

## 낙동강하구에서의 미생물 다양성과 환경변화에 따른 내성한계

\*권오섭·하영철·홍순우

\*인제대학 환경학과, 서울대학교 미생물학과

### Variations of diversity and tolerance indices of heterotrophic bacterial communities in Naktong Estuary

\*Kwon, O.S., Y.C. Hah., and S.W. Hong

\*Dept. of Environmental Science, Inje College

Dept. of Microbiology, Seoul National University

**ABSTRACT:** To determine the characteristics of heterotrophic bacterial community in estuarine ecosystem, water and sediment samples were taken from Naktong estuary. All isolates were compared with 73 characters and described by cluster analysis. With same characters, 30 reference strains were able to divide into approximate species level at 80% similarity (S value). Diversity indices ( $H^1$ ) of sediment column isolates were higher than water column isolates. The bacterial community commonly appeared in water and sediment column was reduced with going to downstream. Tolerance indices for temperature (Pt) and salinity (Ps) were also higher in sediment isolates than in water isolates. The bacterial community in sediment column is believed to be composed with diverse populations compared to water column and maintains its stability against various environmental changes with high physiological tolerances.

**KEY WORDS** □ heterotrophic bacterial community, diversity index, tolerance index.

미생물의 분포는 주위환경에 많은 영향을 받는다. 특히 하구에서는 주변에서 유입되는 담수와 외양에서 밀려오는 해수에 존재하는 미생물이 혼합되어 다양하게 존재할 뿐만 아니라, 강우에 따른 육상에서 유입되는 토양세균의 영향(Collins, 1960; Moss and Ryall, 1981)도 무시할 수 없다. 이러한 연안해양에서의 미생물에 대한 연구가 많이 이루어져 특정 연안의 미생물동태에 대해서는 이미 저서로 발간되기도 하였다(Steven and Colwell, 1973; Rheinheimer, 1977). 그러나 이들 연구의 대부분은 질병의 원인균에 관한 것이거나 특이한 형질을 지닌 세균의 분포에 국한한 것들(Buckley *et al.*, 1976; Dutka and Kwan, 1977; Oliver *et al.*, 1983; Mullings and

Parish, 1984 and others)이 많았으며, 모든 호기성 중속영양세균을 대상으로 한 연구는 활발하지 못한 실정이었다. 그러나 근간에 컴퓨터의 등장과 수치분류학(Sokal and Sneath, 1963)의 발달에 의해 많은 양의 자료를 처리할 능력이 생기고 나서 성행하게 되었으며(Krieg and Lockhart, 1966; Lighthart, 1975; Niemela and Sundman, 1977), 또한 수치분류에 의한 미생물 상호간의 유사성으로 diversity index를 구하는 등 새로운 방법이 창출되면서 미생물 군집구조를 분석하는 연구도 매우 활발해졌다(Hauxhurst *et al.*, 1981; Troussellier and Legendre, 1981; Bianchi and Bianchi, 1982). 따라서 본 연구는 몇가지 새로운 방법론을 도입하여 낙동강 감조수

역같이 수시로 환경요인이 변하는 여건하에서 세균군집의 구조가 어떠한 변화를 나타내며 수층부(water column)와 저층부(sediment column) 사이의 미생물 군집은 상이점을 나타내는지 비교 검토하고자하는데 역점을 두었다. 낙동강하구는 조만간 완공예정인 하구언에 의해 해수의 유입이 차단되어지게 되어있음을 감안할 때 현재와 같이 해수와 담수가 교차하여 이루어진 세균군집의 구조가 공사완공후 어떠한 변화를 초래할 것인지를 가늠하는 데 좋은 자료가 될 것으로 생각된다.

## 재료 및 방법

### 시료 채취 및 균주 분리

시료는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 낙동강 하구 감조수역 3개소에서 채취하였다. 구포(정점 K)는 최대만조 시 염분도가 5‰까지에 이르기도하나 대부분의 경우는 0‰이다. 명지(정점 M)는 담수와 해수가 늘 교차하는 곳으로 염분도가 7-18‰ 범위로 오가며 다대포 앞바다(정점 T)는 간조시 상층수(정점 T-S)의 염분도가 18‰까지 내려가나 통상 25-30‰를 유지하는 곳이다.

