

忠武灣 海水의 腐生細菌 分布와 相關係數 分析에 關하여

洪 淳 佑·河 永 七·安 泰 永

서울대학교 微生物學科

Distribution of saprophytic bacteria and correlation-coefficient analysis in the seawater of Chungmu bay, Korea.

Soon Woo Hong, Yung Chil Hah, and Tae Young Ahn.

Dept. of Microbiology, Seoul National University, Seoul 151, Korea

要約: 忠武灣에서 分離한 108個의 菌株에 대하여 고전적 분류방법과 수리적 분류방법을 비교하고, 균주간의 相關係數를 구하여 유사성을 確認하였다.

수리적 분류에서는 고전적 분류와는 달리 Gram(+)와 Gram(-) 菌株가 전체 cluster에 分散되어 있고, coccus와 rod가 분리되었으며, genus간의 分類는 수리적 방법과 고전적 방법 사이에 連關性이 크게 나타났다.

下層에서 採取된 균주는 다른 層에 비해 균주간의 분류학적 유사성이 떨어지는 것으로 나타났다. 또한 灣 內部(Group I)의 菌株와 外部(Group II)의 菌株間의 거리는 각 Group內의 菌株間의 연關성보다 적은 것으로 나타났으며, 干潮時 海水에서 분리된 균주와 滿潮時 분리된 균주間에는 連關性이 적음이 확인 되었다.

Abstract: Comparison of the classical taxonomy and the numerical taxonomy was carried out on 108 strains isolated from Chung-mu bay and it was confirmed that correlation coefficient measured between strains represented similarities.

Gram stain is the most important test in the classical taxonomy, while Gram positive and Gram negative strains were distributed evenly over the whole cluster and coccus and rod were separated in the numerical taxonomy. Both the numerical taxonomy and the classical taxonomy showed high similarity in the classification between the genera.

The strains collected in bottom layer marked lower taxonomic similarity between strains than those in upper and middle strains. The distance between the inside (Group I) and the outside (Group II) strains of the bay was larger than that between the strains collected in high and low tide.

緒 論

生態系는 영양단계에 따라 生産者, 消費者, 分解者로 나누어지며, 각 영양단계에 따라 에너지가 流轉되고 物質의 循環이 일어나게 된다. 그러나 文獻上으로 이용 가능한 生産性 算定, energy budgets, 먹이사슬의 表 등에서는 細菌이나 다른 microorganisms의 역할을 완전히 정할 수 없다. 微生物은 주로 정보의 부족때문에 微生物的 變數를 표시하는 방정식에 매하

게 정의된 要因으로써 취급되고 있는 실정이다. 水質調査를 하면서 단순히 물 1ml에 존재하는 細菌의 수를 보고하는 것은 충분하거나 정확하지 않다는 것은 명확하다(Colwell, 1973). 生態系를 完全하게 把握하기 위해서는 주어진 環境에 존재하는 細菌의 종류나 그들의 생화학적인 활성이 기술되어야만 한다.

그러나 국내에서는 水系에 존재하는 細菌의 개체수에 대한 보고는 많이 되어 있으나 種類 및 活性에 대한 보고가 매우 미흡한 상태이다. 그

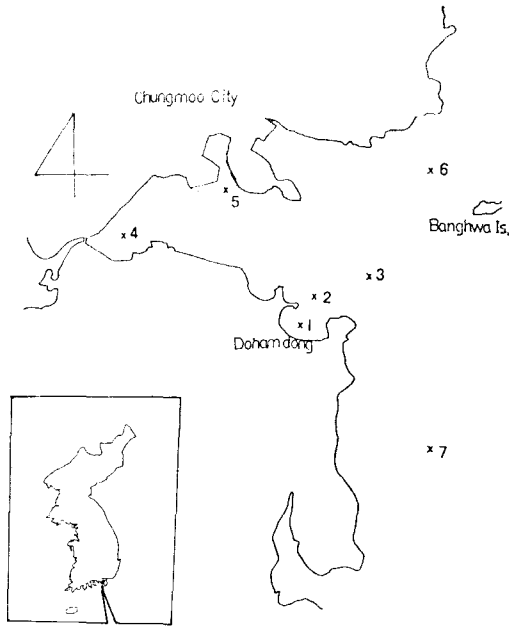


Fig. 1. Map showing the sampling sites in Chungmu bay.

