



## 배양기법을 활용한 제주도내 내산 및 호염성 미생물의 분리 및 특성 분석<sup>§</sup>

한빛<sup>1</sup> · 김민지<sup>1</sup> · 류다정<sup>1</sup> · 이기은<sup>2</sup> · 이병희<sup>2</sup> · 이은영<sup>3</sup> · 박수제<sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup>제주대학교 생물학과, <sup>2</sup>국립생물자원관 미생물자원과, <sup>3</sup>국립생물자원관 전시교육과

## Isolation and characterization of acid-resistant and halophilic bacteria using cultivation technique in Jeju island<sup>§</sup>

Bit Han<sup>1</sup>, Minji Kim<sup>1</sup>, Dajung Ryu<sup>1</sup>, Ki-Eun Lee<sup>2</sup>, Byoung-Hee Lee<sup>2</sup>, Eun-Young Lee<sup>3</sup>, and Soo-Je Park<sup>1\*</sup> 

<sup>1</sup>Department of Biology, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

<sup>2</sup>Microorganism Resources Division, <sup>3</sup>Exhibition & Education Division, National Institute of Biological Resources, Incheon 22689, Republic of Korea

(Received April 23, 2019; Revised July 26, 2019; Accepted August 21, 2019)

In this study, we isolated about 70 bacterial strains from terrestrial and marine environments in Jeju island, and finally, total 21 strains were obtained based on the 16S ribosomal RNA gene sequence analysis. These isolated strains were classified into 16 genera of 5 classes and were identified as an unrecorded species in the Republic of Korea. As a result of the substrate utilization and capability for polymer degradation, the physiological phenotypes for acid resistance and halophilic bacteria were observed to be distinct from each other, except for some acid resistance strains. This study might provide basic information on utilization for indigenous microorganisms.

**Keywords:** Jeju, acidophiles, bacteria, halophiles, marine sediment, soil

제주도는 사면이 해양으로 둘러싸여 있으며, 화산섬으로 곳곳을 비롯하여 내륙과는 다른 독특한 환경이 조성되어 있다. 이들 환경은 생태학적으로도 중요성이 매우 높아 토양을 비롯하여 동식물자원에 대한 조사가 지속적으로 이루어 지는 것에 비하여(KFRI, 2014), 미생물의 다양성 및 이들의 생리화학적 연구는 미비한 실정이다(NIBR, 2013; Choi *et al.*, 2016;

Kim *et al.*, 2017).

미생물은 전지구적 생태계 순환에 매우 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있고, 약  $\sim 10^{30}$  수가 존재한다고 알려져 있으며(Whitman *et al.*, 1998; Kallmeyer *et al.*, 2012), 최근 연구에 따르면  $10^{12}$  종이 존재할 것으로 예상되고 있다(Locey and Lennon, 2016). 이들 대부분은 실험실에서 배양이 되지 않는다. 최근 나고야 의정서의 발효로 인하여 국내를 비롯하여 국외에서는 미생물 자원을 확보하기 위하여 노력하고 있으며, 미생물 자원은 생물산업을 비롯하여 다양한 산업분야에서 폭넓게 활용될 수 있다. 분자생물학 등의 발전과 더불어 새로운 미생물 배양기술이 개발되어 보다 다양한 미생물들의 분리 및 새로운 생태학적 기능 등이 보고되고 있다(Overmann *et al.*, 2017). 본 연구에서는 제주도의 토양 및 해양 환경으로부터 각각 내산 및 호염성 미생물을 분리하고 그들의 생리화학적 특징을 분석하여 미래 생물산업의 주요 자원으로서의 응용성을 살펴보고자 하였다.

이를 위하여, 토양시료는 제주 조천 곳자왈(33°30'N, 126°43'E), 한림 한림공원 인근(33°22'N, 126°14'E), 고산 수월봉(33°17'N, 126°09'E) 및 봉개 중산간 지역(33°26'N, 126°37'E), 해양시료는 구좌 육상양식장 침전지(33°33'N, 126°48'E), 고산 수월봉 인근 해변(33°17'N, 126°09'E), 삼양 검은모래해변(33°31'N, 126°35'E) 및 한림 한림항 근처(33°24'N, 126°15'E)

\*For correspondence. E-mail: [sjpark@jejunu.ac.kr](mailto:sjpark@jejunu.ac.kr);  
Tel.: +82-64-753-3524; Fax: +82-64-756-3541

<sup>§</sup>Supplemental material for this article may be found at <http://www.kjom.org>.

로부터 시료를 확보하였으며, 시료의 오염 방지 등을 위하여 멸균된 conical tube에 담아 실험전까지 4°C에서 보관하였다. 호산성 미생물 분리는 산성배양 조건을 인위적으로 제공하였다. 이를 위하여 pH가 4.0으로 조절된 R2A 배양배지를 제작하였으며, 필요할 경우 인공담수배양배지(artificial freshwater medium, AFW)도 사용하였다(Koh *et al.*, 2015a). 호염성 미생물 분리하기 위하여, 염(salt) 배양 조건은 기본적으로 marine 2216 (BD) 및 인공해양배양배지(artificial seawater medium, ASW)를 사용하였다(Koh *et al.*, 2015b). 토양 및 해양퇴적물 시료는 각각 AFW와 ASW을 이용하였고, 연속희석법을 사용하여  $10^3$ 까지 희석하고 각각의 고형배지에 도말하여 30°C에서 호기적으로 14일간 배양하였다. 배양된 단일 균집들은, 형태와 색상을 바탕으로 육안으로 비교 및 선별하여 동일한 배지를 이용하여 희석평판법을 사용하여 순수배양체를 확보하였다. 본 연구에서는 산성과 염배양 조건으로 부터 분리배양된 미생물의 최초 명명시 호산성과 호염성 미생물로 각각 명칭하였다. 필요할 경우, 배양체의 세포 모양은 Gram staining kit (BD)를 사용하여 그람 염색 후 광학현미경(CX23, Olympus)으로 관찰하였으며, 이를 통하여, 순수배양 여부를 확인하였다. 배양체의 16S ribosomal RNA (rRNA) 유전자의 염기서열을 이용한 분자계통학적 분석을 위해, genomic DNA extraction kit (GeneAll Biotechnology Co., LTD.)를 이용하여 배양체의 genomic DNA (gDNA)를 추출하였다. 16S rRNA 유전자 증폭 및 확인은 Koh 등(2015a)의 방법을 사용하였다.