각 정점에서 채취한 수층과 저층시료는 8시간 이내에 실험실로 운반, serial dilution하여 ① N-0 배지(beef extract 3g, peptone 5g, agar 15g, water from st. K 1 l), ② N-10 배지(beef

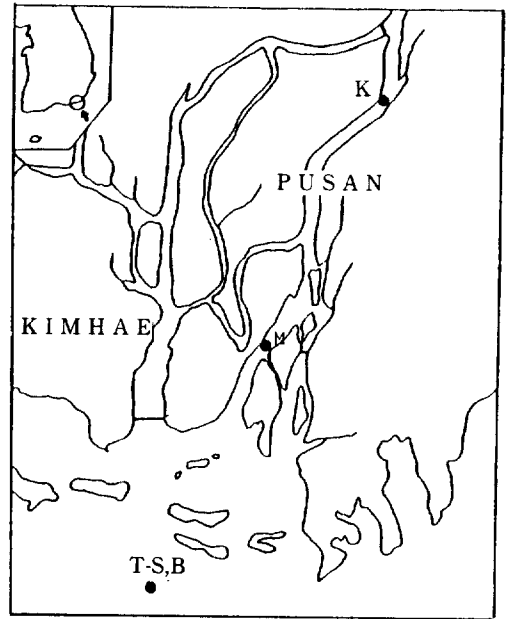


Fig. 1. Sampling sites in Nakdong Estuary

extract 3g, peptone 5g, agar 15g, water from st. M 1 l), ③ Z-25 배지(peptone 5g, yeast extract 1g, FePO<sub>4</sub> 0.1g, agar 15g, water from st. T-S 1 l) 등 3종류의 배지에 접종하였다. 이들 접종배지는 25°C에서 5일간 배양한 후 각 배지에서의 개체수를 구하여 많은 값을 나타내는 배지에서의 colony를 random isolation 하였다.

Table 1. Identification characters for heterotrophic bacteria isolated from Nakdong Estuary

### Morphological characters;

cell shape, cell size, cell arrangement, motility, Gram stain, colony form, colony size, pellicle formation, pigment, different pigment on gelatine, starch, and tween 80, diffusible pigment

### Cultural characters;

growth in/at gelatine, 4 C, 37 C, 44 C, pH 4.5, pH 9.5, 0% NaCl, 1.5% NaCl, 3.0% NaCl, 5.0% NaCl, 10.0% NaCl, KCl (equimolar to 0.8 or 1.6% NaCl)

### Biochemical characters;

indole test, MR-VP test, oxidase test, catalase test, urease production, digestion of casein, citrate utilization, sensitivity to KCN and sodium lauryl sulfate, OF test (oxidative, fermentative, anaerobic gas, aerobic reduction of bromothymol blue, anaerobic reduction of bromothymol blue, aerobic alkaline production, anaerobic alkaline production), reactions on triple sugar iron agar (acid butt, acid slant, gas production, H<sub>2</sub>S production), reduction of nitrate (to nitrite, nitrogen gas, and ammonia), formation of ammonia from peptone, degradation of starch, gelatine, tween 80, tween 60, tween 40, and tween 20, acid from 1% carbohydrates (fructose, rhamnose, xylose, maltose, raffinose, starch, glycerol, mannose, lactose, adonitol, galactose, inositol, sucrose, sorbitol, mannitol, salicin) and 5% ethanol

**형질비교실험**

형질비교는 73가지의 형태학적 및 생리학적 특성을 확인, 사용하였으며 온도에 대한 내성실험을 제외한 여타 항목은 25°C에서 3-5일간 배양한 후 관찰하였다. 시험방법은 Gerhardt *et al.*, (1981)에 따랐으며 Table 1과 같은 항목을 교류 확인하였다.

**통계분석**

실험결과는 binary form(ex. indole formation: not tested; O, positive result; 1, negative result; 2) 혹은 multistate form(ex. cell shape: not tested; O, cocci; 1, rod; 2, spiral; 3, pleomorphic; 4, others; 5)으로 나타내었다. 유사도는 다음과 같이 계산하였다.

$$\frac{N_s}{N_s + N_d} \times 100 = S(\%)$$

본 식에서 N<sub>s</sub>는 비교균주 사이에 같은 특징을 지닌 형질의 수, N<sub>d</sub>는 비교균주 사이에 다른 특징을 지닌 형질의 수이다.