Table 1. The distributrition of saprophytic bacteria in Chungmu bay.

정점	조위	간 조	만 조
1	상	6.0×10^3	1.1×10^6
1	하	1.9×10^4	6.4×10^4
2	상	1.4×10^4	5.4×10^4
2	하	9.3×10^4	2.5×10^4
3	상	7.5×10^3	5.5×10^4
3	중	4.8×10^4	1.4×10^6
3	하	2.0×10^4	5.4×10^4
4	상	4.3×10^4	2.0×10^4
4	하	6.4×10^4	1.0×10^4
5	상	5.1×10^4	1.0×10^4
5	하	1.0×10^6	1.1×10^6
6	상	1.5×10^4	3.5×10^4
6	중	3.2×10^4	7.0×10^4
6	하	1.5×10^3	3.5×10^4
7	상	7.0×10^4	1.8×10^4
7	중	5.3×10^4	4.1×10^4
7	하	4.0×10^4	4.7×10^4

러므로 본 연구에서는 分解者로서 생태계의 물질순환에 기여하는 細菌을 대상으로 고전적인 분류와 數理的 分類(numerical taxonomy)를 비교하여 生態系內에서 분해자의 구성요인을 명확하게 이해하고, 각 정점간의 細菌의 相關關係를 파악하고자 실시하였다.

材料 및 方法

調査位置는 忠武灣에서 Fig. 1에 表示된 7個地點을 選定하여 調査하였다. 1983년 7월 10일과 11일에 逐日별로 定點 3, 6, 7에서는 上·中·下層, 定點 1, 2, 4, 5에서는 上層과 下層에서 干潮·滿潮로 區分하여 38個의 試料를 採取하였다.

Table 2. Generic percentage distribution of saprophytic bacteria isolated from seawater by several localities and investigators. (%)

Genus	Chesapeake bay	Long is. sound	Narragensette	Kamogawa	Jinhae bay	Chungmu bay
<i>Acinetobacter</i>	13.0	28.6	12.2	21.3	13.4	8.3
<i>Actinobacillus</i>	—	—	—	—	—	8.3
<i>Aeromonas</i>	—	—	—	—	—	1.0
<i>Bacillus</i>	—	0.1	0.5	5.5	1.9	3.7
<i>Coryneforms</i>	—	—	—	—	—	1.0
<i>Cytophaga</i>	—	0.4	—	—	—	—
<i>Enterobactericeae*</i>	—	—	—	—	8.4	11.1
<i>Flavobacterium</i>	6.0	23.1	40.7	2.1	4.4	1.9
<i>Micrococcus</i>	—	0.3	1.2	0.4	0.5	1.9
<i>Moraxella</i>	—	—	—	—	—	13.0
<i>Pseudomonas</i>	18.0	40.6	28.3	29.8	31.6	16.7
<i>Streptococcus</i>	—	—	—	—	—	3.7
<i>Vibrio</i>	56.0	4.9	13.3	37.3	35.4	27.8

*: Dominantly *E. coli* group but included other enterobacteria

1) 一般細菌

ZoBell 2216e medium에 도달하여 25°C에서 24~48시간 배양후 計數하였다. (Table 1)

2) 分離 · 同定

ZoBell 2216e media에 나타난 colony중에서 무작위로 108個의 菌株를 분리하여 보관용 균주와 실험용 균주 2가지로 배양하였다.