증폭된 PCR 산물은 Expin™ CleanUP SV kit (GeneAll Biotechnology Co., LTD.)를 이용하여 정제하였으며, 염기서열 분석은 Macrogen Inc.에서 진행하였다. 분석된 모든 염기서열의 편집은 Geneious v11 (Biomatters)를 이용하였고, 편집된 염기서열은 EzBioCloud (<http://www.ezbiocloud.net/eztaxon>)를 사용하여 상동성이 높은 미생물의 유전자 서열을 확보하였다. 16S rRNA 유전자 분석 결과를 바탕으로, 중복되는 미생물을 제외하여 생리생화학적 실험을 진행하였다. 최종 선택된 배양체의 온도, pH와 염농도의 생장 조건 실험은 R2A와 MA 액체 혹은 고체 배지를 이용하여 0~50°C (5°C 간격), pH 3.0~10.0 (pH 1 간격) 그리고 0~5% (w/v) NaCl까지의 범위에서 진행하였으며, 미생물의 생장은 균체 흡광도(600 nm, DS-11 Spectrophotometer)를 측정하였다. pH에 대한 생장 실험에서 사용된 버퍼(buffer)는 Kim 등(2017) 방법을 참조하였다. 분리된 배양체의 기질 특이성은 API 20NE, 32GN 그리고 ZYM (bioMérieux)을 이용하였다. G + C mol% 분석을 위하여, 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 위해 추출한 gDNA를 nucleoside 단위로 분해한 뒤, reverse-phase HPLC를 사용하

였다(Huang *et al.*, 2012).

본 연구를 통하여 제주도 토양 및 해양환경 시료로부터 약 70개의 순수배양체를 확보하였으며, 16S rRNA 유전자 염기서열을 바탕으로 중복되는 종(species)을 제외하고 최종 21개의 발균종(호산배양 조건, 8종; 호염배양 조건, 13종)의 미생물 배양체를 확보하였다(Table 1). 이들 미생물은 총 5강(Class) 16속(Genus)에 속하는 것으로 확인되었다. 이들 21개 발균종은 각각, 2종의 *Actinobacteria* 강, 2종의 *Alphaproteobacteria* 강, 5종의 *Bacilli* 강, 2종의 *Flavobacteriia* 강, 그리고 10종의 *Gammaproteobacteria* 강에 속하였다. 이들의 물리생화학적 특성은 Supplementary data Table S1과 S2에 각각 정리하였다.

호산 및 호염성 배양조건으로부터 배양된 종들의 16S rRNA 유전자 염기서열 분석 결과, 기배양되어 보고된 미생물들과 평균 99.66% (99.10~100%)로 확인되었다. 이를 바탕으로 본 연구를 통하여 배양된 미생물은 국내 미기록종으로 판단하였다(Koh *et al.*, 2015b; Kim *et al.*, 2017). 또한, 분리된 미생물들의 평균 G + C 함량은 51.64 mol% (32.60~71.20 mol%)였으며, 각각의 배양조건으로부터 배양된 미생물간의 명확한 G + C mol% 차이는 관찰되지 않았다. 21개 발균종의 미생물 중 5개 발균종을 제외하고 그람 염색 결과 모두 음성균으로 확인되었다. 다만, 호산성 배양조건으로부터 배양된 8종의 미생물의 pH 성장범위가 pH 4에서 10까지 확인되며, 일반적으로 pH 7 이상에서 성장할 수 없는 호산성 미생물이 아닌 산성환경에 저항성을 지닌 내산성 미생물로 판단하였다.

국내의 토성은 이미 오래전에 지각활동으로 만들어진 매우 안정화된 토양으로 해외에서 보고되고 있는 극산성 환경은 거의 조성되어 있지 않다. 다만, 금속 혹은 석탄 광산 및 인근 지역에는 철을 비롯한 중금속 등이 포함된 침출수로 인하여 낮은 pH 환경이 조성되어있다(Kim *et al.*, 2017). 더불어, 일반적으로 소나무 등 침엽수림의 경우 식생에 의하여 낮은 pH 토양이 확인되고 있다(Han *et al.*, 2008). 제주도의 경우는 중산간 지역에서 소나무를 포함하는 원시림을 찾을 수 있으며, 꽃자왈의 경우 독특한 식생환경으로 인하여 일반적인 토성과는 다른 물리적 특징을 지니고 있는 것으로 확인되고 있다. 제주 해양환경은, 최근 부영양화로 인하여 팽생이모자반, 파래 등의 조류로 인한 급격한 환경변화가 관찰되고 있다. 미생물들은 이러한 급격히 변화된 혹은 변화되는 환경에 적응하기 위하여 새로운 대사능력을 획득할 수 있으며, 이는 지구온난화 등을 포함하는 인류의 활동 등으로 인하여 미생물 서식지의 온도변화 혹은 높은 농도의 유기물 유입과 같은 급격한 환경 변화에 응용생태학적으로 적용할 수 있는 기초적 정보를 제공할 수 있을 것이다(Scofield *et al.*, 2015).

**Table 1.** Geological information and bacterial strains with closest neighbors for acid resistance and halophiles from Jeju island