이렇게 구한 유사도(S value)를 Sokal and

Sneath(1963)의 single linkage cluster에 따라 cluster analysis하였으며 Shannon의 diversity index(Pielou, 1966)에 의해 species diversity를 구하였다.

$$H' = - \sum \left( \frac{n_i}{N} \right) \ln \left( \frac{n_i}{N} \right)$$

여기서 H'는 species diversity이며, n<sub>i</sub>는 i번째 cluster의 분리균주, N은 전체분리균수이다. 생리학적 내성한계치(physiological tolerance index)는 미생물군집이 외부환경의 온도, 염분도 및 pH 등의 변화에 견딜 수 있는 능력을 표시(Hauxhurst *et al.*, 1981)하는데, 그 식은 다음과 같다.

$$P_x = \sum G_{x_i} / n.$$

위 식에서 P<sub>x</sub>는 온도(P<sub>t</sub>), 염분도(P<sub>s</sub>) 및 pH(P<sub>h</sub>)의 tolerance index이며, G<sub>x<sub>i</sub></sub>는 전체분리균수 중 각 parameter의 특수 조건에서 자라는 분리균주의 비율을 나타내며, n은 각 parameter의 특수 조건에서 실험한 균주수를 나타낸다.

**Table 2. Physical, chemical, and microbiological parameters at each sites of Nakdong Estuary at the time of sampling**

	water column				sediment column		
	K	M	T-S	T-B	K	M	T
temperature, C	20.0	17.0	18.0	15.5			
pH	7.4	7.9	7.9	8.1			
salinity, ‰	5.6	19.0	28.0	30.0			
DO, mg/l	3.4	5.6	7.8	7.8			
BOD, mg/l	3.6	5.4	4.8	3.8			
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , ug-at N/l	182	99	—	6			
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , ug-at N/l	75	43	9	9			
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , ug-at N/l	816	215	70	61			
PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , ug-at P/l	31	22	23	8			
HB <sup>#</sup> /ml <sup>##</sup>							
at N-O medium	1.8 × 10 <sup>5</sup>	1.2 × 10 <sup>4</sup>	9.4 × 10 <sup>2</sup>	5.8 × 10 <sup>3</sup>	3.7 × 10 <sup>7</sup>	1.2 × 10 <sup>7</sup>	2.1 × 10 <sup>6</sup>
at N-10 medium	2.2 × 10 <sup>5</sup>	4.4 × 10 <sup>4</sup>	8.5 × 10 <sup>3</sup>	5.9 × 10 <sup>3</sup>	2.1 × 10 <sup>7</sup>	1.6 × 10 <sup>7</sup>	1.8 × 10 <sup>7</sup>
Z-25 medium	9.9 × 10 <sup>3</sup>	1.9 × 10 <sup>4</sup>	4.5 × 10 <sup>3</sup>	7.0 × 10 <sup>3</sup>	9.7 × 10 <sup>6</sup>	8.0 × 10 <sup>6</sup>	1.4 × 10 <sup>7</sup>
TCB*, MPN/100 ml	46000	4800	240	14			
FCB**, MPN/100 ml	2300	1200	7	0			
SFB***, cells/ml	31	13	1	3			

<sup>#</sup>heterotrophic bacteria; <sup>##</sup>In cases of sediment, it is g (wet weight).; \* total coliform bacteria; \*\*fecal coliform bacteria; \*\*\* spore-forming bacteria

## 결과 및 고찰

각 조사정점에서의 중속영양세균의 개체수와 환경요인을 Table 2에 나타냈다. 하구와 같이 담수와 해수가 교차하는 수역에서는 배지의 염분도에 따라 출현하는 균이 달라지므로 (Rheinheimer, 1977), 미생물군집을 파악하기 위해서는 알맞은 배지의 선택이 우선되어야 한다. Table 2에 나타난 바와 같이 각 정점에서 채수한 공시수로 제조한 배지에서 대체로 가장 많은 콜로니수를 관찰할 수 있다. 개체수가 많다는 것은 다양한 세균의 종이 포함되어 있음을 의미할 수 있다. 따라서 정점 K에서는 N-0배지에, 정점 M에서는 N-10배지에, 정점 T-S와 T-B에서는 Z-25배지에 나타난 colony를 분리하여 실험하였다. 수층부의 경우 N-0와 N-10배지에서의 개체수가 염분도가 높은 정점으로 갈수록 감소하였다. 이는 N-0배지에 나타나는 세균의 대부분이 담수성에 기인한 것이고, N-10배지에 나타난 세균은 일부 가벼운 호염성세균이어서 바닷물의 높은 염분을 견디지 못하기 때문이다.