이들 균주는 數理的 分類方法(numerical taxonomy)에 의한 분류를 목적으로 生理 · 生化學的 實驗을 함으로써 특성을 밝혔다. 적용한 분석실험들은 특정균주 편향 혹은 특정실험 편향을 두지않고 임의로 실시하였으며 모든 菌株에 동일 조건을 주어 행하여졌다.

資料의 分析

1. Numerical Taxonomy

108個의 菌株는 각각 1개의 OTU(operational taxonomic unit)라고 가정하고 얻어진 49개 (Table 3의 生理實驗과 colony의 형태 및 색에 의한 character로 구성)의 character에 의해 correlation coefficient를 구하였다. correlation coefficient는 Pearson product moment coefficient로 구하였으며 그 식은 다음과 같다.

$$r_{jk} = \frac{\sum_{i=1}^n (X_{ij} - \bar{X}_j)(X_{ik} - \bar{X}_k)}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (X_{ij} - \bar{X}_j)^2 \sum_{i=1}^n (X_{ik} - \bar{X}_k)^2}}$$

r_{jk} = coefficient between OTUj and OTUk

X_{ij} = character state value of character i in OTUj

\bar{X}_j = mean of all state values for OTUj

n = number of characters

여기서 얻어지는 coefficient는 -1에서 +1까지의 값을 취하며 이들 coefficient에 의해 OTU를 cluster 시켰다.

cluster의 방법은 UPGMA(unweighted pair group method using arithmetic average)를 사용하였다. 이 방법은 Sokal과 Michener(1958)에 의해 개발되었으며 각 cluster간의 average coefficient에 의하여 분류 기준을 두고 있으며 가장 보편적인 사용방법이다. 모든 계산은 한국과학기술원 소유의 CYBER 170 computer를 이용하였

으며 자체 개발 프로그램 및 비치된 library 프로그램을 사용하였다.

2. 各 菌株의 分類 資料分析

菌株間의 correlation에 의한 分析을 하기 위해 Pearson correlation matrix 대신에 association coefficient matrix를 구하여 사용하였다.

association coefficient는

$$r_{ij} = \frac{a+b}{a+b+c}$$

a = number of positive matching characters between i and j

b = number of negative matching characters between i and j

c = number of characters between i and j that close not match

로 주어지며 계산상 사용하기가 쉽다(Sokal and Michener, 1958).

이 coefficient에 의해 菌株間의 유사성을 표시하였으며 통계처리를 하였다. 통계처리는 各 定點, 水深 및 干潮와 滿潮에 따라 여러가지 조합에 의해 처리하였다. 또한 모든 統計分析은 Vogelback university에서 개발된 SPSS (statistical package for social sciences)를 사용하였다.

結果 및 考察

고전적인 분류방법과 수리적 분류방법과의 가장 큰 차이점은 자료의 偏重을 지양하는 데 있다(Sneath, 1957a, b). 이는 고전적인 분류방법이 細菌의 形態와 生理의 特性에 치중하므로 수리적 분류가 자료의 편중을 지양하는 데 유리한 면을 지닌다. 즉 實驗의 種類는 많아지나(最小 40個 以上의 character일때 統計的 的의를 갖는다고 본다. Sneath and Sokal, 1962) 동일 條件下에서 모든 균주에 적용이 되면 菌株의 變異나 實驗結果의 變異性에 관계없이 하나의 實驗이 하나의 character로서 的의를 가질 수 있다.

