

## 참굴 및 그 서식환경의 세균 Flora 에 관한 연구

강 훈 이

여수수산전문대학 수산가공과  
(1979년 7월 10일 수리)

### A Study on Bacterial Flora Inhibiting in *Crassostrea gigas* and Its Living Environments.

Hoon I Kang

Department of Marine Processing, Yeosu National Fisheries College.

(Received July 10, 1979)

#### Abstract

The present work was conducted in order to survey bacterial flora inhabiting in *Crassostrea gigas*. The *Crassostrea gigas*, sea water and mud of its living environments were sampled at Goseong bay, Gyungnam and Dolsan, Yeochon-gun, Chungnam at the period of from December 1978 to February 1979.

The obtained results are summarized as follows:

1. The range of bacterial counts found in *Crassostrea gigas*, sea water and mud was respectively  $10^4 \sim 10^6$ ,  $10^5 \sim 10^6$  and  $10^3 \sim 10^4$ .
2. Among the bacterial 382 strains isolated from the those sample sources, *Vibrio* genus was 43.5%, *Pseudomonas* 16.7%, *Moraxella* 11.5% and *Flavobacterium-cytophaga* 8.9%.
3. Among 173 strains classified as *Vibrio* genus, 56% of them was found in *Crassostrea gigas*, 54% in mud and 25% in sea water.
4. *Pseudomonas* type I was found only in sea water and type III/IV found in sea water, mud and *Crassostrea gigas*. Especially type III/IV was found much in sea water.

#### 서 론

참굴(*Crassostrea gigas*) 및 그 서식환경의 세균 Flora 에 대하여 약간의 보고가 있을 뿐 충분한 검토가 되어 있지 않은 실정이다.

해양 및 해산생물의 세균 Flora 의 분류에 관해서 Lerk<sup>(1,2)</sup> 등, Adams<sup>(3)</sup> 등, Levin<sup>(4)</sup> 등, 清水<sup>(5)</sup> 등의 보고가 있지만 현재 많이 이용되고 있는 것은 Shewan<sup>(6)</sup> 등을 중심으로 Gram 음성 간균에 대해 *Pseudomonas* I, II, III/IV, *Vibrio*, *Aeromonas*, *Achromobacter*, *Flavobacterium-cytophaga* 등으로

군별하는 방법이 제안되었고 이 가운데서 Baumann<sup>(7,8)</sup> 등은 penicillin 감수성에 의해 *Achromobacter* 을 *Moraxella* 와 *Acinetobacter* 로 분류하였다.

이상의 분류방법을 토대로하여 저자는 참굴에 오염된 미생물의 분포를 조사하여 가공업자에게 그 자료를 제공함과 동시에 향후 참굴 가공에 대한 미생물의 기초자료를 얻기 위하여 먼저 참굴과 그 주의환경에서 번식되고 있는 세균 Flora 를 조사하여 몇가지 결과를 얻었기에 보고한다.

## 재료 및 방법

### 1. 시료 채취 및 조제

참굴의 성수기인 1978년 12월, 1979년 1월, 2월에 걸쳐 굴의 주산지인 경남 고성만, 전남 여천 돌산의 수하식 양식장에서 채취한 참굴과 채이기로써 이토를 채취하여 homogenizing 하였고 채수기로써 표층수를 채수, 각각 이들을 원액으로 하여 시험에 공했다.

### 2. 생균수 측정 및 균주 분리

생균수 측정 및 균주 분리용 배지로서 해수 한천 배지 (polypeptone 5g, meat extract 2.5g, yeast extract 2.5g, glucose 1g, 한천 20g, 해수 500ml, 증류수 500ml)에 단계 희석액 0.1ml을 배지 표면에 도달하여 35°C는 3일간, 20°C에서는 6일간 배양하여 발생 집락 수를 산정하여 생균수를 측정하였고 집락 산정을 행한 것 중의 일개의 평판으로부터 20~22개의 집락을 조균하여서 다시 동 배지에 화선 배양하여 균주를 분리하였다.

### 3. 분리균의 심상시험

운동성은 SIM 배지로 관찰했고, cytochromoxidase 시험은 Kovacs<sup>(9)</sup> 방법에 따랐다. Glucose 분해시험은 비호염성 균주에 대해서는 Hugh and Leifson<sup>(10)</sup>의 배지, 호염성 균주에 대해선 Leifson<sup>(11)</sup>의 Mof 배지를 사용했다. Arginine 분해 시험은 Thornley<sup>(12)</sup>의 방법에 따랐다. Penicillin 감수성은 Corlett<sup>(13)</sup>등이 사용한 배지를 사용했다.