종 기준의 구분은 Liston 등(1963)과 Tsukamura(1976, 1985)에 따르면 75% 이상의 유사성(S value)을 가진 것을 같은 종으로 취급하였다. 그러나 이들의 실험항목과 본 실험의 항목이 다르므로 30종의 대조균주를 사용하여 먼저 종의 설정기준을 구하였다(Fig. 2). 4개 균주의 *Aeromonas hydrophila* 사이에서는 82.8%, 4개균주의 *Pseudomonas fluorescense*는 81.3%, 2개균주의 *Pseudomonas aeruginosa*는 89.7%, 2개균주의 *Staphylococcus aureus*는 88.2%의 유사성을 나타냈다. *Enterobacteriaceae*에 속하는 *Escherichia coli*와 *Citrobacter agglomerans* 사이는 82.6%, *Yersina*와 *Edwardsiella tarda* 사이는 75.6%의 유사성을 나타냈다. Coryneform bacteria인 *Arthrobacter simplex*는 *Bacillus* spp.와 *Corynebacterium callunae*와 *Arthrobacter citreus*는 *Micrococcus* spp.와 *C. glutamicum*은 *Staphylococcus* spp.와 각각 70-80%의 유사성을 나타내는 등 그람양성세균과 높은 S value를 나타내어 coryneform bacteria의 분류체계가 아직 완전 정립되지 않았음을 여기서

**Table 3.** Number of isolates and clusters (in parenthesis) in Nakdong Estuary at the time of sampling.

site	water	sediment	sum
K(Kupo)	22(8)	16( 7)	38(15)
M(Myongji)	32(15)	26(18)	58(31)
T-S(Tadaepo-S*)	23( 9)	39(14)	92(33)
T-B(Tadaepo-B**)	30(13)		
sum	107(33)	81(36)	

\*surface layer

\*\*bottom layer

도 알 수 있다. 또한 같은 균주를 중복실험한 결과 (권, 미발표)에서도 86-98%의 유사성을 보여 본 실험항목에 의한 종분류의 기준은 80%의 S value에서 대체적으로 가능하였다.

이것을 기준으로 하여 각 정점에서의 cluster와 분리균주의 수를 Table 3에 나타냈다. Bianchi and Bianchi(1982)에 의하면 세균군집을 파악하기 위해 15-150의 균주를 사용하여 다양도( $H'$ )를 구한 결과 그 변화폭이 비교적 작은 0.4 이하로 나타나 20-30의 분리균주면 충분하다고 하였다. 그러나  $H'$ 는 적은 수의 분리균에 의해서는 민감하게 변할 수 있고, 또한 세균군집을 대표하는 균주를 사용하지 않으면 의미가 없다. 따라서 본 연구에서는 가능한 많은 수를 임의로 분리하였으며, 각 균주는 개체수에 따라  $10^2$ - $10^6$ 의 세균을 나타내어  $H'$ 는 군집내의 우점개체의 다양도를 계산한 결과가 된다.

Shannon diversity index( $H'$ )를 Table 4에 나타냈다. 수층부와 저층부 공히 정점 M에서의  $H'$ 가 각각 2.46와 2.76으로 다른 정점에 비해 높은 값을 나타냈다. 각 정점의 수층부보다 저층부에서의  $H'$  값이 높게 나왔으며, 전체적으로도 저층부

**Table 4.** Variations of species diversity in Nakdong Estuary at the time of sampling

site	water	sediment	sum
K(Kupo)	1.76	1.87	2.55
M(Myongji)	2.46	2.76	3.22
T-S(Tadaepo-S)	1.94		
T-B(Tadaepo-B)	2.38	2.25	3.22
sum	3.25	3.47	