Fig. 2는 忠武灣에서 分離한 균주를 分類하기 위한 분류 scheme으로 Schwan의 분류 scheme을 변형한 것이다. 이것에 따르면 忠武灣에서는 *Vitrio*(27.8%), *Pseudomonas*(16.7%), *Moraxella*(13.0%), *Enterobacteriaceae*(11.1%)가 우점

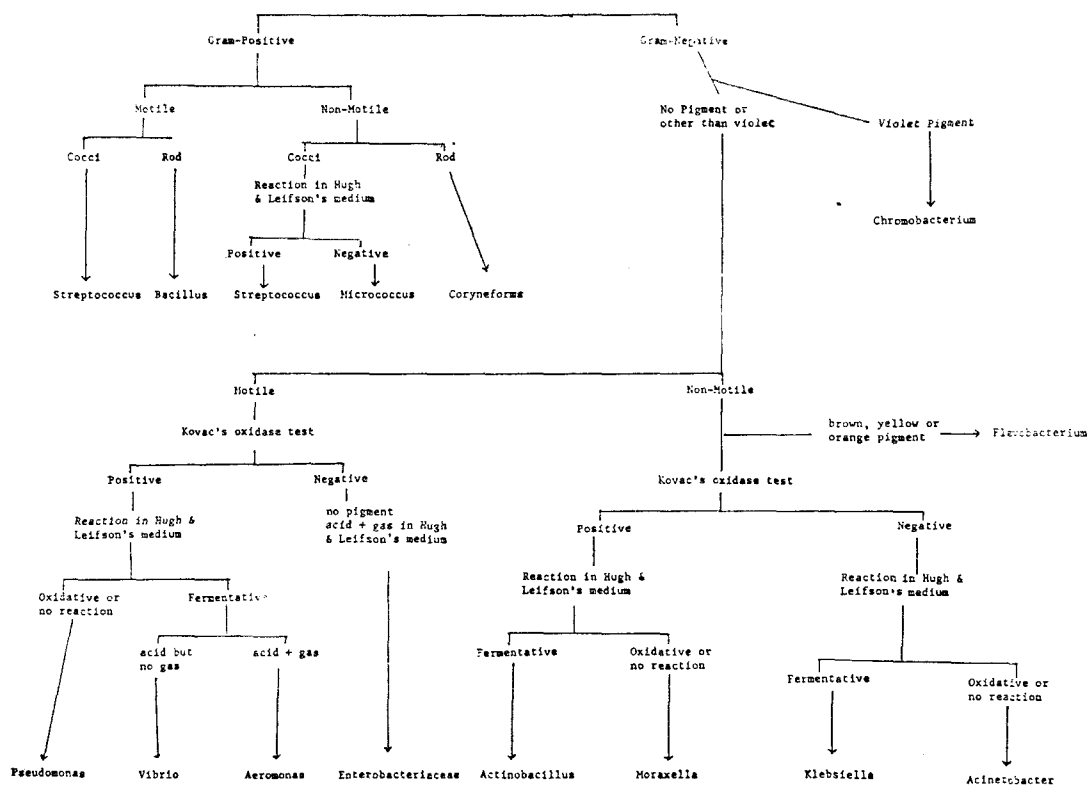


Fig. 2. Outline of the sequences of tests used in the identifying of the bacteria isolated

적으로 나타나고 있다. 이러한 種單位 組成의 結果는 Kamogaway灣이나 鎮海灣의 경우와 유사한 현상을 나타내고 있다(Table 2). 한편 본 연구에서는 分類 scheme을 좀 더 細分化했으므로 *Moraxella*를 비롯한 다른 genus가 출현하였음이 특이하였다.

Fig. 3은 고전적인 분류에 각 균주를 cluster하여 matrix에 의해 phenogram으로 나타내었다. 옆의 genus와 比較해보면 대체적으로 연관성을 보이나 cluster에 의한 phenogram의 連結은 coccus와 rod의 분리가 뚜렷한 반면 Gram(+)와 Gram(-)의 분포는 分散되어 있다(Table 3 참조). 이러한 현상은 수리적 분류가 phylogeny에 의한 것이 아니라 phenotype에 의한 分類이므로 Gram(+)와 Gram(-)를 가장 중요하게 분류하는 고전적 분류와 다르게 나타난 것으로 생각된다. 또한 Fig. 3에서 우측에 표시된 genus중, 같은 genus가 cluster에서는 멀리 떨어지는 현상이 나타나고 있다. 이것은 genus를 결정하기 위해서는 몇가지의 test만이 사용되지만 cluster를 위해서