형광색소 생산시험은 Garibaldi<sup>(14)</sup> 배지, 비수용

성 황색색소 생산시험은 2% 식염을 가한 우유 한천평판 배지에서 각각 6일간 배양하면서 관찰했고 catalase 시험은 Manual of Microbiological Methods<sup>(15)</sup>에 따랐다.

## 결과 및 고찰

### 1. 생균수 측정

참굴 및 그 서식장소의 이토, 해수 중의 세균수는 Table 1. 과 같다.

참굴, 이토, 해수 공히 배양온도 35°C에서는 양적분포가 20°C 보다 적었고, 시료에 따른 차이는 이토에서 가장 많은 균수를 나타내었으며, 해수에서는 삼시료 가운데서 제일 적은 양을 보여주었다.

이는 동계 해수 온도가 낮으므로 해수보다 이토 중 또는 참굴의 생체내에 농후하게 분포할 것으로 추정된다.

한편, 이들 시료에서 성수기인 1978년 12월, 1979년 1월 및 2월 중 12월에 균수 분포가 높은 경향을 나타내었고 그 외는 큰 변동이 없었다.

지역별 차이는 고성만산이 돌산것보다 오염도가 다소 높은 경향을 나타냈다.

이상과 같은 현상은 신<sup>(15)</sup>이 일본 Hiroshima, Miyagi 산 생식 및 가공용 참굴에서 생균수를 조사한 성적과 유사한 경향을 보여 주었다.

### 2. 분리균주의 동정

참굴에서 128균주, 서식환경의 이토에서 126 균주, 해수에서 128 균주, 합계 382 균주를 분리하

Table 1. Bacterial counts of *Crassostrea gigas*, mud and sea water of the living environment at 35°C and 20°C.

Station	Sample	Culture Temp.	Sampling date		
			78. 12	79. 1	79. 2
Goseong bay, Gyungnam	<i>Crassostrea-gigas</i> }	35	$5.3 \times 10^3$	$1.2 \times 10^2$	$3.4 \times 10^2$
		20	$4.1 \times 10^5$	$1.8 \times 10^4$	$1.8 \times 10^5$
	Mud	20	$2.6 \times 10^6$	$4.7 \times 10^5$	$2.7 \times 10^5$
	Sae water	20	$3.7 \times 10^4$	$6.7 \times 10^3$	$5.1 \times 10^3$
Dolsan, Yeochon-gun, Chunam	<i>Crassostrea-gigas</i> }	35	$1.7 \times 10^2$	$4.4 \times 10^2$	$5.5 \times 10^2$
		20	$5.3 \times 10^4$	$7.7 \times 10^4$	$6.2 \times 10^4$
	Mud	20	$1.1 \times 10^6$	$2.8 \times 10^5$	$4.6 \times 10^5$
	Sae water	20	$3.6 \times 10^4$	$2.5 \times 10^3$	$3.6 \times 10^3$

Table 2. Morphological and biochemical characteristics of the identified strains from *Crassostrea gigas*, sea water and mud of its living environments.

Test	Genus	<i>Vibrio</i>	<i>Pseudomonas</i> I	<i>Pseudomonas</i> II	<i>Pseudomonas</i> III/IV	<i>Moraxella</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Flavobacterium-cytophaga</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Aeromonas</i>	Gram positive	Gram negative	Not determined
Form		Rod	Rod	Rod	Rod	Stout rod	Stout rod	Rod	Rod	Rod	Rod	Cocci	Rod or cocci
Gram strain		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+, -
Motility		+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	+, -
Cytochromeoxidase		+	+	+	+	+	-	-	-	+	-	-	+, -
Acid form Glucose <sup>a</sup>	aerobic	++	+	+	-~±	-	-	+, -	+	+	(Gas)	-	+, -
	anaerobic	++	-~±	-~±	-~±	-	-	-	+	+	(Gas)	-	+, -
Penicillin sensitivity		-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
Arginine		-	+	+	-	-	-	-	-~+	+	-	-	+, -
Catalase		-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
Fluorescent pigment		-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Yellow pigment		-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
No. of strain (382)		173	12	5	47	44	9	34	7	12	17	7	15
Percentage		45.3	3.1	1.3	12.3	11.5	2.4	8.9	1.8	3.1	4.6	1.8	3.9

여 형태학적, 생물화학적 성상을 검토하기 위해 *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium-cytophaga* 등은 Shewan<sup>(6)</sup>의 분류법에 따랐고 *Monaxella*, *Acinetobacter* 에 대해서는 Baumann<sup>(7,8)</sup>의 방법을 기초로하여 genus 별 동정한 결과는 Table 2. 와 같다.

