

제주도 항구 인근 토양으로부터 호기성 호염성 세균의 분리 및 특성 분석

이용직 · 간빳 다리마¹ · 정가을¹ · 신기선² · 이상재^{1*}

서원대학교 바이오코스메틱학과, ¹신라대학교 바이오식품공학과 & 해양극한미생물연구소,
²한국생명공학연구원 산업바이오소재연구센터

A Study on the Isolation and Characterization of Aerobic Halophilic Microorganisms Isolated from the Soil Around the Port on Jeju Island

Yong-Jik Lee, Dariimaa Ganbat¹, Ga Eul Jeong¹, Kee-Sun Shin², and Sang-Jae Lee^{1*}

Department of Bio-Cosmetics, Seowon University

¹*Department of Food Biotechnology and Research Center for Extremophiles & Marine Microbiology, Silla University*

²*Industrial Bio-materials Research Center, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology (KRIBB)*

Abstract

To isolate aerobically and identify the diversity of halophilic bacteria in the soil around two ports, Daepopogu and Hwasun Port, on Jeju island, a total 46 halophilic bacteria strains were isolated and phylogenetically analysed. The isolated strains were divided into 3 phyla, 8 families, 16 genera and 23 species. The main taxa was the Bacilli class, which included 50.0% of the strains with 3 families, 10 genera and 15 species of Bacillaceae, Exiguobacterium f and Planococcaceae. The second taxa was the Gammaproteobacteria class, which included 45.7% of the strains with 4 families, 5 genera and 7 species of Aeromonadaceae, Halomonadaceae, Marinobacteraceae and Vibrionaceae. The isolated strains were tested for hydrolytic enzymes, amylase, lipase and protease activity, and 31 strains showed activity of at least one enzyme. Furthermore, auxin activity was determined in 7 strains. This study showed that the isolated strains have possible applications in the food and agricultural industries and have importance as a genetic resource in Korea.

Keywords: Soil, Isolation, Halophiles, Characterization, Enzyme

서 론

제주도는 남해에 위치한 화산섬으로 국내에서는 가장 큰 섬이며 온대 기후에 속해 겨울에도 거의 영하로 떨어지지 않고 영상을 유지하는 기후학적 특성을 가지고 있으며 사면이 바다로 둘러싸여 있어 내륙 지역과는 다른 환경이 조성되어 있다고 할 수 있다. 또한 제주도는 2002년 유네스코가 기후 및 생물 다양성의 생태계적 가치를 인정하여 제주도를 생물권보전지역으로 지정하였으며 이에 다양한 동식물자원의 탐색 관련 연구는 지속적으로 이루어지고 있으나(KFRI, 2014) 나고야 의정서의 발효로 인한 국내 미생물 자원의 산업분야에의 활용가능성을 높이기 위한 국내

제주도 유래 미생물 자원의 탐색에 관한 연구는 미비한 실정이나 최근 제주도 꽃자왈과 같은 산림지역 토양이나 해양 시료로부터 미생물의 다양성 및 특성 분석 연구가 조금씩 이루어지고 있다(Choi et al., 2016; Kim et al., 2017; Han et al., 2019).

높은 염 농도에서 생육이 가능한 호염성 미생물은 염분 함량이 높은 다양한 자연환경에서 유래하는 경우가 많으며 이러한 미생물들의 분리 및 동정을 통한 계통학적 다양성 관련 연구에 이용될 뿐만 아니라 염장 식품의 풍미 증가와 향미 발달, 육질 분해 등을 위한 protease를 생성하는 미생물의 특성 규명 관련 연구에도 활용되고 있다(Giyatmi & Irianto, 2017; Park et al., 2017; Zang et al., 2020). 또한 호염성 미생물들이 생산하는 가수분해 효소 중 단백질가수분해효소의 경우 식품, 세제, 섬유 펄프와 피혁 공업, 의약품 생산과 같은 산업용 효소시장에서 높은 비율로 사용되고 있으며 수산물 처리시에 발생하는 부산물과 같은 폐기물의 처리 및 재활용 등 다양한 산업분야에 응용되고 있다(Singh et al., 2016).

또한, 옥신은 줄기 끝의 분열 조직과 어린 잎에서 생성

*Corresponding author: Sang-Jae Lee, Major in Food Biotechnology and Research Center for Extremophiles & Marine Microbiology, Silla University, 140 Baegyong-daero, 700beon-gil, Sasang-Gu, Busan 46958, Korea

Tel: +82-51-999-5447; Fax: +82-51-999-5458

E-mail: sans76@silla.ac.kr

Received May 11, 2022; revised August 1, 2022; accepted August 5, 2022

되며 발아 중인 종자에서 생합성된다. 식물 성장과 관련된 세포의 분열을 촉진하고 세포벽을 신장시키는 역할을 하며 가장 많이 발견되는 옥신은 indole acetic acid (IAA)이다. 이러한 옥신을 생성하는 미생물로는 *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* 등이 알려져 있다(So et al., 2009).