는 다른 많은 test가 이용되므로 다른 genus라도 生理的인 性質이 유사하면 cluster에서는 가깝게 나타나게 된다.

numerical taxonomy의 다른 장점은 菌株間의 관계가 coefficient로 표시될 수 있기 때문에 이를 토대로 다른 數理的 分析을 할 수 있는 데 있다. 本研究에서는 우선 菌株의 棲息地를 각각 7個 定點×3個의 水深×(干潮, 滿潮)로 하여 38個의 分類群에 의한 조합으로 통계처리하였다. 여기서 사용한 變數는 각 균주간의 binary similarity coefficient를 처리한 것이므로 각 분류군의 평균은 群內의 각 개체간의 phenetic 또는 taxonomic 거리의 대표치로, 그리고 標準偏差는 全體의 종류 즉 多樣性의 표현 값으로 생각될 수 있다.

이러한 資料에 의거하여 전체평균은 0.704, 표준편차는 0.86으로 계산되었다. 여기에 taxonomy에 사용한 전체 character 수는 49個이므로 1/49=0.02의 差異가 한개의 character의 차이를 표현한다. Table 4에서 보는 바와같이 각 定點內의 중간값은 Group I (定點 1, 2, 3, 5)에서는 상대적

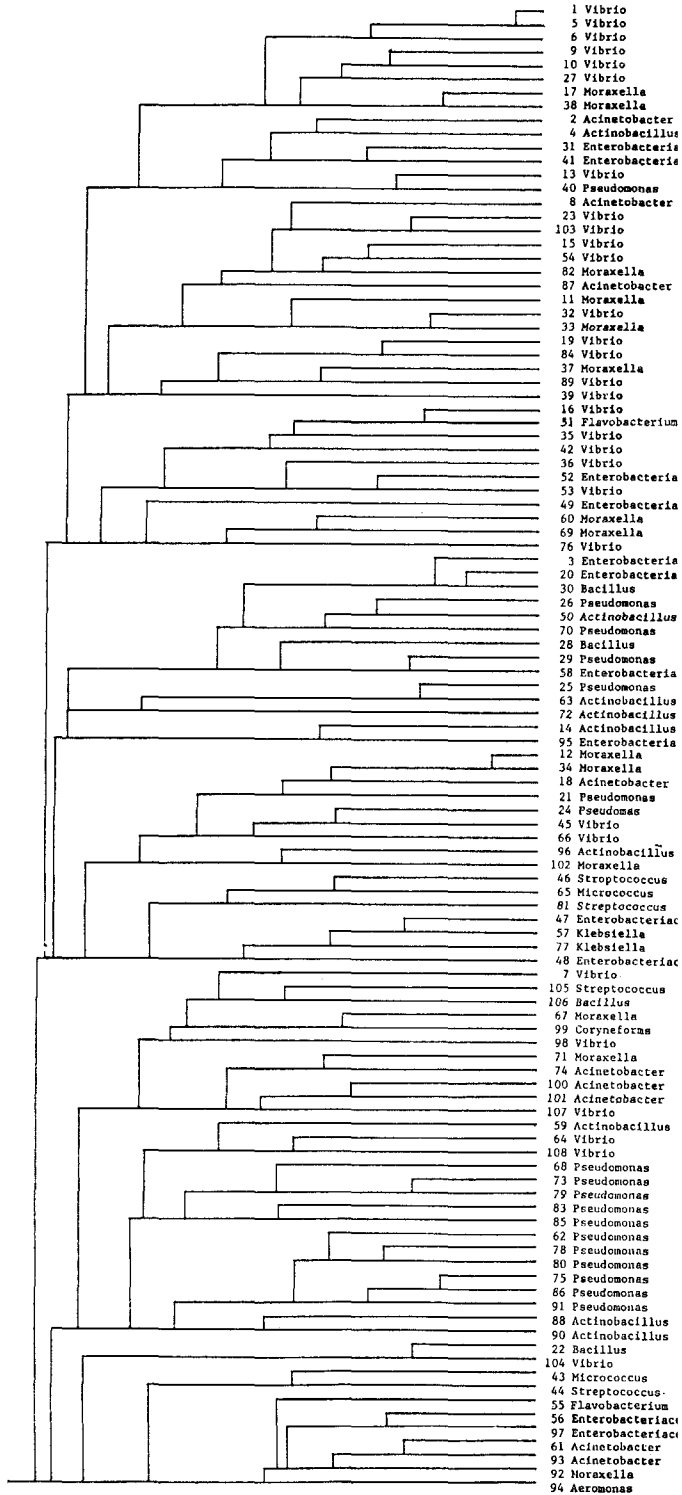


Fig. 3. Phenogram of 108 strains isolated from Chungmu bay.

Table 5. The statistical table of similarity between sites.

구분	통계	MEAN	STDV	VAR.	MIN.	MAX.	C.V%	SKEWNESS
상 대 중		.713	.085	.007	.483	.932	11.876	-.196
중 대 하		.696	.087	.008	.441	.949	12.506	-.029
상 대 하		.691	.083	.007	.458	.966	12.020	-.030
간 대 만		.668	.086	.007	.424	.915	12.885	.064
1 대 2		.724	.089	.008	.542	.983	12.227	.305
1 대 3		.745	.076	.006	.542	.949	10.217	.080
1 대 4		.731	.078	.006	.595	.932	10.717	.155
1 대 5		.737	.078	.006	.535	.932	10.625	-.185
1 대 6		.672	.088	.008	.491	.848	13.169	.246
1 대 7		.697	.072	.005	.535	.864	10.261	.130
