 배양액에 점액성의 물질이 형성되는 것과 관계가 있는 것으로 추정된다. 이러한 점성

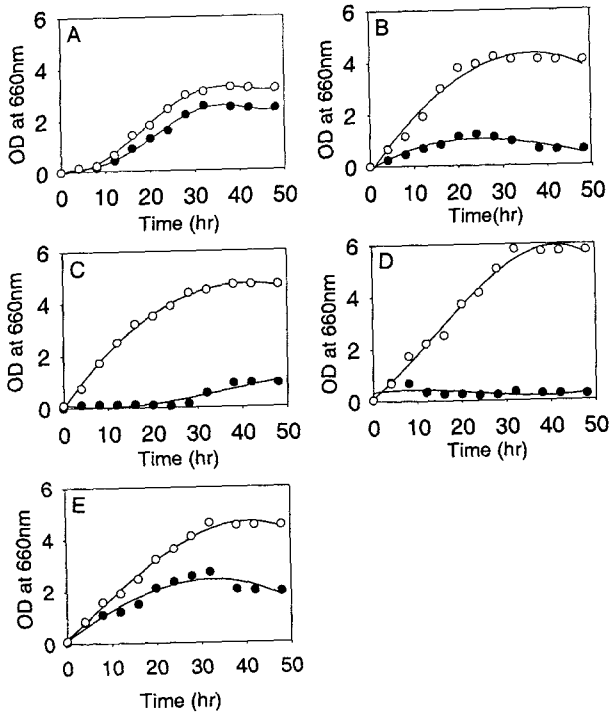


Fig. 4. Growth of halophilic bacteria in LB medium containing 5% (●) or 12% NaCl (○). A, *Halomonas subglacialscola*; B, *H. marina* IN; C, *H. marina* SQ; D, *H. marina* SH-1; E, *H. marina* SH-2.

물질은 Fig. 1과 같은 과정을 통해 분리되었고 분리한 물질은 비호염성인 대장균의 NaCl에 대한 내성을 증가시킬 수 있는 것으로 확인되었다. Table 1에서 보는 바와 같이 각각의 분리균에서 분획한 균체량, 점액물질, 점액물질이 함유하는 NaCl의 양은 분리균에 따라 다소의 차이를 보였으나 분리균에서 분리한 점액성 물질은 모두 공통적으로 NaCl을 함유하고 있는 것으로 나타났다. 이것은 전자현미경 사진에서 나타난 균체 표면에 부착되어 있는 이 물질이 점액성의 물질이며 NaCl을 흡착할 수 있다는 가능성을 보여주는 것이다.

분리균의 배양액의 NaCl 농도의 변화

분리균을 각각 11%의 NaCl을 함유하는 LB 배지에 배양하면

Table 1. Amounts of bacterial cells, mucus, and NaCl isolated from halophilic bacterial culture. The bacterial cells were cultivated at 38°C for 48 hr. NaCl was extracted from mucus

Bacterial strains (OD at 660nm)	Dry Cell Mass	Mucus	NaCl ^a
<i>H. subglacialscola</i> (3.6)	6.77 g	3.05 g	0.77 g
<i>H. marina</i> IN (3.2)	6.70 g	1.87 g	0.74 g
<i>H. marina</i> SQ (4.6)	7.55 g	2.81 g	0.63 g
<i>H. marina</i> SH-1 (4.9)	7.24 g	2.77 g	0.67 g
<i>H. marina</i> SH-2 (4.1)	6.73 g	2.99 g	0.87 g

a, NaCl was quantitatively analyzed by titration with silver nitrate and potassium perchromate