본 연구에서는 제주도 남쪽 해안에 위치한 대포포구와 화순항 주변의 토양으로부터 호기적으로 호염성 세균의 순수 분리 가능성을 검증하고 다양한 산업에 응용 가능성이 있을 것으로 생각되는 가수분해효소 3종(amylase, lipase, protease)의 활성 유무를 탐색하였으며, 추가적으로 농업 분야에서 식물의 생육을 증진시키는 기능을 하는 것으로 알려져 있는 옥신(auxin) 생산능의 평가를 수행하여 일반적으로 많이 사용되고 있는 화학비료를 대체할 수 있는 친환경 미생물제제 개발 기술을 위한 미생물 균주로서의 사용 가능성의 검증을 통해 국내 제주도 토양 유래 호염성 세균 자원 확보의 의미와 함께 산업적 활용이 가능한 추가 연구가 필요한 생물 소재의 가치 판단을 위한 기초적인 연구 결과를 얻고자 하였다.

재료 및 방법

실험 재료

본 연구에 사용된 토양 시료는 제주도 남쪽에 위치한 대포포구와 화순항 주변의 토양(5 cm × 5 cm 구역의 깊이 1 cm)을 시료로 확보하였으며 시료의 오염 방지 등을 위해 위생 장갑을 착용 후 멸균된 spatula를 이용하여 시료를 모은 후 멸균된 50 mL conical tube에 담아 아이스박스에 보관하여 이동하였으며 실험실에 도착한 후에는 실험전까지 4°C에서 보관하였다.

호염성 세균 분리 및 배양

제주도 항구 인근 토양 시료로부터 호염성 미생물 분리를 위해 각각의 샘플 1 g을 멸균된 0.85% 생리식염수에 첨가하여 교반기로 교반하여 현탁하였다. 현탁한 샘플 1 mL를 사용하여 10⁻¹-10⁻⁴배로 단계희석 한 후, 일반 증식배지로 해양미생물 전용배지인 marine agar (BD, USA) 배지를 제작하여 희석액을 도말하고 37°C에서 호기적으로 호염 미생물을 배양하였다. 배양 후 선택적으로 배지상에 나타나는 균의 크기, 모양, 색깔 등 형태학적 모습을 관찰한 후 동일한 고체배지를 사용하여 추가적으로 single colony isolation을 수행하였다. 순수분리된 균주의 혼합배지에서의 생육 가능성을 확인하기 위하여 nutrient agar (BD, USA), R2A agar (BD, USA), 및 tryptic soy agar (BD, USA)에 평판 도말법을 이용하여 37°C에서 7일간 정치 배양하였다. 또한 분리한 미생물들의 염 농도 변화와 pH 변화에 따른 생육 가능 여부를 확인하기 위해 marine agar (BD, USA)

배지를 바탕으로 고체배지를 제작하여 37°C에서 배양하며 생육을 확인하였으며 배양 온도에 따른 생육 가능 여부는 marine agar (BD, USA) 배지를 사용하여 30, 35, 40, 45, 50°C에서 배양하며 생육을 확인하였다.

16S rRNA 염기서열의 계통학적 분석

제주도 항구 인근 토양 시료로부터 호기적 배양 조건에서 분리된 균주들의 분자생물학적 동정을 위해 marine agar (BD, USA) 배지에 각각 분리된 균주의 colony가 배양된 상태의 고체 배지를 (주)바이오팩트에 보내어 16S rRNA 염기서열의 분석을 의뢰하였으며 분석된 16S rRNA 염기서열로부터 가장 유사한 근연 균주의 확인을 위하여 (주)천랩의 EzBioCloud (<https://www.ezbiocloud.net/>)를 사용하였다. 계통학적 분석은 BioEdit 및 Mega-X 프로그램을 이용하였다.