2 대 3		.751	.080	.006	.475	.915	10.657	-.199
2 대 4		.712	.087	.008	.492	.915	12.188	.328
2 대 5		.749	.089	.008	.552	.949	11.883	-.109
2 대 6		.671	.079	.006	.500	.864	11.819	.107
2 대 7		.694	.073	.005	.491	.855	10.569	.018
3 대 4		.715	.082	.007	.474	.949	11.532	.232
3 대 5		.729	.039	.009	.509	.666	12.746	-.088
3 대 6		.664	.089	.008	.474	.915	13.404	.119
3 대 7		.689	.082	.007	.500	.915	11.834	.276
4 대 5		.688	.093	.009	.483	.914	13.542	.041
4 대 6		.662	.073	.005	.500	.848	10.970	.377
4 대 7		.676	.078	.006	.509	.877	11.482	.137
5 대 6		.671	.103	.007	.448	.879	15.393	-.196
5 대 7		.672	.087	.007	.500	.889	12.509	.030
6 대 7		.684	.085	.007	.483	.897	12.495	.154
TOTAL		17.501	2.095	—	12.400	22.799	299.526	—
AVERAGE		.700	.084	—	.496	.912	11.981	—

STDV; STANDARD DEVIATION VAR.; VARIANCE C.V%; COEFFICIENT OF VARIATION

으로 높은 값을 나타내는데 비하여 Group II (定點 6, 7)에서는 낮은 값을 나타내었으며, 표준편차는 定點 2와 5에서 높은 값을 나타내고 定點 1, 3, 7에서는 낮은 값을 나타내었다. 이것은 Fig. 1에서 보는 바와같이 定點 6과 7은 相對的으로 有機物 汚染原으로부터 멀리 떨어져 있고 다른 定點은 인접해 있어, 汚染原과의 거리와 棲息地內的 菌株間的 유사성 사이에는 연관이 있는 것으로 추정된다. 또 定點 5가 忠武市의 부두 앞에 위치하며, 定點 2는 道南灣의 앞에 위치하여 有機物의 流入이 많은 것을 고려하면, 유기물과 microflora의 多樣性 사이에 연관이 있음을 알 수 있다. 한편 定點 4에서는 地理的 여건으로는 Group I과 유사하나 지형적인 여건, 즉 급격하게 협소해져 潮流가 강하게 흐르므로

Group I과 Group II의 중간적인 성질을 나타낸다.