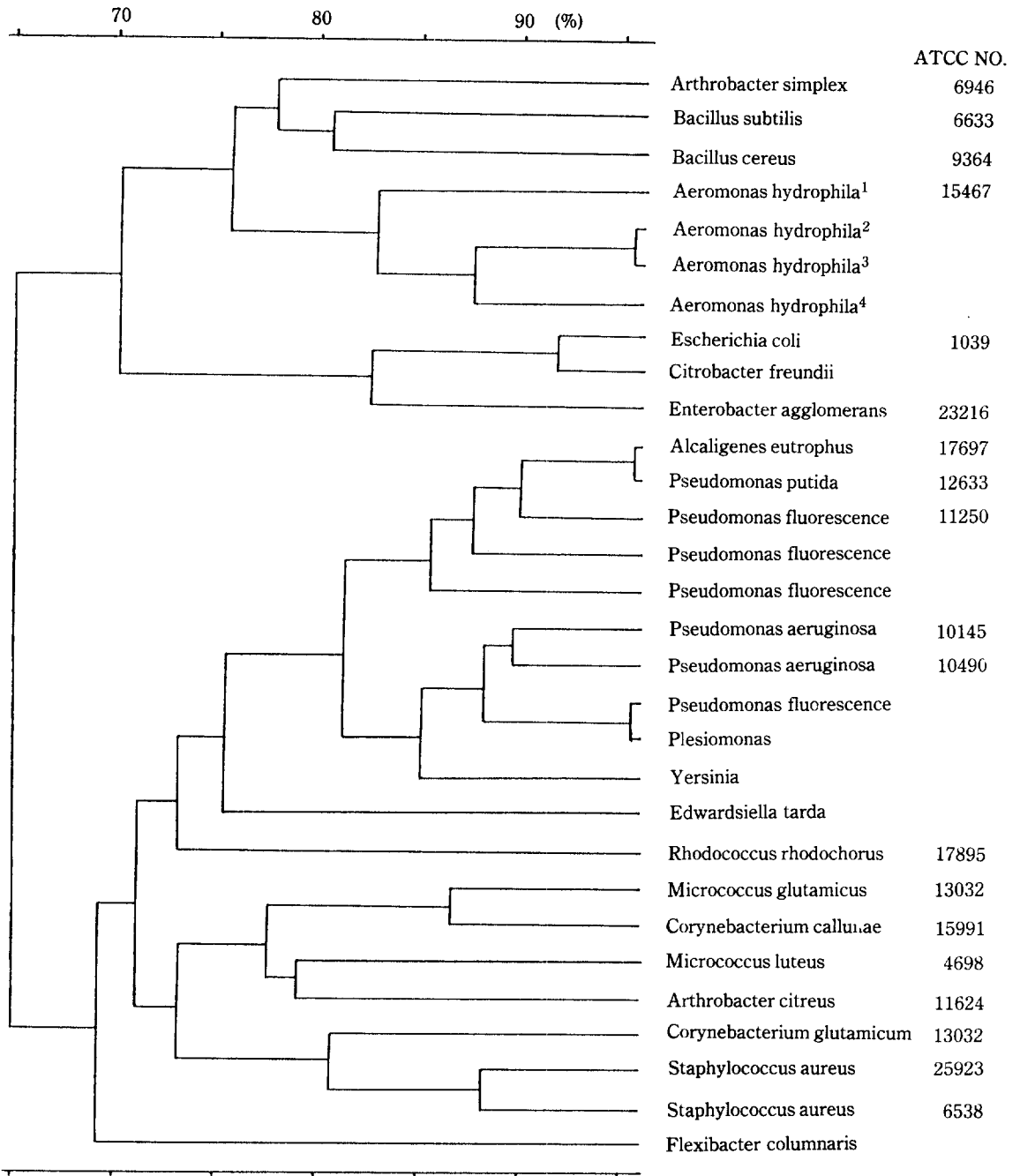


Fig. 2. Dendrogram of percent similarity among reference strains.

(1; subsp. aerogenes, 2; non-pigmented, non-heme, 3; non-pigmented, heme, 4; pigmented strain)

가 3.47로 수층부의 값 3.25보다 약간 높았다. 이것은 Kaneto 등(1977)과 Hauxhurst 등(1981)이 보고한것처럼 일반적인 경향이라고 하겠으며 그

원인은 저층부에 비해 수층부가 항상 변하는 수온과 염분도, 광량 또 낮은 영양물질의 농도 등의 영향을 받기 때문인 것으로 생각된다.