세포외 분해 효소 생산능 분석

분리된 호염성 미생물의 세포외 분해 효소 amylase, lipase, cellulase, protease 생산능 확인을 위하여 각각의 효소와 특이적으로 반응할 기질 성분이 포함된 고체평판 선별 배지를 사용하였다. 먼저 amylase 생산능은 0.2% soluble starch (BD, USA)를, lipase 생산능은 1% Tween 80 (BD, USA)을, cellulase 생산능은 1% CMC (BD, USA)를, protease 생산능은 20% skim milk (BD, USA)를 기질로 선택하여 marine agar (BD, USA) 배지에 각각 첨가하여 제조하였으며 분리된 균주를 직접 접종하여 37°C에서 7일 배양한 후 저지원(Clear zone)의 직경으로 조사하였다. 분리된 균주의 효소활성 분해능 평가는 배양 후 나타나는 접종균 주위의 억제환의 크기(+++: >7 mm, ++: >4~7 mm, +: 1-4 mm)로 나타내었다.

옥신(Auxin) 생산능 분석

분리된 균주의 auxin 생산능은 0.1% L-tryptophan이 첨가된 marine broth (BD, USA) 배지에 순수분리된 colony를 tooth-picking 한 후 37°C에서 5일 배양하여 Salkowski 시약(35% HClO₄, 50 mL + 0.5 M FeCl₃, 1 mL) 800 uL을 배양 상등액 400 uL에 섞어준 후 어두운 곳에서 30 min 반응시켜 육안으로 확인하여 붉은 색깔 변화 정도에 따라 옥신 생성능 정도를 표시하였다(깊은 붉은색: +++; 일반 붉은색: ++; 옅은 붉은색: +; 주황색: w; 무색: -).

결과 및 고찰

호염성 세균 분리

제주도 남쪽에 위치한 대포포구와 화순항 주변의 토양 시료로부터 호기적으로 생육 가능한 호염성 세균의 분리 가능성을 검증하고자 marine agar 배지에 시료를 희석, 도

Table 1. Isolation and identification of aerobically cultured halophilic bacteria isolated from the soil around the port on Jeju island.

No	Source	Isolate number	Media			MA [*]											
			NA [#]	R2A	TSA	NaCl (%)				Temp. (°C)					pH		
						3	5	7	10	30	35	40	45	50	5	7	9
1		DPS-1	+ ^a	+	+	+	+	+	W ^b	+	+	+	W	-	-	+	+
2		DPS-2-1	W	+	W	+	+	+	+	+	+	+	-	-	W	+	+
3		DPS-2-2	-	+	-	+	+	+	+	+	+	W	-	-	W	+	+
4		DPS-3-1	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	W	+	+
5		DPS-3-2	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	W	+	+
6		DPS-3-3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	W	+	+
7		DPS-3-4	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	W	+	+
8		DPS-4-1	W	+	W	+	+	+	+	+	+	W	-	-	W	+	+
9	Daepopogu port	DPS-5	W	W	W	+	+	+	+	+	+	+	W	-	W	+	+
10		DPS-6	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+
11		DPS-7	W	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	W	+	+
12		DPS-8	-	W	+	+	+	+	+	+	+	W	-	-	W	+	+
13		DPS-9	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	W	+	+
14		DPS-10	-	-	-	+	+	+	+	+	+	W	-	-	-	+	+
15		DPS-11	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
16		DPS-12	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	W	-	-	+	+
17		DPS-13	W	+	-	+	+	+	+	+	+	+	W	W	-	+	+
18		DPS-14	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
19		HSS-1	-	W	+	+	+	+	+	+	+	W	W	-	W	+	+
20		HSS-2	-	W	+	+	+	+	+	+	+	W	W	W	W	+	+
21		HSS-3-1	+	+	+	+	+	+	W	+	+	+	+	-	W	+	+
22		HSS-3-2	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	W	+	W
23		HSS-3-3	+	+	+	+	+	+	W	+	+	+	+	-	W	+	+
24		HSS-4	-	+	+	+	+	+	+	+	+	W	W	-	W	+	+
25		HSS-5	W	+	+	+	+	+	+	+	+	W	W	-	W	+	+
26		HSS-6	-	+	+	+	+	+	+	+	+	W	W	-	W	+	+
27		HSS-7-1	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	W	+	W
28		HSS-8-1	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	W	+	W
29		HSS-8-2	-	-	-	+	W	W	W	W	W	-	-	-	W	W	W
30		HSS-9-1	W	+	+	+	+	+	+	+	+	+	W	W	-	+	+
31		HSS-9-2	W	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+
32	Hwasun port	HSS-10-1	W	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	W	-	+	+
33		HSS-11	W	W	-	+	+	+	+	+	+	+	+	W	+	+	+
34		HSS-12	W	W	+	+	+	+	+	+	+	W	W	-	W	+	+
35		HSS-13	W	W	-	+	+	+	+	+	+	W	W	W	W	+	+
36		HSS-14	-	W	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
37		HSS-15	W	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	+
38		HSS-16	W	W	+	+	+	+	+	+	+	+	W	-	+	+	+
39		HSS-17	-	W	W	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
40		HSS-18	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	W	-	W	+	+
41		HSS-19-1	W	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	W	+	+
42	HSS-20	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	W	W	+	+	
43	HSS-21	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	W	W	+	+	
44	HSS-22	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	W	W	+	+	
45	HSS-23	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	W	-	W	+	+	
46	HSS-24	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	W	W	-	W	+	+

[#]Nutrient agar^{*}Marine agar^aWell-growth^bWeak growth^cNo growth.