水深別로 보면 下層水의 중간값이 上·中層에 비하여 낮게 나타나므로 下層은 相對的으로 平均 거리의 거리가 먼 것으로 나타난다. 한편 干潮時와 滿潮時는 중간값이 0.736과 0.717, 표준편차가 0.084와 0.079로 큰 差異는 없었다.

Table 5는 각 비교군간의 coefficient에 대한 통계자료로 중간값의 평균치가 비교군내의 coefficient의 중간값의 평균치와 별 차이가 없으며(0.700과 0.716), 分散 또한 비슷하다. 그러나 각 정점간의 比較係數를 볼 때 Group I (定點 1, 2, 3, 5)과 Group II (定點 6, 7)에 속하는 定點間에는 같은 Group에 속하는 定點間의 중간값이 다른 Group에 속하는 定點間의 중간값보다 높게 나타나고

있다. 이와같이 忠武灣은 定點間의 비교에서도 2개의 Group으로 나뉘어지며, 이는 灣内部와 外部의 棲息地의 差異로 菌株間의 거리가 멀어진 것으로 추정된다. 定點 4는 定點間의 비교에서도 Group I 과 Group II의 중간적인 성질을 나타내고 있음을 알 수 있다. 한편 간조와 만조 사이의 중간값도 낮게 나타나고 있어 干潮와 滿潮時에 채취된 菌株 사이에는 거리가 있는 것으로 추정된다.

謝 辭

本 研究에서 資料의 電算處理를 도와준 김 준형, 이 동훈군에게 심심한 사의를 표합니다.

參 考 文 獻

- Aaronson, sheldon. 1970. Experimental Microbial Ecology. Academic press. pp.236.
- American Public Health Association Inc. 1970. Recommended Procedures for the Examination of Seawater and Shell fish. pp.105.
- Baumann, L., P., Baumann, and M. Mandel. 1971. Taxonomy of marine bacteria, the genus *Beneckea*. J. Bacteriol., 107:268-293.
- Baumann, L., P. Baumann, M. Mendel, and R.C. Allen. 1972. Taxonomy of aerobic marine eubacteria. J. Bacteriol., 110:402-429.
- Buchanan, R.E., and L. Libbons. et al. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed. Williams, and Wilrins. Co. pp.1246.
- Colwell, R.R., 1973. The use of numerical taxonomy in Estuarine Microbial Ecology, L.H. Stevenson. and R.R. Colwell (eds): 91-113. Univ. of South Carolina Press.
- Control Data Corporation. 1982. Fortran Version 5 Reference Manual.
- Control Data Corporation. 1983. Nos Version 2 Reference Set.
- Conan, S.T., and K.J. Steel. 1974. Manual for the Identification of Medical Bacteria. Cambridge University Press. pp.238.
- Daniel, Wayne W. 1974. Biostatistics. A Foundation for Analysis in the Health Sciences. John Wiley & Sons, Inc. pp.448.
- Eklund, Curtis and Lankford, Charles E. 1977. Laboratory manual for General Microbiology. Prentice-Hall, Inc., pp.299.
- Goldr Harvey J. 1977. The mathematical Modeling of Biological Systems. An Introduction Guide Book. John Wiley & Sons. Inc. pp.357.
- Klecka, William R, and Hull C, Hadlai, et al. 1975. SPSS-Primer. Mcgrawhill.
- Kuo, Shans. sun. 1972. Computer Applications of Numerical Methods. Addison-Wesley Publishing Co. pp.415.
- Kwon, O. Seob. 1983. Isolation, Identification and Variation Pattern of General Bacteria in Jinhae Bay. M.S. thesis, Dept. of Microbiology. Seoul National University.
- Pesczar, Michael J. jr. 1965. Laboratory Exercise in Microbiology, 2nd ed. Mcgrawhill, Book Co. pp.344.
- Pfister R.M. and P.R. Burkholder. 1965. Numerical Taxonomy of some Bacteria isolated from Antarctic and Tropical Sea Water. J. Bacteriol., 90:863-872.
- Sneath, P.H.A. 1957a. Some thoughts on bacterial classification. J. Gen. Microbiol., 17:201-226.
- Sneath, Peter H.A. and Robert R. Sokal. 1973. Numerical Taxonomy. W.H. Freeman and Co.
- Ware, G.C. 1972. Computer Uses in Microbiology. In: Methods in Microbiology 7A, J.R. Norris and D.W. Ribbons (eds.):1-28.