Table 2. 에서 보는 바와 같이 분리균주 382 균주 가운데서 *Vibrio* 가 173 균주로 45.3%를 차지하여 우점종을 이루었고 *Pseudomonas* 가 64균주로 16.7%, *Moraxella* 가 44균주로 11.5%, *Flavobacterium-cytophaga* 가 34균주로 8.9%를 차지하여 이들 4 균속에 의해 82.3%를 점해 참굴 및 서식환경의 중요한 세균 Flora 를 구성하고 있었다.

Baumann<sup>(7,8)</sup> 등은 *Achromobacter* 를 cytochromoxidase와 penicillin 반응에서 양성이면 *Moraxella* 로 했고, 그 반대의 성상을 가진 것을 *Acinetobacter* 로 분류하였는데 이들 두 균속 모두 균형은 구형에 가까웠으므로 균과 구별하기 어려웠다.

*Pseudomonas* 속 64균주 중에서 *Pseudomonas* III/IV가 47균주로 73.4%를 차지하여 *Pseudomonas* 속의 거의 대부분을 점하고 있었다. 그 외 *Aeromonas*, gram 양성 및 음성균 등 다양한 세균상을 나타내었다.

### 3. 분리균의 서식환경에 따른 분포

참굴 및 그 서식환경의 이토와 해수에서 분리동정한 세균 Flora 의 분포를 Table 3. 에 표시하였다.

참굴에서 분리한 128균주 중 *Vibrio* 가 72균주로 56.3%, 과반수를 나타내었고 이토에서는 126균주 중 54.0%, 해수에서는 128균주 중 25.8%로 해수에서의 분포도가 현저히 낮게 검출되었다. 이는 신<sup>(16)</sup> 등이 東京灣, 相模灣에서 계절별 *Vibrio* 의 분포도를 조사한 성적 중 동계中 *Vibrio* 속의 분포도가 낮은 것과 유사한 결과를 나타내었으나 참굴에 농후하게 분포된 것은 이토 중에 서식한 생물로서 *Vibrio* 의 생태학적 특성과 어떤 밀접한 관련성이 있는 것으로 추정되어 금후 동계 *Vibrio* 분포도를 측정하는데 연구의 자료가 될 것으로 사료된다.

*Pseudomonas* 속 가운데서 *Pseudomonas* I 균형은 해수에만 출현하였고, *Pseudomonas* III/IV 균형은 참굴, 이토 중에서는 검출율이 낮았으나 해수에서는 높았다.

그 외의 균속에 대해서는 참굴 및 그 서식환경에 따른 큰 변동을 인정할 수 없었다.

Table 3. Distribution of bacteria isolated from *Crassostrea gigas*, mud and sea water of the living environment.

Sample	No. of station	Month	No. of strain	<i>Vibrio</i>	<i>Pseudomonas</i> I	<i>Pseudomonas</i> II	<i>Pseudomonas</i> III/W	<i>Moraxella</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Flavobacterium-cytophaga</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Aeromonas</i>	Gram positive	Gram negative	Not. determined
<i>Crassostrea gigas</i>	1	12	21	10	0	0	3	3	1	2	0	1	0	0	1
		1	22	10	0	0	2	4	1	3	0	1	0	0	1
		2	20	14	0	1	2	1	0	1	0	0	1	0	0
	2	12	21	11	0	0	0	3	0	2	0	1	0	2	2
		1	22	12	0	0	1	3	0	3	1	0	2	0	0
		2	22	15	0	0	1	2	1	2	0	0	0	0	1
sub total			128 (%)	72 (56.3)	0	1 (0.8)	9 (7.0)	16 (12.5)	3 (2.3)	13 (10.2)	1 (0.8)	3 (2.3)	3 (2.3)	2 (1.6)	5 (3.9)
Mud	1	12	20	10	0	0	2	2	0	3	1	0	2	0	0
		1	21	12	0	0	1	3	0	2	0	1	1	0	1
		2	22	10	0	1	2	3	1	2	1	0	0	1	1
	2	12	22	12	0	0	3	3	0	1	1	1	1	0	0
		1	20	11	0	0	2	3	0	2	0	0	0	1	1
		2	21	13	0	0	3	2	1	1	0	0	0	0	1
sub total			126 (%)	68 (54.0)	0	1 (0.8)	13 (10.3)	16 (12.7)	2 (1.6)	11 (8.7)	3 (2.4)	2 (1.6)	4 (3.2)	2 (1.6)	4 (3.2)
Sea water	1	12	22	6	0	1	5	2	1	2	1	2	2	0	0
		1	21	5	2	0	4	0	2	1	1	3	1	0	2
		2	20	7	2	1	5	3	0	1	0	0	0	0	1
	2	12	22	6	2	0	5	1	0	3	0	1	3	0	1
		1	22	4	2	0	3	4	1	2	1	1	2	0	2
		2	21	5	4	1	3	2	0	1	0	0	2	3	0
sub total			128 (%)	33 (25.8)	12 (9.4)	3 (2.3)	25 (19.5)	12 (9.4)	4 (3.1)	10 (7.8)	3 (2.3)	7 (5.5)	10 (7.8)	3 (2.3)	6 (4.7)
Total			382	173	12	5	47	44	9	34	7	12	17	7	15
Percentage			(100)	45.3	3.1	1.3	12.3	11.5	2.4	8.9	1.8	3.1	4.6	1.8	3.9