| Isolation source | Strain     | Growth range |                                | Closest taxon                                      | 16S rRNA gene homology | GC mol%   | Classification (Phylum; Class; Order; Family)                                   | NIBR Accession number |
|------------------|------------|--------------|--------------------------------|--|------------------------|---|---|-----------------------|
|                  |            | pH (opt)     | NaCl (opt)                     |  |                        |   |   |                       |
| Soil             | h5         | 4-10<br>(7)  | 0-1<br>(0)                     | <i>Bacillus velezensis</i>                         | 99.93%                 | 37.0  | <i>Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae</i>                             | NIBRBAC000499677      |
|                  | h8         | 4-9<br>(7)   | 0-1<br>(0)                     | <i>Bacillus subtilis</i><br>subsp. <i>subtilis</i> | 99.93%                 | 37.0  | <i>Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae</i>                             | NIBRBAC000499681      |
|                  | h10        | 4-10<br>(7)  | 0-1<br>(0)                     | <i>Bacillus megaterium</i>                         | 100.00%                | 37.0  | <i>Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae</i>                             | NIBRBAC000499679      |
|                  | h11        | 5-9<br>(7)   | 0-0.5<br>(0)                   | <i>Cohnella xylanilytica</i>                       | 99.22%                 | 60.8  | <i>Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae</i>                             | NIBRBAC000499676      |
|                  | A4         | 5-9<br>(7)   | 0-1<br>(0)                     | <i>Pseudomonas granadensis</i>                     | 99.59%                 | 59.5  | <i>Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae</i>   | NIBRBAC000499678      |
|                  | D1         | 5-9<br>(7)   | 0-0.5<br>(0)                   | <i>Chryseobacterium taklimakanense</i>             | 99.24%                 | 58.3  | <i>Bacteroidetes; Flavobacteriia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae</i>       | NIBRBAC000499683      |
|                  | D2         | 5-8<br>(7)   | 0<br>(0)                       | <i>Aquamicrobium lusatiense</i>                    | 99.65%                 | 62.9  | <i>Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhizobiales; Phyllobacteriaceae</i>     | NIBRBAC000499682      |
|                  | AS3-9      | 5-9<br>(7)   | 0-1<br>(0)                     | <i>Pseudomonas monteilii</i>                       | 99.73%                 | 64.9  | <i>Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales; Pseudomonadaceae</i>   | NIBRBAC000499680      |
|                  | PS02       | 5-9<br>(7)   | 1-3<br>(3)                     | <i>Polaribacter marinaquae</i>                     | 99.79%                 | 32.6  | <i>Bacteroidetes; Flavobacteriia; Flavobacteriales; Flavobacteriaceae</i>       | NIBRBAC000501566      |
|                  | PS03       | 5-9<br>(7)   | 1-3<br>(3)                     | <i>Shewanella japonica</i>                         | 99.65%                 | 43.0  | <i>Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Alteromonadales; Shewanellaceae</i>     | NIBRBAC000501567      |
| PS04             | 5-8<br>(7) | 1-4<br>(3)   | <i>Vibrio astriarenae</i>      | 99.64%   | 45.2                   | <i>Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Vibrionales; Vibrionaceae</i> | NIBRBAC000501568  |                       |
| PS08             | 5-8<br>(7) | 1-5<br>(3)   | <i>Vibrio neocaledonicus</i>   | 99.72%   | 44.4                   | <i>Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Vibrionales; Vibrionaceae</i> | NIBRBAC000501569  |                       |
| PSW10            | 6-8<br>(7) | 1-3<br>(3)   | <i>Photobacterium swingsii</i> | 99.51%   | 43.0                   | <i>Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Vibrionales; Vibrionaceae</i> | NIBRBAC000501570  |                       |
| Marine sediment  | hb6        | 5-9<br>(7)   | 1-5<br>(3)                     | <i>Salinibacterium amurskyense</i>                 | 99.93%                 | 59.2  | <i>Actinobacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae</i>         | NIBRBAC000501571      |
|                  | hby        | 5-8<br>(7)   | 1-5<br>(3)                     | <i>Pseudoclavibacter helvolus</i>                  | 99.72%                 | 71.2  | <i>Actinobacteria; Actinobacteria; Micrococcales; Microbacteriaceae</i>         | NIBRBAC000501580      |
|                  | KC         | 5-9<br>(7)   | 1-3<br>(3)                     | <i>Idiomarina ramblicola</i>                       | 99.58%                 | 46.2  | <i>Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Alteromonadales; Idiomarinaceae</i>     | NIBRBAC000501572      |
|                  | THC        | 5-9<br>(7)   | 1-4<br>(3)                     | <i>Cobetia amphilecti</i>                          | 99.59%                 | 62.0  | <i>Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Oceanospirillales; Halomonadaceae</i>   | NIBRBAC000501573      |
|                  | GA1        | 5-9<br>(7)   | 1-3<br>(3)                     | <i>Oceanibulbus indolifex</i>                      | 100.00%                | 65.2  | <i>Proteobacteria; Alphaproteobacteria; Rhodobacterales; Rhodobacteraceae</i>   | NIBRBAC000501581      |
|                  | DJ1        | 5-9<br>(7)   | 1-3<br>(3)                     | <i>Bacillus berkeleyi</i>                          | 99.80%                 | 38.5  | <i>Firmicutes; Bacilli; Bacillales; Bacillaceae</i>                             | NIBRBAC000501574      |
|                  | DJ2        | 5-9<br>(7)   | 1-3<br>(3)                     | <i>Marinobacter sedimium</i>                       | 99.10%                 | 61.6  | <i>Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Alteromonadales; Alteromonadaceae</i>   | NIBRBAC000501575      |
|                  | DJ4        | 5-9<br>(7)   | 1-3<br>(3)                     | <i>Microbulbifer hydrolyticus</i>                  | 99.45%                 | 55.0  | <i>Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Cellvibrionales; Microbulbiferaceae</i> | NIBRBAC000501576      |

본 연구를 통하여 확보한 발균종들의 생리생화학적 특성들은, 국내의 특수환경으로부터 국내미생물자원의 다양성 확보 및 분리에 있어 매우 중요한 기초적 정보를 제공할 수 있을 것이다. 또한, 이들 미생물의 유전체 분석을 통하여 산업적으로

보다 유용한 유전자원을 검색 및 활용할 수 있는 기회가 제공될 것이다. 본 연구를 통하여 분리된 21종의 미생물들의 특성에 대한 보다 자세한 분석결과는 아래와 같다.

*Firmicutes* (문); *Bacilli* (강); *Bacillales* (목); *Bacillaceae* (과)***Bacillus velezensis* strain h5**

h5균주는 그람 양성을 나타내었으며, 막대모양이다. 콜로니의 색은 흰색이다. 성장 온도는 30°C였으며 R2A 배지에서 잘 성장하였다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Bacillus velezensis* CR-502와 99.9% 상동성을 보였고, DNA G + C 함량은 37 mol%였다.

N-acetyl-D-glucosamine,  $\beta$ -glucosidase (esculin hydrolysis), adipate, malate, citrate, D-glucose, L-arbinose,  $\beta$ -galactosidase (PNPG) 등에 양성 반응을 보였고, D-maltose, protease (gelatin hydrolysis), arginine dihydrolase, nitrate 환원 ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ) 등에 음성 반응을 보였다. 또한, lipase (C14), valine arylamidase,  $\alpha$ -mannosidase, trypsin,  $\beta$ -glucuronidase 등에 음성 반응이 관찰되었다. 반면 cystine arylamidase, leucine arylamidase, acid phosphatase, esterase (C4), naphtol-AS-BI-phosphohydrolase, esterase lipase (C8) 등에 양성 반응을 나타내었다.

***Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* strain h8**

h8균주는 그람 양성을 나타내었고 막대모양이며 콜로니의 색은 흰색이다. 성장 온도는 30°C였으며 R2A 배지에서 잘 성장하였다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Bacillus subtilis* subsp. *subtilis* ATCC 6051과 99.9% 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 37 mol%이다.

N-acetyl-D-glucosamine,  $\beta$ -glucosidase (esculin hydrolysis),  $\beta$ -galactosidase (PNPG) 등에 양성 반응을 보였고, caprate, phenyl-acetate, indole 생성, arginine dihydrolase, nitrate 환원 ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ) 등에 음성 반응을 보였다. Esterase (C4), naphtol-AS-BI-phosphohydrolase, esterase lipase (C8),  $\alpha$ -galactosidase,  $\alpha$ -glucosidase 등에 양성 반응을, lipase (C14), valine arylamidase,  $\alpha$ -mannosidase, trypsin,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -fucosidase 등에는 음성 반응을 나타내었다.

***Bacillus megaterium* strain h10**

h10균주는 그람 양성을 나타내었으며, 막대모양이다. 콜로니의 색은 흰색이다. 성장 온도는 30°C였으며 R2A 배지에서 잘 성장하였다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Bacillus megaterium* ATCC 14581과 100%의 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 37 mol%이었다.

N-acetyl-D-glucosamine,  $\beta$ -glucosidase (esculin hydrolysis), D-glucose, L-arbinose,  $\beta$ -galactosidase (PNPG) 등에 양성 반응을 보였고, caprate, phenyl-acetate, indole 생성, arginine dihydrolase, Nitrate 환원 ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ) 등에 음성 반응을 보

였다. Esterase (C4), naphtol-AS-BI-phosphohydrolase, esterase lipase (C8),  $\alpha$ -galactosidase,  $\alpha$ -glucosidase 등에 양성 반응을, lipase (C14), trypsin,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -fucosidase 등에는 음성 반응을 나타내었다.

***Cohnella xylanilytica* strain h11**

h11균주는 그람 양성을 나타내었으며, 막대모양이다. 콜로니의 색은 흰색이다. 성장 온도는 30°C였으며 R2A 배지에서 잘 성장하였다. h11은 *Cohnella xylanilytica* MX21-2와의 16S rRNA 유사도가 99.2%였다. DNA G + C 함량은 60.8 mol%로 관찰되었다.

$\beta$ -Galactosidase (PNPG),  $\beta$ -glucosidase (esculin hydrolysis), D-glucose는 양성 반응을 보였으나 phenyl-acetate, nitrate 환원 ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), protease (gelatin hydrolysis), N-acetyl-D-glucosamine, malate, citrate는 음성 반응을 보였다. D-Glucose는 탄소원으로 이용가능하나, D-ribose, L-serine, L-arabinose, glycogen L-fucose, D-sorbitol, citrate, L-histidine, L-proline, N-acetyl-D-glucosamine, acetate는 탄소원으로 이용하지 못한다.  $\alpha$ -Gglucosidase,  $\beta$ -galactosidase, naphtol-AS-BI-phosphohydrolase, esterase lipase (C8),  $\alpha$ -galactosidase, esterase (C4)는 양성 반응을 보였으나, alkaline phosphatase, acid phosphatase, cystine arylamidase,  $\beta$ -glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase, lipase (C14), valine arylamidase, trypsin,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -fucosidase는 음성 반응을 보였다.

***Bacillus berkeleyi* strain DJ1**

DJ1 균주는 그람 양성이며, 막대모양이다. 콜로니의 색은 흰색이다. 성장 온도는 30°C였으며 R2A 배지에서 잘 성장하였다. DJ1은, 16S rRNA 유전자 서열 분석결과, *Bacillus berkeleyi* KCTC 12718와 99.8% 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 38.5 mol%로 관찰되었다.

Nitrate 환원 ( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), D-glucose, D-mannitol, malate, citrate, phenyl-acetate는 양성 반응을 보였으나, indole 생성, glucose acidification, arginine dihydrolase,  $\beta$ -galactosidase (PNPG), N-acetyl-D-glucosamine, caprate, adipate는 음성 반응을 보였다. D-Glucose, L-histidine, 2-ketogluconate, L-proline, N-acetyl-D-glucosamine, glycogen, L-serine는 탄소원으로 이용가능하지만, D-mannitol, citrate, malonate, acetate, lactate, 5-ketogluconate, 3-hydroxy-benzoate는 탄소원으로 이용하지 못한다. Alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), naphtol-AS-BI-phosphohydrolase는 양성 반응을 보였으나 lipase (C14), leucine arylamidase, valine

arylamidase, cystine arylamidase, trypsin, acid phosphatase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase,  $\alpha$ -mannosidase,  $\alpha$ -fucosidase는 음성 반응을 보였다.

*Firmicutes* (문); *Bacilli* (강); *Bacillales* (목); *Paenibacillaceae* (과)

*Cohnella xylanilytica* strain h11

h11균주는 그람 양성을 나타내었으며, 막대모양이다. 콜로니의 색은 흰색이다. 성장 온도는 30°C였으며 R2A 배지에서 잘 성장하였다. h11은 *Cohnella xylanilytica* MX21-2와의 16S rRNA 유사도가 99.2%였다. DNA G + C 함량은 60.8 mol%로 관찰되었다.

$\beta$ -Galactosidase (PNPG),  $\beta$ -glucosidase (esculin hydrolysis), D-glucose는 양성 반응을 보였으나 phenyl-acetate, nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), protease (gelatin hydrolysis), N-acetyl-D-glucosamine, malate, citrate는 음성 반응을 보였다. D-glucose는 탄소원으로 이용가능하나, D-ribose, L-serine, L-arabinose, glycogen L-fucose, D-sorbitol, citrate, L-histidine, L-proline, N-acetyl-D-glucosamine, acetate는 탄소원으로 이용하지 못한다.  $\alpha$ -Glucosidase,  $\beta$ -galactosidase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, esterase lipase (C8),  $\alpha$ -galactosidase, esterase (C4)는 양성 반응을 보였으나, alkaline phosphatase, acid phosphatase, cystine arylamidase,  $\beta$ -glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase, lipase (C14), valine arylamidase, trypsin,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -fucosidase는 음성 반응을 보였다.