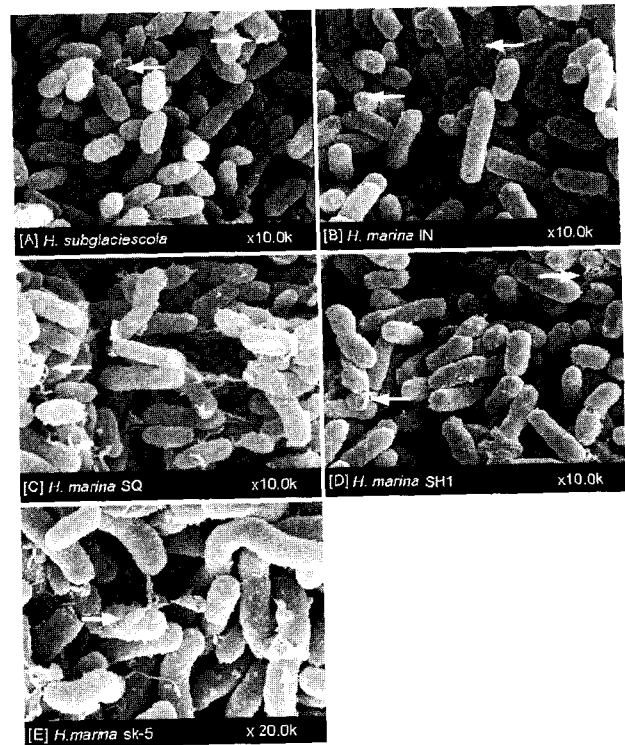


Fig. 5. Scanning Electron Micrographs of *H. subglacialscola* (A), *H. marina* IN (B), *H. marina* SQ (C), *H. marina* SH-1 (D), *H. marina* SH-2 (E). The extracellular polymer that arrow marks indicate was thought to be mucose.

서 배양액의 NaCl 함량을 배양시간에 따라 측정하였다. Fig. 6에서 보는 바와 같이 배양액의 NaCl 함량은 세균의 균체량 (Fig. 4 참조)에 반비례하여 감소하는 것으로 나타났다. 이것은 Fig. 5와 Table 1의 결과를 도입하여 설명이 가능하다. 즉, 분리균은 점액성의 물질을 분비하고 이 점액성의 물질은 NaCl을 흡착함으

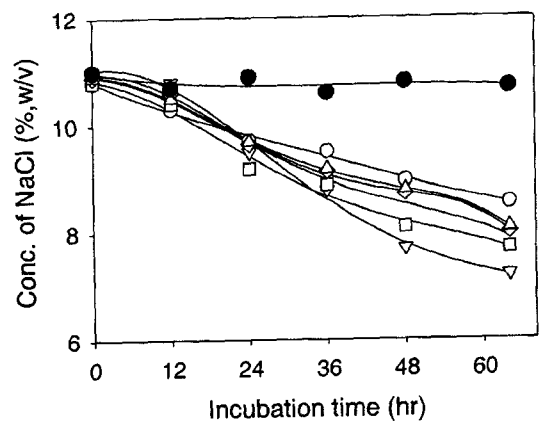


Fig. 6. Variation of NaCl concentration in LB medium without bacterial cultivation (●), in culture of *H. subglacialscola* (○), *H. marina* IN (□), *H. marina* SQ (▽), *H. marina* SH-1 (△), and *H. marina* SH-2 (◇) growing in LB medium. NaCl concentration was determined by titration with AgNO₃, and the bacterial cells were removed by centrifugation at 5,000 × g and 4°C for 30 min before titration.

Table 2. Growth of *E. coli* on agar plate of LB medium containing 15% NaCl and extra-cellular mucus (200 mg/ml medium), which was isolated from halophilic bacteria, *H. subglaciescola* (A), *H. marina* IN (B), *H. marina* SQ (C), *H. marina* SH-1 (D), *H. marina* SH-2 (E), respectively

Viable cell numbers of <i>E. coli</i> grown in LB agar plate containing 15% NaCl (colony-forming unit)						
Without NaCl	Without Mucus	With Mucus from A	With Mucus from B	With Mucus from C	With Mucus from D	With Mucus from E
9.8×10^9	No growth	3.0×10^3	2.5×10^3	1.4×10^3	2.1×10^3	1.5×10^3

로서 고도의 NaCl을 함유하는 환경에서 성장이 가능할 수 있을 것으로 추정된다. 이것은 Canovas 등(4, 5)과 Choquet 등(6)이 보고한 호염성 세균이 세포내부에 compatible solute를 생산 축적하여 세포내부의 삼투압을 조절함으로써 고염의 환경에서 정상적으로 성장할 수 있다는 내용, 또는 Mojica 등(15)이 보고한 potassium ion을 세포 내부에 축적하여 세포의 내외부의 삼투압 차이를 감소함으로써 고염의 환경에 적응할 수 있다는 내용과 상이한 결과이지만, 미생물의 다양한 적응 방법을 감안할 때 호염 또는 내염성의 세균이 고염의 환경에서 적응하는 과정에서 획득한 새로운 적응 방법으로 생각된다.