말하여 배양한 후, 배양된 colony의 모양, 색깔, 등 형태학적 특징을 육안으로 구분이 가능한 균주들을 대상으로 동일한 고체배지를 사용하여 2차로 단일 균주 분리를 수행하였다. 그 결과 Table 1에서 나타난 것처럼 대포포구 인근 토양 시료로부터 18균주와 화순항 인근 토양 시료로부터 28균주를 분리하여 호기성이며 호염성인 세균 총 46균주를 순수 분리하였다. 또한 주요 성분이 무기염으로 이루어진 marine agar 배지는 해양 미생물 배양에 유리한 배지이기에 산업적 활용가능성을 확인하기 위하여 대량 배양 등에 많이 활용되는 혼합배지(nutrient agar, R2A agar, tryptic soy agar)에서의 분리 균주들의 생육 가능성을 확인한 결과 46균주 중 3균주를 제외한 43균주(93.5%, weak growth 포함)가 최소 1종류 이상의 혼합 배지에서 생육이 가능한 것을 확인하였다. 이는 제주도 항구 인근 토양 시료로부터 호염성 세균 탐색에 있어서 분리 배지의 구성성분이 어느 정도 영향을 미치는 것으로 생각되며, 본 연구 결과를 바탕으로 제주도 항구 인근 토양 시료로부터 호염성 세균 분리를 위한 최적배지는 marine agar 배지로 나타났다. 또한 최적의 생육 pH 조건을 확인하기 위하여 pH를 5, 7, 9로 각각 조절한 marine agar 배지에 분리 균주들의 생육을 확인해 본 결과 분리된 모든 균주가 pH 7과 pH 9에서 생육이 가능(weak growth 포함)하였으며 이중 35균주는 pH 5에서도 생육이 가능(weak growth 포함)하였다(Table 1).

16S rRNA 유전자 DNA 염기서열의 계통학적 분석

제주도 항구 인근 토양 시료로부터 호기적으로 분리된 46균주의 16S rRNA 염기서열을 바탕으로 EzBioCloud를 사용하여 세균 동정을 실시한 결과 크게 3문 6목 8과 16속 23종으로 나타났으며(Table 2), 분리 균주와 근연 균주 및 상동성을 Table 3에 나타내었다. Table 2에서 보는 바와 같이 Firmicutes (Bacilli)가 50.0%로 우점도가 높았고, Proteobacteria (Gammaproteobacteria) 45.7%, Actinobacteria 4.3%로 나타났다. 가장 우점도가 높은 Firmicutes 문은 Bacillaceae 60.9%, Planococcaceae 21.7%, Exiguobacterium_f가 17.4%로 구성되었으며, 총 3과 10속 15종이 분리되었다. 본 연구에서 가장 많이 분리된 Bacillaceae과는 *Bacillus* sp. 이 해양생물 중에서도 담수어에서 많이 분리되며 발효식품 중에서도 젓갈류에서 주로 분리된다는 것이 알려져 있기에 해양과 인접해 있는 제주도 항구 인근 토양 시료의 미생물 균총에서 가장 많이 분리된 것으로 예상되며(Lee, 1969; Hur, 1996; Yang et al., 2005; Nam et al., 2012), 특이하게도 대포포구 인근 토양시료에서만 Bacillaceae과의 호염성 미생물들이 분리되었으며 대포포구가 화순항 보단 상대적으로 어업활동이 많이 이루어지고 있기에 나타나는 현상으로 추측되었다. Proteobacteria 문에서는 4과 5속 7종이 분리되었으며 Halomonas 속이 7균주, Vibrio 속이 6균주, Cobetia 속이 5균주, Oceanisphaera 속이 2균주, 그리고 Marinobacter 속이 1균주 분리되었다. 본 연구에서 분리

Table 2. Phylum analysis of aerobically cultured halophilic bacteria isolated from the soil around the port on Jeju island.