*Proteobacteria* (문); *Gammaproteobacteria* (강); *Pseudomonadales* (목); *Pseudomonadaceae* (과)

*Pseudomonas granadensis* strain A4

A4균주는 그람 음성이며, 운동성이 있으며, 간균 형태이다. 콜로니 형태는 circular, raised, entire이며, R2A, 30°C에서 3일 배양하며 크림색이다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Pseudomonas granadensis* F-278,770와 99.59%의 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 59.5 mol%였다.

Arginine dihydrolase에 양성 반응이고, nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), indole 생성, glucose acidification,  $\beta$ -glucosidase, protease,  $\beta$ -galactosidase, D-mannose 등에 음성 반응이다. Citrate, L-histidine, 4-hydroxy-benzoate을 탄소원으로 이용 가능하며, D-mannitol, D-glucose, salicin, D-melibiose, L-fucose, D-sorbitol, L-arabinose, propionate, caprate, valerate 등

은 탄소원으로 이용하지 못한다. Alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), lipase (C14), leucine arylamidase, valine arylamidase 등의 활성을 지니고 있었다.

*Pseudomonas monteili* strain AS3-9

AS3-9균주는 그람 음성이며, 운동성이 있으며, 간균 형태이다. 콜로니 형태는 circular, raised, entire이며, R2A, 30°C에서 2일 배양하며 흰색이다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Pseudomonas monteili* ATCC 700476와 99.73%의 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 64.9 mol%이다.

Arginine dihydrolase, urease, D-glucose, L-arabinose, gluconate, caprate에 양성 반응이고, nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), indole 생성, glucose acidification,  $\beta$ -glucosidase, protease,  $\beta$ -galactosidase, D-mannose, D-mannitol에 음성 반응이다. D-Glucose, L-arabinose, propionate, citrate, L-histidine, 2-ketogluconate, 4-hydroxy-benzoate, L-proline, D-ribose, inositol을 탄소원으로 이용 가능하며, D-mannitol, salicin, D-melibiose, L-fucose, D-sorbitol, caprate, valerate, L-rhamnose, N-acetyl-D-glucosamine, D-sucrose, D-maltose, itaconate, suberate, malonate, acetate, lactate은 탄소원으로 이용하지 못한다. Alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, valine arylamidase, acid phosphatase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase은 양성, cystine arylamidase, trypsin,  $\alpha$ -chymotrypsin,  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase은 음성으로 관찰되었다.

*Bacteroidetes* (문); *Flavobacteriia* (강); *Flavobacteriales* (목); *Flavobacteriaceae* (과)

*Chryseobacterium taklimakanense* strain D1

D1균주는 그람 음성이며, 운동성이 있으며, 간균 형태이다. 콜로니 형태는 circular, raised, entire이며, R2A, 30°C에서 2일 배양하며 크림색이다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Chryseobacterium taklimakanense* NCTC 13530와 99.24%의 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 58.3 mol%이다.

Glucose acidification, arginine dihydrolase, urease, protease (gelatin hydrolysis),  $\beta$ -galactosidase (PNPG), D-glucose, L-arabinose, D-mannose, D-mannitol, N-acetyl-D-glucosamine, D-maltose, gluconate, caprate에 양성 반응이고, nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), indole 생성,  $\beta$ -glucosidase에 음성 반응이다. D-Mannitol, D-glucose, L-fucose, D-sorbitol, L-arabinose, propionate, L-proline, L-rhamnose, N-acetyl-D-glucosamine, D-ribose, inositol, D-sucrose, D-maltose을 탄소원으로 이용

가능하며, salicin, D-melibiose, 3-hydroxy-butyrate, 4-hydroxy-benzoate, itaconate, suberate, malonate은 탄소원으로 이용하지 못한다. Alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, valine arylamidase, cystine arylamidase, trypsin 등의 양성 반응이 관찰되었다.

#### *Polaribacter marinaquae* strain PS02

PS02균주는 그람 음성이며, 운동성이 있으며, 간균 형태이다. 콜로니 형태는 circular, raised, entire이며, MA, 30°C에서 2일 배양하며 노란색이다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Polaribacter marinaquae* RZW3-2와 99.79%의 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 32.6 mol%이다.

Protease, urease, N-acetyl-D-glucosamine에 양성 반응이고, nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), indole 생성, glucose acidification, arginine dihydrolase,  $\beta$ -glucosidase (esculin hydrolysis),  $\beta$ -galactosidase (PNPG), D-glucose, L-arabinose, citrate, phenylacetate에 음성 반응이다. L-arabinose, caprate, inositol, malonate, acetate을 탄소원으로 이용 가능하며, D-mannitol, D-glucose, salicin, D-melibiose, L-fucose, D-sorbitol, 2-ketogluconate, 3-hydroxy-butyrate, 4-hydroxy-benzoate, L-proline, L-rhamnose, N-acetyl-D-glucosamine, D-ribose은 탄소원으로 이용하지 못한다. Alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), lipase (C14), leucine arylamidase, valine arylamidase, trypsin,  $\alpha$ -chymotrypsin, acid phosphatase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase의 활성이 양성으로 관찰되었다.

*Proteobacteria* (문); *Alphaproteobacteria* (강); *Rhizobiales* (목); *Phyllobacteriaceae* (과)

#### *Aquamicrobium lusatiense* strain D2

D2는 그람 음성이며, 운동성이 있으며, 간균 형태이다. 콜로니 형태는 circular, raised, entire이며, R2A, 30°C에서 2일 배양하며 흰색이다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Aquamicrobium lusatiense* S1와 99.65%의 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 62.9 mol%이다.

Arginine dihydrolase, urease, D-glucose, L-arabinose, D-mannose, D-mannitol, N-acetyl-D-glucosamine, D-maltose, gluconate, caprate, adipate, malate에 양성 반응이고, indole 생성,  $\beta$ -glucosidase에 음성 반응이다. D-Mannitol, D-glucose, acetate, lactate, L-alanine을 탄소원으로 이용 가능하며, salicin, D-melibiose, L-fucose, D-sorbitol, L-arabinose, caprate, citrate, 2-ketogluconate, 4-hydroxy-benzoate, L-rhamnose, D-ribose, D-sucrose, D-maltose, itaconate은 탄소원으로 이용하지 못한

다. Alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), lipase (C14), leucine arylamidase, valine arylamidase, cystine arylamidase, trypsin 등의 양성 반응이 관찰되었다.