분리균의 점액성 분비물의 기능

분리균이 분비하는 점성 물질(Fig. 1, Fig. 4, Table 1 참조)의 내염과 관련된 기능을 확인하기 위하여 15%의 NaCl을 함유하는 LB 배지에 점액성 물질을 200 mg/ml첨가한 후 대장균을 접종하여 24시간 후에 생균수를 측정된 결과 Table 2에서 보는 바와 같이 점액성 물질을 첨가하지 않은 배지에서 대장균은 전혀 성장하지 않았으나, 첨가한 배지에서는 1,000 개체 이상의 대장균이 생존하는 것으로 확인되었다. 이것은 점액성 물질이 대장균의 표면에 흡착하여 염분이 세포내로 침투하는 것을 차단하거나 용해된 상태에서 일정량의 염분을 흡착하여 대장균의 성장환경에서 염분의 농도를 낮추어 대장균의 성장 조건에 영향을 주었기 때문으로 생각된다.

이상의 결과에서 보는 바와 같이 젓갈에서 분리한 호염성 세균의 내염 기작은 자연 생태계에서 서식하는 다른 호염성 세균과 차이가 있는데, 이는 젓갈을 발효하는 반응기의 내부의 환경이 자연 생태계와 다르기 때문으로 생각된다. 즉, 자연 생태계의 염분 또는 강우, 건조한 기후, 물질의 대류, 토양입자의 염분흡착, 지하수의 유입 등에 따라 유동적이기 때문에 염분 또는 비 호염성 미생물의 생육이 가능한 농도에서 호염성 미생물만의 생육이 가능한 농도까지 다양하게 변화할 수 있을 것이다. 이에 따라 미생물의 적응 방법이 다양하게 발달할 수 있으나, 젓갈발효 반응기의 내부는 비 유동적이고 항상 일정한 염분 농도를 유지하기 때문에 미생물의 적응방법 또한 매우 제한적으로 발달할 수밖에 없을 것으로 생각된다. Ryu 등(18)은 *H. subglaciescola*의 wild type과 mutant의 NaCl에 대한 적응성의 차이를 비교하여 NaCl이 호염성 미생물의 대사와 삼투압 조절에 필수적인 물질로 작용할 수 있다는 제안을 하였으며, Vreeland 등(21)과 Vreeland(22)는 호염성 미생물이 고염의 환경에 적응하기 위해 세포내에 유기물, salt 등을 축적하거나 두 가지 물질을 모두 축적함으로써 고염의 환경에 적응할 수 있다고 보고하였다. 따라서, 젓갈과 같은 특정

한 환경에서 성장하는 미생물은 자연 생태계의 미생물들이 갖는 chemotactic regulation과 mobility을 이용한 환경변화에 대한 적응 또는 compatible solute, potassium ion 등을 이용한 세포내부의 삼투압의 조절 등 비교적 적극적인 환경변화에 대한 대응 방법의 대안으로 또는 세포 내부의 삼투압조절 방법 이외의 세포 외부에서 NaCl을 차단하는 물질을 축적하여 고염의 환경에 복합적으로 적응할 수 있는 기능이 발달하였을 것으로 생각한다.

참고문헌

1. 조덕제, 김우홍, 채수규, 홍종만, 1997, 식품분석. 지구문화사, 51-53.
2. Aharon, O. 1999. Bioenergetics aspects of halophilism. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 63, 334-348.
3. Brison, J., D. Courtois, and F. Denis. 1974. Microbiological study of a hypersaline lake in French Somaliland. *Appl. Microbiol.* 27, 819-822.
4. Cánovas, D., C. Vargas, L., N. Csonka, A. Ventosa, and J.J. Nieto. 1996. Osmoprotectants in *Halomonas elongata*: high-affinity betaine transport system and choline-betaine pathway. *J. Bacteriol.* 178: 7221-7226.
5. Cánovas, D., C. Vargas, L.N. Sconka, A. Ventosa, and J.J. Nieto. 1998. Synthesis of glycine betaine from exogenous choline in the moderately halophilic bacterium *Halomonas elongata*. *Appl. Environ. Microbiol.* 64: 4095-4097.
6. Choquet, C.G., I. Ahoshai, M. Klein, and D.J. Kushner. 1991. Formation and role of glycine betaine in the moderate halophile *Vibrio costicola*, site for action of Cl⁻ ions. *J. Bacteriol.* 171: 880-886.
7. Hirsch, P. 1980. Distribution and pure culture studies of morphologically distinct solar lake microorganism, P. 41-60. In A. Nissenbaum (ed.), *Hypersaline brines and evaporitic environments*. Elsevier/North-Holland Biomedical Press. Amsterdam, The Netherlands.
8. Hirsch, P. and B. Hoffmann. 1989. *Dichotomicrobium thermo-halophilum*, gen. Nov., spec. nov., budding prosthecate bacteria from the solar lake and some related strains. *Syst. Appl. Microbiol.* 11: 291-301.
9. Kushner, D.J. 1991. Growth and nutrition of halophilic bacteria, P.87-103. In R.H. Vreeland and L.I. Hochstein (ed.), *The biology of halophilic bacteria*. CRC Press, Inc., New York.
10. LeFevre, E. and L.A. Round. 1919. A preliminary report upon some halophilic bacteria. *J. Bacteriol.* 4: 177-182.
11. Lowt, S.E., M.K. Jain, and J.G. Zeikus. 1993. Biology, ecology, and biotechnological application of anaerobic bacteria adjusted to environmental stresses in temperature, pH, salinity, or substrates. *Microbiol. Rev.* 57: 451-509.
12. Martin, D.D., R.A. Ciulla, and M.F. Robert. 1999. Osmoadaptation in Archaea. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 1815-1825.