Received 17 October, 1985

1985年度 秋季 研究發表會

日時：1985年 11月 9日, 場所：서울大學校

1. 대천해변 어류군집의 계절적 변동.....이태원 · 신민철*(충남대)
2. Nitrogen regeneration by macrozooplankton in the southwestern Sea of Korea; Application of a laboratory-made, battery-operated colorimeter for the rapid ammonium measurement in the field ...박용철* · 최중기 · 조준성(인하대)
3. 경기만 식물플랑크톤 군집의 계절적 천이기작심재형(서울대) · 최중기*(인하대)
4. 부유성 피낭류(Tunicata)의 개체군 성장에 대하여.....최승민(한양대)
5. Primary productivity measurement using Carbon-14, glutamate dehydrogenase activity of zooplankton and nitrogenous nutrient dynamics in the southwestern part of the East Sea, Korea심재형(서울대) · 박용철*(인하대)
6. 진해만에 있어서의 *Thalassosira*속의 분류학적 연구이진환(상명대)
7. 한국 남해안 Calanoid 유생기의 형태학적 연구이삼석(국립수산진흥원)
8. 마산만 외편 모조류의 분류학적 연구 :
 1. Procoecentrum에 대하여.....유광일 · 이준백*(한양대)
9. 광양만에서의 현생 저서유공충 의의.....장순근(해양연구소)
10. 한강 종합개발 이전의 한강 하구에서 퇴적환경에 관한 연구.....오재경(인하대)
11. 서산만조간대 퇴적상 및 퇴적구조에 관한 연구.....박용안 · 이일상*(서울대)
12. 앙골라분지 백악기 흑색셰일층에 함유된 유기물의 기원과 그퇴적과정에 대하여.....박영수(동자연)
13. 소서태평양의 해양물리학적 특성.....권현장(수로국)
14. Annulus를 이용한 혼합층 성장실험에 대하여.....윤순창(서울대)
15. Development of double boundary layers under the influence of progressive finite amplitude wave오임상(서울대)
16. Trace of the 1983 Japan Sea Tsunami observed from space Yoshinobu Tsuji* Atsushi Takeda Shinkichi Kishi(일본국립방재센터)
17. A comparison of surface wind at eastern coastal sites and an offshore station...최 효(해양연구소)
18. 한국 근해상의 파랑 예측강시환* · 전기철(해양연구소)
19. 황해조석사주의 토사이동 방향추정최병호(성균관대)
20. 한국 동남해역 대륙붕의 퇴적상에 관한 연구.....박용안 · 최진용*(서울대)
21. 한국 동해중부해역의 대륙붕단 형성에 관한 연구.....박용안 · 송영일*(서울대)
22. 하계 동해에서의 수형에 따른 T-S체적 분포.....조규대 · 손재경*(부산수산대)
23. Hydrographic structures and circulation in the southeastern Yellow Sea in summer김 구 · 이상호*(서울대)