*Proteobacteria* (문); *Gammaproteobacteria* (강); *Alteromonadales* (목); *Idiomarinae* (과)

#### *Idiomarina ramblicola* strain KC

KC균주는 그람 음성이며, 막대모양이다. 콜로니의 색은 흰색이다. 성장 온도는 30°C였으며 MA 배지에서 잘 성장하였다. 16S rRNA 유전자 분석결과 *Idiomarina ramblicola* R22와 99.6% 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 46.2 mol%로 관찰되었다.

Protease (gelatin hydrolysis)는 양성 반응을 보였으나,  $\beta$ -galactosidase (PNPG),  $\beta$ -glucosidase (esculin hydrolysis), D-glucose, caprate, phenylacetate, indole 생성, arginine dihydrolase, nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), urease, adipate, glucose acidification, citrate, L-arabinose, D-mannitol은 음성 반응을 보였다. D-Glucose, D-ribose, glycogen, malonate, L-histidine, N-acetyl-D-glucosamine, acetate는 음성 반응을 보였다. Naphthol-AS-BI-phosphohydrolase, esterase lipase (C8), esterase (C4), leucine arylamidase, alkaline phosphatase, acid phosphatase는 양성 반응을 보였으나,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\alpha$ -galactosidase, cystine arylamidase,  $\beta$ -glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase, lipase (C14), valine arylamidase는 음성 반응을 보였다.

*Proteobacteria* (문); *Gammaproteobacteria* (강); *Oceanospirillales* (목); *Halomonadaceae* (과)

#### *Cobetia amphilecti* strain THC

THC균주는 그람 음성이고, 막대모양이다. 콜로니의 색은 흰색이다. 성장 온도는 30°C였으며 MA 배지에서 잘 성장하였다. *Cobetia amphilecti* CCUG 49560와 99.6% 16S rRNA 유전자 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 62.0 mol%로 관찰되었다.

Citrate,  $\beta$ -galactosidase (PNPG), D-glucose, gluconate, D-maltose, malate는 양성 반응을 보였으나, protease (gelatin hydrolysis),  $\beta$ -glucosidase (esculin hydrolysis), caprate, phenylacetate, indole 생성, arginine dihydrolase, nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), glucose acidification, N-acetyl-D-glucosamine, L-arabinose는 음성 반응을 보였다. D-Ribose, malonate, lactate, acetate, D-glucose, L-serine, D-mannitol, D-maltose는 탄소원으로 이용

가능하나, citrate, L-histidine, N-acetyl-D-glucosamine, caprate, valerate, salicin, L-rhamnose, itaconate, 5-ketogluconate는 탄소원으로 이용하지 못한다. Naphtol-AS-BI-phosphohydrolase, esterase lipase (C8), esterase (C4), leucine arylamidase, alkaline phosphatase, acid phosphatase,  $\alpha$ -glucosidase는 양성 반응을 보였으나,  $\beta$ -galactosidase,  $\alpha$ -galactosidase,  $\alpha$ -chymotrypsin, cystine arylamidase,  $\beta$ -glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase, trypsin,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -fucosidase는 음성 반응을 보였다.

*Proteobacteria* (문); *Alphaproteobacteria* (강); *Rhodobacterales* (목); *Rhodobacteraceae* (과)

#### *Oceanibulbus indolifex* strain GA1

GA1균주는 그람 음성을 나타내었으며, 막대모양이다. 콜로니의 색은 흰색이다. 성장 온도는 30°C였으며 MA 배지에서 잘 성장하였다. *Oceanibulbus indolifex* HEL-45과 100% 16S rRNA 유전자 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 65.2 mol%로 관찰되었다.

Nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), indole 생산, glucose acidification,  $\beta$ -glucosidase (esculin hydrolysis), protease (gelatin hydrolysis),  $\beta$ -galactosidase (PNPG), N-acetyl-D-glucosamine, caprate, adipate, malate, citrate, phenyl-acetate는 음성 반응을 보였다. D-Mannitol, D-glucose, D-sorbitol, L-arabinose, propionate, caprate, valerate, citrate, L-histidine, N-acetyl-D-glucosamine, acetate, glycogen, 3-hydroxy-benzoate, L-serine는 음성 반응을 보였다. Esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase는 양성 반응을 보였으나 lipase (C14), cystine arylamidase, trypsin,  $\alpha$ -chymotrypsin,  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase,  $\alpha$ -fucosidase는 음성 반응을 보였다.

*Proteobacteria* (문); *Gammaproteobacteria* (강); *Alteromonadales* (목); *Alteromonadaceae* (과)

#### *Marinobacter sediminum* strain DJ2

DJ2균주는 그람 음성을 나타내었으며, 막대모양이다. 콜로니의 색은 흰색이다. 성장 온도는 30°C였으며 MA 배지에서 잘 성장하였다. 16S rRNA 유전자 상동성 분석결과, *Marinobacter sediminum* R65과 99.1%였다. DNA G + C 함량은 61.6 mol%로 관찰되었다.

Nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ),  $\beta$ -glucosidase (esculin hydrolysis), protease (gelatin hydrolysis),  $\beta$ -galactosidase (PNPG), D-glucose, caprate, adipate, malate, citrate, phenyl-acetate는

음성 반응을 보였다. Propionate, 3-hydroxy-butyrate, acetate는 탄소원으로 이용가능하나, D-mannitol, D-glucose, salicin, D-melibiose, L-fucose, N-acetyl-D-glucosamine, D-ribose, inositol, D-sucrose, D-maltose, glycogen, 3-hydroxy-benzoate, L-serine는 탄소원으로 이용하지 못한다. Alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, acid phosphatase, naphtol-AS-BI-phosphohydrolase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase는 양성 반응을 보였으나 lipase (C14), valine arylamidase, cystine arylamidase, trypsin,  $\alpha$ -chymotrypsin,  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase,  $\alpha$ -mannosidase,  $\alpha$ -fucosidase는 음성 반응을 보였다.

*Proteobacteria* (문); *Gammaproteobacteria* (강); *Cellvibrionales* (목); *Microbulbiferaceae* (과)

#### *Microbulbifer hydrolyticus* strain DJ4

DJ4균주는 그람 음성이며, 막대모양이다. 콜로니의 색은 흰색이다. 성장 온도는 30°C였으며 MA 배지에서 잘 성장하였다. DJ4의 16S rRNA 유전자 상동성 분석결과, *Microbulbifer hydrolyticus* IRE-31와 99.5%였다. DNA G + C 함량은 55 mol%로 관찰되었다.