13. Marquez, M.C., A. Ventosa, and F. Ruiz-Berraquero. 1987. A taxonomic study of heterotrophic halophilic and non-halophilic bacteria from a solar saltern. *Gen. Microbiol.* 133: 202-208.
14. Miller, K.J. and S. Leschine. 1984. A halotolerant *Planococcus* from Antarctic dry valleys. *Curr. Microbiol.* 11: 205-210.
15. Mojica, F.J., E. Cisneros, C. Ferrer, F.R. Valera, and G. Juez. 1997. Osmotically induced response in representatives of halophilic prokaryotes, the bacterium *Halomonas elongata* and the archaeon *Haloferax volcanii*. *J. Bacteriol.* 179: 5471-5481.
16. Mullakhaubhai, M.F. and H. Larsen. 1975. *Halobacterium volcanii* spec. nov., a Dead Sea halobacterium with a moderate salt requirement. *Arch. Microbiol.* 104: 1231-1235.
17. Ollivire, B., P. Caumette, J.-L. Garcia, and R.A. Mah. 1994. Anaerobic bacteria from hypersaline environments. *Microbiol. Rev.* 58: 27-38.
18. Ryu, H.J., Y.J. Jeong, D.H. Park. 2004. Growth and physiological properties of wild type and mutants of *Halomonas subglaciescola* DH-1 in saline environment. *J. Microbiol.* 42: 174-180.
19. Skerman, V.B.D., V. McGowan, and P.H.A. Sneath (ed.). 1980. Approved list of bacterial names. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 30: 225-420.
20. Vreeland, R.H., C.D. Litchfield, E.I. Martin, and E. Elliot. 1980. *Halomonas elongata*, a new genus and species of extremely salt-tolerant bacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 30: 485-495.
21. Vreeland, R.H., B.D. Mierau, C.D. Litchfield, and E.L. Martin. 1983. relationship of the internal solute composition to the salt tolerance of *Halomonas elongata*. *Can. J. Microbiol.* 29: 407-414.
22. Vreeland, R.H. 1987. Mechanisms of halotolerance in microorganisms, *Crit. Rev. Microbiol.* 143: 311-356.

(Received October 12, 2004/Accepted November 22, 2004)

ABSTRACT : Physiology and Growth Properties of Halophilic Bacteria Isolated from Jeotgal (Salted Seafood)

Yoo Jeong Jung and Doo Hyun Park* (Department of Biological Engineering, Seokyeong University, Seoul 136-704, Korea)

Two species of halophilic bacteria were isolated from five salted seafoods and identified by 16S rDNA sequencing homology. One was identified as *Halomonas subglaciescola* and other four strains were belong to *Halomonas marina*. The identity of all isolates with standard organisms was above 95%. *H. subglaciescola*, *H. marina* IN, and *H. marina* SH-2 grew in salinity condition from 3% to 18% NaCl but growth of *H. marina* SQ and *H. marina* SH-1 grew in salinity environment from 8% to 17%. Maximum biomass of *H. subglaciescola*, *H. marina* IN, *H. marina* SQ, *H. marina* SH-1, and *H. marina* SH-2 growing in LB medium containing 15% NaCl were about 3.2, 4.5, 4.5, 5.7, and 4.2, however the maximum biomass in LB medium containing 5% NaCl were about 2.2, 1.1, 0.7, 0.2, and 2.4 as optical density at 660 nm, respectively. In scanning electron micrograph, unknown material (mucus) attached to outer membrane of all isolates was observed. When mucus isolated from halophilic bacterial cell was added to culture of *E. coli*, *E. coli* grew in medium containing 15% NaCl.