Phylum	Class	Order	Family	Genus	Species	Number
Actinobacteria	Actinomycetia	Micrococcales	Micrococcaceae	Kocuria	<i>Kocuria palustris</i>	2
Firmicutes	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	Alkalihalobacillus	<i>Alkalihalobacillus hwajinpoensis</i>	3
				Bacillus	<i>Bacillus paranthracis</i>	1
					<i>Bacillus licheniformis</i>	1
					<i>Bacillus velezensis</i>	1
				Halobacillus	<i>Halobacillus salinus</i>	1
					<i>Halobacillus trueperi</i>	2
				Mesobacillus	<i>Mesobacillus selenatarsenatis</i>	1
				Oceanobacillus	<i>Oceanobacillus theyensis</i>	1
				Priestia	<i>Priestia megaterium</i>	1
				Rossellomorea	<i>Rossellomorea vietnamensis</i>	1
				Sutcliffiella	<i>Bacillus aequororis</i>	1
			Exiguobacterium_f	Exiguobacterium	<i>Exiguobacterium mexicanum</i>	2
					<i>Exiguobacterium oxidotolerans</i>	2
			Planococcaceae	Planococcus	<i>LTZG_s</i>	4
					<i>Planococcus maitriensis</i>	1
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Aeromonadales	Aeromonadaceae	Oceanisphaera	<i>Oceanisphaera psychrotolerans</i>	2
		Oceanospirillales	Halomonadaceae	Cobetia	<i>Cobetia amphilecti</i>	1
					<i>Cobetia marina</i>	4
				Halomonas	<i>Halomonas hydrothermalis</i>	6
					<i>Halomonas venusta</i>	1
		Pseudomonadales	Marinobacteraceae	Marinobacter	<i>Marinobacter sediminum</i>	1
		Vibrionales	Vibrionaceae	Vibrio	<i>Vibrio neocaledonicus</i>	6

된 *Bacillus velezensis*, *Cobetia amphilecti*, *Marinobacter sediminum*과 6균주가 분리된 *Vibrio neocaledonicus* 균주는 Han et al. (2019)의 연구결과에서 제주도 해양 및 토양시료에서 분리된 균주들과 일치하는 균주로써 항구 주변의 해양시료나 토양시료에 분포하고 있는 균주로 예상되었다. 마지막으로 Actinobacteria 문에서 1속 1종이 분리되었다. 분리 균주 중 근연 균주와의 16S rDNA 염기서열 상동성이 낮은 균주(96% 이하)는 확인 되지 않았다.

분해 효소 및 옥신 생산능 분석

수산물 유래 발효식품은 내장 등을 제거한 수산물 등에 염을 첨가함과 함께 다양한 미생물들이 생산하는 효소들에 의해 숙성 과정을 통해 만들어지는 전통 식품으로 알려져 있기에(Park et al., 2017) 분리된 호염성 균주들의 식품 산업에 적용 가능한 가수분해 효소 탐색을 위한 추가 연구가 필요한 생물소재 자원으로써의 연구 가능성 및 화학비료 대체 개발 기술을 위한 미생물 균주로써의 사용 가능성을 확인하기 위해 세포외 가수분해 효소 생산 능력과 옥신 생산 능력의 분석을 실시하였다. Fig. 1과 Table 3에 나타난 것처럼 분리된 46균주 중 31균주(67.4%)에서 한 가지 이상의 분해 효소 활성이 존재하는 것을 확인하였으며, amylase 활성을 보이는 25균주, lipase 활성을 보이는 1균주, protease 활성을 보이는 19균주를 확보하였고, 이 중 두 가지 이상의 효소 활성을 가지는 14균주도 확인되었다. 또한, 본

연구에서 분리된 균주들의 옥신 생산능을 확인한 결과, 화순항 인근 토양에서 분리한 *Halomonas hydrothermalis*, *Oceanisphaera psychrotolerans* 6균주와 대포포구 인근 토양에서 분리된 *Priestia megaterium* 균주 포함 총 7균주에서 옥신 생산능이 확인되었다.

본 연구에서 수행한 결과들은 제주도 남쪽에 위치한 대포포구와 화순항 주변의 토양 시료로부터 국내 세균 생물 자원의 다양성 확보 차원에서 큰 의미를 찾을 수 있을 것이며 산업용 가수분해 효소 관련 생물공학 및 화학비료를 대체할 수 있는 친환경 미생물제제로의 사용을 위한 추가적인 기초 연구가 필요한 생물소재로 활용이 가능할 것으로 예상된다. 또한 본 연구를 통하여 분리한 모든 균주들은 KRIBB 미생물가치제고사업단에 기탁하였다.