N-acetyl-D-glucosamine, D-maltose, malate는 양성 반응을 보였으나, nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), indole 생성, glucose acidification, arginine dihydrolase, urease,  $\beta$ -glucosidase (esculin hydrolysis), protease (gelatin hydrolysis),  $\beta$ -galactosidase (PNPG), D-glucose, L-arabinose, D-mannose, D-mannitol, glucuronate, caprate, adipate, citrate, phenyl-acetate는 음성 반응을 보였다. 3-Hydroxy-butyrate는 양성 반응을 보였으나 salicin, D-melibiose, L-fucose, D-sorbitol, D-ribose, malonate, lactate, 5-ketogluconate는 음성 반응을 보였다. Alkaline phosphatase, leucine arylamidase, valine arylamidase, acid phosphatase, naphtol-AS-BI-phosphohydrolase는 양성 반응을 보였으나 cystine arylamidase, trypsin,  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase는 음성 반응을 보였다.

*Proteobacteria* (문); *Gammaproteobacteria* (강); *Alteromonadales* (목); *Shewanellaceae* (과)

#### *Shewanella japonica* strain PS03

PS03균주는 그람 음성이며, 운동성이 있고, 간균 형태이다. 콜로니 형태는 circular, raised, entire이며, MA 배지에서, 30°C



에서 2일 배양하며 분홍색이다. Oxidase는 음성이고 catalase는 양성이다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Shewanella japonica* ATCC BAA-316와 99.65%의 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 43.0 mol%이다.

$\beta$ -Glucosidase (esculin hydrolysis), protease (gelatin hydrolysis), D-mannose, D-mannitol, N-acetyl-D-glucosamine에 양성 반응이고, nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), indole 생산, glucose acidification, arginine dihydrolase, phenyl-acetate에 음성 반응이다. Propionate, L-histidine, malonate을 탄소원으로 이용이 가능하며, D-mannitol, D-glucose, salicin, D-melibiose, L-fucose, D-sorbitol, L-arabinose, 4-hydroxy-benzoate, L-proline, L-rhamnose, N-acetyl-D-glucosamine, D-ribose, inositol, D-sucrose, D-maltose, itaconate, suberate은 탄소원으로 이용하지 못한다. Alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), trypsin, a-chymotrypsin, acid phosphatase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase은 양성,  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase,  $\alpha$ -mannosidase,  $\alpha$ -fucosidase은 음성으로 관찰되었다.

*Proteobacteria* (문); *Gammaproteobacteria* (강); *Vibrionales* (목); *Vibrionaceae* (과)

***Vibrio astriarenae* strain PS04**

PS04균주는 그람 음성이고, 운동성이 있으며, 간균 형태이다. 콜로니 형태는 circular, raised, entire이며, MA 배지에서, 30°C에서 2일 배양하며 크림색이다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Vibrio astriarenae* C7와 99.64%의 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 45.2 mol%이다.

$\beta$ -Glucosidase, D-mannitol, malate에 양성 반응이고, nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), indole 생산, glucose acidification, arginine dihydrolase, urease, protease (gelatin hydrolysis),  $\beta$ -galactosidase (PNPG), D-glucose, L-arabinose, D-mannose에 음성 반응이다. API 32GN test 결과, D-mannitol, D-glucose, L-fucose, D-ribos, inositol, lactate 등을 탄소원으로 이용 가능하며, D-sorbitol, L-arabinose, propionate, caprate, valerate, citrate, L-histidine, 2-ketogluconate, 3-hydroxy-butyrate, 4-hydroxy-benzoate, L-proline, L-rhamnose, N-acetyl-D-glucosamine은 탄소원으로 이용하지 못한다. Alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, valine arylamidase, acid phosphatase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase 등은 양성,  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase,  $\alpha$ -

mannosidase,  $\alpha$ -fucosidase 등은 음성으로 확인되었다.

***Vibrio neocaledonicus* strain PS08**

PS08균주는 그람 음성이며, 운동성이 있고, 간균 형태이다. 콜로니 형태는 circular, raised, entire이며, MA 배지에서, 30°C에서 2일 배양하며 크림색이다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Vibrio neocaledonicus* KJ841877와 99.72%의 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 44.4 mol%이다.

Nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), arginine dihydrolase, L-arabinose, gluconate에 양성 반응이고, indole 생성, glucose acidification, urease,  $\beta$ -glucosidase (esculin hydrolysis), protease (gelatin hydrolysis),  $\beta$ -galactosidase (PNPG), D-glucose, N-acetyl-D-glucosamine, D-maltose에 음성 반응이다. D-Mannitol, malonate, L-alanine을 제외하고 모두 음성이었다. Alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), lipase (C14), leucine arylamidase, valine arylamidase, trypsin,  $\alpha$ -chymotrypsin, acid phosphatase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase은 양성,  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase,  $\alpha$ -mannosidase,  $\alpha$ -fucosidase은 음성으로 관찰되었다.

***Photobacterium swingsii* strain PSW10**

PSW10균주는 그람 음성이고, 운동성이 있으며, 간균 형태이다. 콜로니 형태는 circular, raised, entire이며, MA 배지에서, 30°C에서 2일 배양하며 노란색이다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Photobacterium swingsii* CAIM 1393와 99.51%의 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 43.0 mol%이다.

$\beta$ -Galactosidase, gluconate, adipate에 양성, arginine dihydrolase, urease, D-glucose, L-arabinose, D-mannitol, nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), indole 생산, glucose acidification,  $\beta$ -glucosidase, protease, D-mannose 등에 음성 반응이다. D-Mannitol, citrate, D-sucrose, acetate, 5-ketogluconate을 탄소원으로 이용 가능하며, D-glucose, salicin, D-melibiose, L-fucose, D-sorbitol, L-arabinose, propionate, caprate, valerate, L-histidine, 2-ketogluconate, 3-hydroxy-butyrate, 4-hydroxy-benzoate, L-proline, L-rhamnose, N-acetyl-D-glucosamine, D-ribose, inositol, D-maltose, itaconate, suberate, malonate은 탄소원으로 이용하지 못한다. Alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), lipase (C14), leucine arylamidase, valine arylamidase, cystine arylamidase, trypsin,  $\alpha$ -chymotrypsin, acid phosphatase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase,  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -glucosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase,  $\alpha$ -mannosidase 등이 양성으로



나타났다.