요 약

참굴의 성수기인 1978년 12월, 1979년 1월 및 2월에 걸쳐 주산지인 고성만과 돌산의 참굴과 그 참굴이 서식한 해수 및 이토 등을 시료로하여 세균의 오염도와 그 동정을 한 결과 다음과 같이 요약된다.

1. 생균수의 범위는 참굴, 이토, 해수에서 각

각  $10^4 \sim 10^6$ ,  $10^5 \sim 10^6$ ,  $10^3 \sim 10^4$  이었다.

2. 분리균 382균주 중에서 *Vibrio* 속이 45.3%로 우점종을 이루었고, *Pseudomonas* 속이 16.7%, *Moraxella* 속이 11.5%, *Flavobacterium-cytophaga* 속이 8.9%로 이들 4균속은 82.4% 나되어 참굴 및 그 서식한 해수 및 이토중에 중요한 세균 *Flora* 로 나타났다.

3. *Vibrio* 속으로 동정된 173균주 중 참굴에서 56.3%, 이토에서 54.0%, 해수에서 25.8%로 해

수 중의 분포도가 현저히 낮게 검출되었다.

4. *Pseudomonas* 속 가운데에서 *Pseudomonas* I 군형은 해수에만 검출되었고 *Pseudomonas* III/IV 군형도 해수에서 많이 출현하였으며 그 외 군속은 큰 변동이 보이지 않았다.

#### 참고문헌

- 1) Lerke, P., Adams, R. and Ferber, L. : *Appl. Microbiol.* **11**, 458 (1963).
- 2) Lerke, P., Adams, R. and Farber, L. : *ibid.* **13**, 625 (1965).
- 3) Adams, R., Farber, L. and Lerke, P. : *ibid.* **12**, 277 (1964).
- 4) Levin, R. E. : *ibid.* **16**, 1734 (1968).
- 5) 清水潮 : 日本水産學會誌. **35**, 768 (1969).
- 6) Shewan, J. M., Hobbs, G. and Hodgkiss, W. : *J. appl. Bact.* **23**, 463 (1960).
- 7) Baumann, P., Doudoroff, M. and Stanier, R. Y. : *J. Bacteriol.* **95**, 58 (1968).
- 8) Baumann, P., Doudoroff, M. and Stanier, R. Y. : *ibid.* **95**, 1520 (1968).
- 9) Kovacs, N. : *Nature.* **178**, 703 (1956).
- 10) Hugh, R. and Leifson, E. : *J. Bacteriol.* **64**, 24 (1953).
- 11) Leifson, E. : *ibid.* **85**, 1183 (1963).
- 12) Thornloy, M. J. : *J. appl. Bact.* **23**, 37 (1960).
- 13) Corlett, D. A., Lee, J. S. and Sinnhuber, R. O. : *Appl. Microbiol.* **13**, 818 (1965).
- 14) Garibaldi, J. A. : *J. Bacteriol.* **94**, 1296 (1967).
- 15) Society of American Bacteriologist: "Manual of Microbiological Methods", McGraw Hill Book Co., Inc., New York, (1957)
- 16) 신석우 : 여수수전지. **8**, 69 (1974).
- 17) 신석우, 堀江 進, 奥積昌世, 小林義久 : 日本水産學會誌, **42**, 1041 (1976).