요 약

본 연구는 제주도 대포포구와 화순항 주변의 토양 시료로부터 호기적으로 분리한 호염성 세균들의 다양성 및 특성에 관하여 조사하였다. 46균주의 호염성 세균을 순수 분리하였으며 16S rRNA 염기서열 분석 결과를 바탕으로 계통학적 분석을 실시한 결과, 3문, 8과, 16속, 23종으로 구성되어 있는 것을 확인하였다. 특히 Firmicutes 문 Bacilli강은 50.0%의 분포를 나타내었으며 3과, 10속, 15종으로 *Bacillus velezensis*를 포함하는 Bacillaceae, Exiguobacterium f

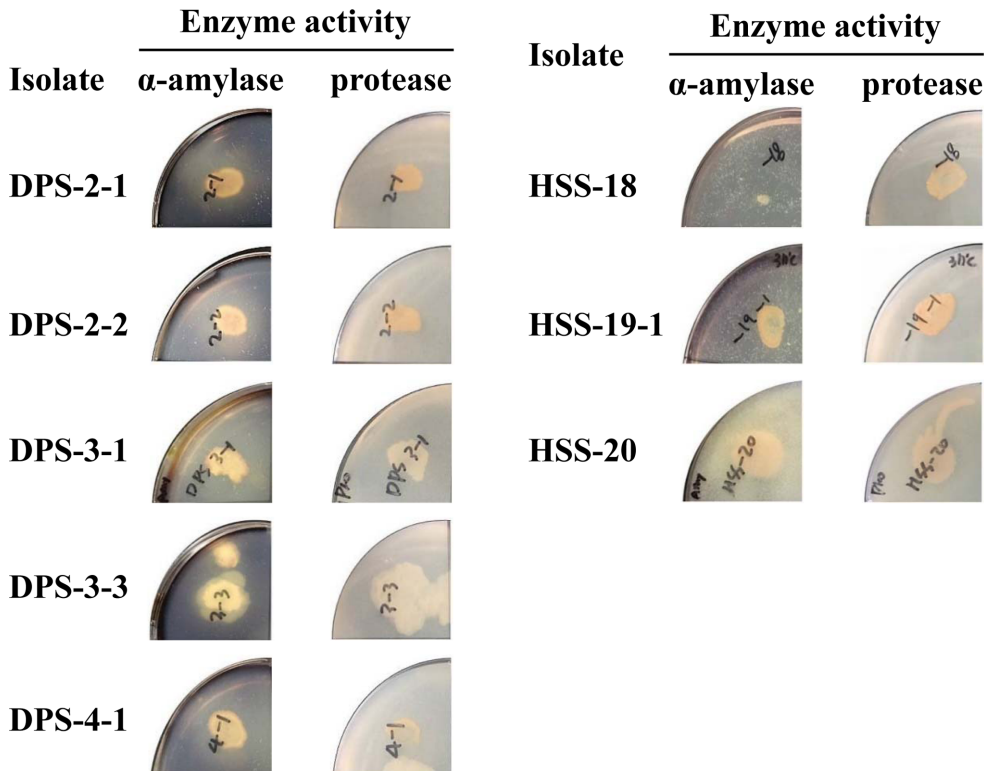


Fig. 1. Hydrolytic enzyme activity results of representative strains in this study.

Table 3. Representative sequences of an aerobically cultured halophilic bacteria isolated from the soil around the port on Jeju island.