*Actinobacteria* (문); *Actinobacteria* (강); *Micrococcales* (목); *Microbacteriaceae* (과)

#### *Salinibacterium amurskyense* strain hb6

hb6균주는 그람 음성이며, 운동성이 있으며, 간균 형태이다. 콜로니 형태는 circular, raised, entire이며, MA 배지에서, 30°C에서 2일 배양하며 노란색이다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Salinibacterium amurskyense* JCM 12362와 99.93%의 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 59.2 mol%이다.

Nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), protease,  $\beta$ -galactosidase, D-glucose, malate, citrate에 양성이고, arginine dihydrolase, urease, L-arabinose, D-mannitol, indole 생산, glucose acidification,  $\beta$ -glucosidase, D-mannose에 음성 반응이다. D-Glucose, propionate, citrate, L-rhamnose, malonate, acetate, lactate을 탄소원으로 이용 가능하며, salicin, D-melibiose, L-fucose, D-sorbitol, L-arabinose, caprate, valerate, L-histidine, 2-ketogluconate, 3-hydroxy-butyrate, 4-hydroxy-benzoate, L-proline, inositol, D-sucrose, D-maltose, itaconate, suberate은 탄소원으로 이용하지 못한다. Esterase (C4), esterase lipase (C8), leucine arylamidase, valine arylamidase, cystine arylamidase, acid phosphatase, naphthol-AS-BI-phosphohydrolase은 양성,  $\alpha$ -galactosidase,  $\beta$ -galactosidase,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase등은 음적으로 관찰되었다.

#### *Pseudoclavibacter helvolus* strain hby

hby균주는 그람 음성이며, 운동성이 있으며, 간균 형태이다. 콜로니 형태는 circular, raised, entire이며, MA 배지에서, 30°C에서 2일 배양하며 노란색이다. 16S rRNA 유전자 서열 분석결과 *Pseudoclavibacter helvolus* ATCC 13715와 99.72%의 상동성을 보였다. DNA G + C 함량은 71.2 mol%이다.

Arginine dihydrolase,  $\beta$ -galactosidase, D-glucose에 양성 반응이고, urease, L-arabinose, D-mannitol, nitrate 환원( $\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^-$ ), indole 생성, glucose acidification,  $\beta$ -glucosidase, protease, D-mannose에 음성 반응이다. L-rhamnose, N-acetyl-D-glucosamine, D-ribose, inositol, acetate, lactate, L-alanine을 탄소원으로 이용 가능하며, caprate, valerate, citrate, 3-hydroxy-butyrate, 4-hydroxy-benzoate, L-proline, itaconate, suberate, malonate은 탄소원으로 이용하지 못한다. Alkaline phosphatase, esterase (C4), esterase lipase (C8), lipase (C14), leucine arylamidase, valine arylamidase, cystine arylamidase, acid phosphatase,  $\beta$ -galactosidase, N-acetyl- $\beta$ -glucosaminidase은 양성,

trypsin,  $\beta$ -glucuronidase,  $\alpha$ -glucosidase,  $\beta$ -glucosidase,  $\alpha$ -mannosidase,  $\alpha$ -fucosidase은 음적으로 관찰되었다.

## 적 요

본 연구에서는 제주 지역의 토양 및 해양 환경으로부터 약 70주의 미생물들을 분리하였으며, 16S ribosomal RNA 유전자 분석을 통하여 최종 21종의 미생물을 발굴하였다. 이들 미생물들은 5 강(Class) 16 속(Genus)에 속하며, 모두 국내 미기록종으로 확인되었다. 분리된 미생물의 기질 특이성 및 고분자 물질 분해능을 바탕으로 내산성과 호염성 미생물들의 생리 활성 표현형은 서로 구별되는 것으로 관찰되었다. 본 연구결과는, 국내 미생물 자원활용에 기초적 정보를 제공할 것으로 기대된다.

## 감사의 말

본 논문은 환경부의 재원으로 국립생물자원관의 특수환경 미생물 자원 발굴 및 특성분석(No. NIBR201701107과 NIBR201801106)의 지원을 받아 수행하였습니다.

## References

- Choi H, Koh HW, Kim H, Chae JC, and Park SJ. 2016. Microbial community composition in the marine sediments of Jeju Island: Next-generation sequencing surveys. *J. Microbiol. Biotechnol.* **26**, 883–890.
- Han S, Cho M, and Whang KS. 2008. Comparison of phylogenetic characteristics of bacterial populations in a quercus and pin humus forest soil. *Korean J. Microbiol.* **44**, 237–243.
- Huang Q, Kaiser K, and Benner R. 2012. A simple high performance liquid chromatography method for the measurement of nucleobases and the RNA and DNA content of cellular material. *Limnol. Oceanogr-Meth.* **10**, 608–616.
- Kallmeyer J, Pockalny R, Adhikari RR, Smith DC, and D'Hondt S. 2012. Global distribution of microbial abundance and biomass in subseafloor sediment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **109**, 16213–16216.
- KFRI. 2014. Ecology and Culture on the Gotjawal (Lava Forests). Korea Forest Research Institute.
- Kim YE, Koh HW, Kim SJ, Do KT, and Park SJ. 2017. Isolation and characterization in the exhausted mine and Jeju Gotjawal. *Korean J. Microbiol.* **53**, 309–315.

- Koh HW, Hong H, Min UG, Kang MS, Kim SG, Na JG, Rhee SK, and Park SJ.** 2015a. *Rhodanobacter aciditrophus* sp. nov., an acidophilic bacterium isolated from mine wastewater. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **65**, 4574–4579.
- Koh HW, Kim SJ, Rhee SK, and Park SJ.** 2015b. Isolation and characterization analysis of the halophilic archaea isolated from solar saltern, Gomso. *Korean J. Microbiol.* **51**, 427–434.
- Locey KJ and Lennon JT.** 2016. Scaling laws predict global microbial diversity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **113**, 5970–5975.
- NIBR.** 2013. Studies on Species Diversity of Microorganisms in Mountain Wetlands and Gotjawal. National Institute of Biological Resources.
- Overmann J, Abt B, and Sikorski J.** 2017. Present and future of culturing bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* **71**, 711–730.
- Scofield V, Jacques SM, Guimaraes JR, and Farjalla VF.** 2015. Potential changes in bacterial metabolism associated with increased water temperature and nutrient inputs in tropical humic lagoons. *Front. Microbiol.* **6**, 310.
- Whitman WB, Coleman DC, and Wiebe WJ.** 1998. Prokaryotes: The unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **95**, 6578–6583.