No	Isolate Number	Closed strain	Closed strain number	Similarity (%)	Extracellular enzyme activity			Auxin	Deposited number
					Amylase	Lipase	Protease		
1	DPS-1	<i>Rossellomorea vietnamensis</i>	15-1	99.22	- ^a	-	-	-	NMC5-B65
2	DPS-2-1	<i>Alkalihalobacillus hwajinpoensis</i>	SW-72	99.00	+++	-	+++	-	NMC5-B66
3	DPS-2-2	<i>Alkalihalobacillus hwajinpoensis</i>	SW-72	97.92	+++	-	+++	-	NMC5-B67
4	DPS-3-1	<i>Bacillus paranthracis</i>	Mn5	99.09	+++	-	+++	-	NMC5-B68
5	DPS-3-2	<i>Kocuria palustris</i>	DSM 11925	99.64	-	-	+	-	NMC5-B69
6	DPS-3-3	<i>Bacillus licheniformis</i>	ATCC 14580	98.19	+	-	+++	-	NMC5-B70
7	DPS-3-4	<i>Kocuria palustris</i>	DSM 11925	99.64	-	-	+	-	NMC5-B71
8	DPS-4-1	<i>Alkalihalobacillus hwajinpoensis</i>	SW-72	99.37	+++	-	+++	-	NMC5-B72
9	DPS-5	<i>Halobacillus salinus</i>	HSL-3	98.26	-	-	++	-	NMC5-B73
10	DPS-6	<i>Priestia megaterium</i>	NBRC 15308	98.45	+++	-	-	++	NMC5-B74
11	DPS-7	<i>Mesobacillus selenatarsenatis</i>	SF-1	97.60	+++	-	-	-	NMC5-B75
12	DPS-8	<i>Oceanobacillus iheyensis</i>	HTE831	98.64	+++	-	-	-	NMC5-B76
13	DPS-9	<i>Exiguobacterium mexicanum</i>	8N	98.92	+++	-	-	-	NMC5-B77
14	DPS-10	<i>Halobacillus trueperi</i>	DSM 10404	98.63	+++	-	-	-	NMC5-B78
15	DPS-11	<i>Bacillus aequororis</i>	M-8	99.62	+++	-	-	-	NMC5-B79
16	DPS-12	<i>Marinobacter sediminum</i>	R65	99.62	-	++	-	-	NMC5-B80
17	DPS-13	<i>Halobacillus trueperi</i>	DSM 10404	99.28	+++	-	-	-	NMC5-B81
18	DPS-14	<i>Bacillus velezensis</i>	CR-502	98.19	-	-	-	-	NMC5-B82
19	HSS-1	<i>Halomonas hydrothermalis</i>	Slthf2	99.45	-	-	-	-	NMC5-B83
20	HSS-2	<i>Halomonas hydrothermalis</i>	Slthf2	99.63	-	-	-	-	NMC5-B84
21	HSS-3-1	<i>Exiguobacterium mexicanum</i>	8N	98.92	+++	-	+++	-	NMC5-B85
22	HSS-3-2	<i>Vibrio neocaledonicus</i>	NC470	99.72	+++	-	+++	-	NMC5-B86
23	HSS-3-3	<i>Vibrio neocaledonicus</i>	NC470	99.72	+++	-	+++	-	NMC5-B87
24	HSS-4	<i>Halomonas hydrothermalis</i>	Slthf2	99.26	-	-	-	+++	NMC5-B88
25	HSS-5	<i>Halomonas hydrothermalis</i>	Slthf2	99.73	-	-	-	+++	NMC5-B89
26	HSS-6	<i>Halomonas hydrothermalis</i>	Slthf2	99.73	-	-	-	+++	NMC5-B90
27	HSS-7-1	<i>Vibrio neocaledonicus</i>	NC470	99.35	+++	-	+++	-	NMC5-B91
28	HSS-8-1	<i>Vibrio neocaledonicus</i>	NC470	99.16	+++	-	+++	-	NMC5-B92
29	HSS-8-2	<i>Vibrio neocaledonicus</i>	NC470	99.17	-	-	-	-	NMC5-B93
30	HSS-9-1	<i>Planococcus LTZG_s</i>	MKU009	99.28	-	-	-	-	NMC5-B94
31	HSS-9-2	<i>Planococcus LTZG_s</i>	MKU009	99.28	-	-	-	-	NMC5-B95
32	HSS-10-1	<i>Planococcus mairiensis</i>	S1	98.96	-	-	-	-	NMC5-B96
33	HSS-11	<i>Cobetia amphilecti</i>	KMM 1561	97.73	-	-	-	-	NMC5-B97
34	HSS-12	<i>Halomonas venusta</i>	DSM 4743	99.28	-	-	+	-	NMC5-B98
35	HSS-13	<i>Cobetia marina</i>	JCM 21022	98.92	-	-	-	-	NMC5-B99
36	HSS-14	<i>Cobetia marina</i>	JCM 21022	99.37	-	-	-	-	NMC5-B100
37	HSS-15	<i>Planococcus LTZG_s</i>	MKU009	98.39	-	-	+++	-	NMC5-B101
38	HSS-16	<i>Cobetia marina</i>	JCM 21022	98.75	+++	-	-	-	NMC5-B102
39	HSS-17	<i>Cobetia marina</i>	JCM 21022	99.64	+++	-	-	-	NMC5-B103
40	HSS-18	<i>Exiguobacterium oxidotolerans</i>	JCM 12280	99.46	+++	-	+	-	NMC5-B104
41	HSS-19-1	<i>Planococcus LTZG_s</i>	MKU009	99.01	+++	-	+++	-	NMC5-B105
42	HSS-20	<i>Vibrio neocaledonicus</i>	NC470	98.75	+++	-	+	-	NMC5-B106
43	HSS-21	<i>Oceanisphaera psychrotolerans</i>	LAM-WHM-ZC	99.07	+++	-	-	+++	NMC5-B107
44	HSS-22	<i>Oceanisphaera psychrotolerans</i>	LAM-WHM-ZC	99.07	+++	-	-	+++	NMC5-B108
45	HSS-23	<i>Exiguobacterium oxidotolerans</i>	JCM 12280	99.46	+++	-	+	-	NMC5-B109
46	HSS-24	<i>Halomonas hydrothermalis</i>	Slthf2	99.26	-	-	-	+++	NMC5-B110

^a: No activity

와 Planococcacea로 분포하는 것을 확인하였다. Proteobacter 문 Gammaproteobacteria 강은 45.7%의 분포를 나타내었으며 4과, 5속, 7종으로 Aeromonadaceae, *Cobetia amphilecti*를 포함하는 Halomonadaceae, *Marinobacter sediminum*를 포함하는 Marinobacteraceae와 *Vibrio neocaledonicus*를 포함하는 Vibrionaceae로 분포하는 것을 확인하였다. 그리고 분리한 균주들이 amylase, lipase, cellulase, protease 같은 산업적으로 유용한 효소를 생산하는지 확인하기 위하여 효소 활성 평가를 실시하였으며, 31균주가 최소 한 종류 이상의 효소 활성을 가지고 있는 것을 확인하였다. 또한 옥신 생산능을 가지는 균주도 7균주가 확인되었으며 이는 본 연구를 통하여 분리한 균주들의 산업적 활용 가능성을 나타내었다. 그러므로 이번 연구는 국내 유전자원 확보 및 시료의 호염성 세균의 다양성과 특성에 관한 과학적 지식 확장에 도움이 될 것으로 생각된다.

감사의 글

이 논문은 2013년도 바이오·의료기술개발사업(NRF-2013M3A9A5076603), 2020 및 2021년도 한국연구재단 이공분야기초연구사업(NRF-2020R1F1A1076624 & NRF-2021R1F1A1064036)의 지원을 받아 수행된 연구임.

References

- Choi H, Koh HW, Kim H, Chae JC, Park SJ. 2016. Microbial community composition in the marine sediments of Jeju island: next-generation sequencing surveys. J. Microbiol. Biotechnol. 26: 883-890.
- Giyatmi G, Irianto HE. 2017. Enzymes in fermented fish. Adv. Food Nutr. Res. 80: 199-216.
- Han B, Kim M, Ryu D, Lee KE, Lee BH, Lee EY, Park SJ. 2019. Isolation and characterization of acid-resistant and halophilic

- bacteria using cultivation technique in Jeju island. Korean J. Microbiol. 55: 248-257.
- Hur SH. 1996. critical review on the microbiological standardization of salt-fermented fish product. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 25: 885-891.
- KFRI. 2014. Ecology and Culture on the Gotjawal (Lava Forests). Korea Forest Research Institute.
- Kim YE, Koh HW, Kim SJ, Do KT, Park SJ. 2017. Isolation and characterization in the exhausted mine and Jeju Gotjawal. Korean J. Microbiol. 53: 309-315.
- Lee KH. 1969. Microb ckles. J. Appl. Biol. Chem. 11: 1-27.
- Nam YD, Seo MJ, Lim SI, Lee SY. 2012. Genome sequence of *Lysinibacillus boronitolerans* F1182, isolated from a traditional korean fermented soybean product. J. Bacteriol. 194: 5988.
- Park WJ, Lee SH, Lee HJ. 2017. Antibacterial ad proteolytic activities of bacterial isolates from ethnic fermented seafoods in the east coast of Korea. Food Eng. Prog. 21: 88-92.
- Singh R, Kumar M, Mittal A, Mehta PK. 2016. Microbial enzymes: Industrial progress in 21st century. 3 Biotech 6: 174.
- So JH, Kim DJ, Shin JH, Yu CB, Rhee IK. 2009. Isolation and characterization of *Bacillus cereus* A-139 producing auxin from east coast sand dunes. Korean J. Environ. Agric. 28: 447-452.
- Yang WS, Lim HS, Chung KT. 2005. Characterization of a fibri-nolytic enzyme from pickled anchovy. J. Life Sci. 15: 434-438.
- Zang J, Xu Y, Xia W, Regenstein JM. 2020. Quality, functionality, and microbiology of fermented fish: a review. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 60: 1228-1242.

Author information

- 이용직: 서원대학교 바이오융합대학 바이오코스메틱학과 조교수
간빔 다리마: 신라대학교 바이오식품공학대학원생 (박사과정)
정가을: 신라대학교 바이오식품공학대학원생(석사)
신기선: 한국생명공학연구원 책임연구원
이상재: 신라대학교 바이오식품공학과 교수