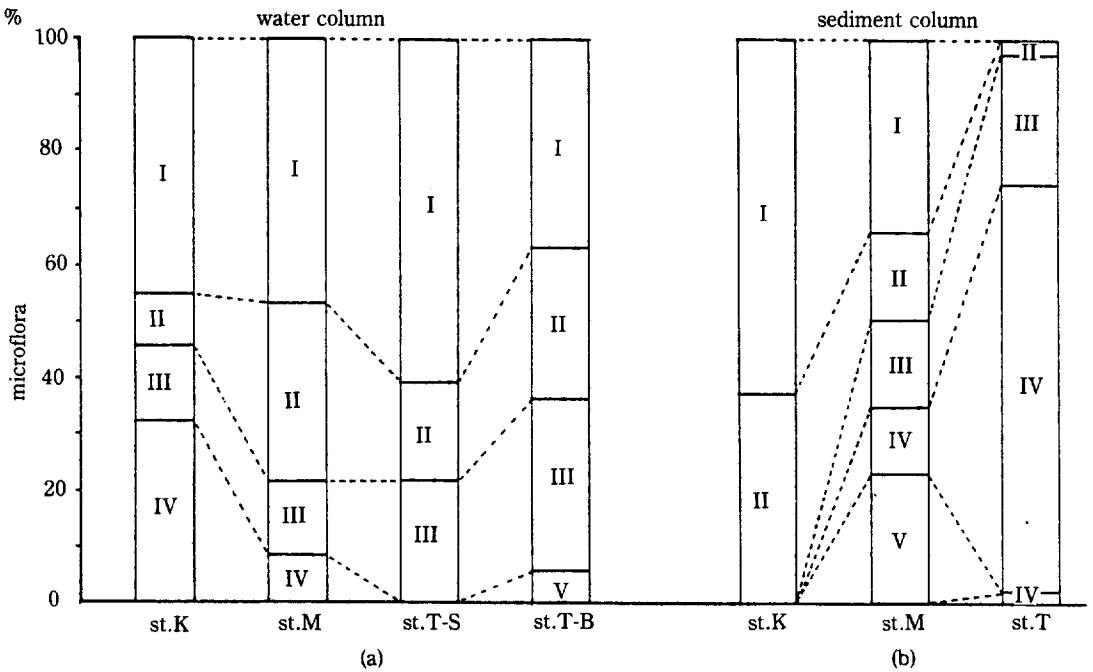


Fig. 3. Changes of microflora at each sites in Nakdong Estuary

전체 수층부에서의 그룹별 (dendrogram에서 크게 구분되는 단위) 세균군집의 변화를 Fig. 3-a에 나타냈다. Group I과 II는 각 정점에서 공통적으로 출현하며, Group III는 염분도가 높은 곳으로 갈수록 많아졌다. Group IV는 염분도가 낮은 정점 K와 M에서만 출현하였고, Group V는 높은 염분도를 띄는 정점 T-B에서만 출현하여, 염분도에 따른 세균의 분포를 가장 뚜렷이 나타내는 group임을 알 수 있다. 그러나 저층부의 Group I과 II는 거의 정점 K와 M에서만 출현하였고, Group III과 IV는 정점 M과 T에서만 출현하여 (Fig. 3-b)

수층부에 비해 저층부에서는 각 정점에 공통적으로 출현하는 group이 훨씬 적었다. 이는 수층부의 경우 물의 흐름에 의해 각 정점에 출현하는 미생물이 유사하나 저층부는 거의 상호교류가 없는 정체적 특성을 지니고 있기 때문이다.

Table 5는 각 그룹별 수온(Pt), pH(P<sub>h</sub>), 염분도(Ps)에 대한 tolerance index를 나타낸 것이다. 그룹별 Pt값의 변화는 뚜렷한 경향성이 없었지만 수층부와 저층부 사이의 비교에서는 저층부의 값이 컸다. 즉 저층부에 출현하는 세균은 광온성 세균이어서 계절의 변화에 의해 군집구조가 크게 영

Table 5. Physiological tolerance indices for temperature(Pt), pH(P<sub>h</sub>), and salt(P<sub>s</sub>) for Nakdong Estuary bacterial community.

Group(number of isolates)	water			Group(number of isolates)	sediment		
	Pt	Ph	Ps		Pt	Ph	Ps
I (50)	0.50	0.48	0.52	I (19)	0.81	0.24	0.67
II (24)	0.65	0.58	0.93	II (11)	0.85	0.55	0.76
III (21)	0.67	0.76	0.66	III (13)	0.80	0.54	0.68
IV (10)	0.60	0.55	0.58	IV (31)	0.97	0.60	0.91
V (2)	0.67	0.75	0.90	V (6)	0.67	0.50	0.93
				VI (1)	1.00	0.50	1.00

향만을 가능성이 수층부에 비해 작음을 시사해주고 있다. 수소이온 농도의 영향(pH)에서는 뚜렷한 경향을 찾아볼 수 없었으나, Ps의 값은 그룹별로 차이를 나타냈다. 담수역에서만 출현하는 그룹(water; IV, sediment; I, II)보다는 해수역 혹은 담수와 해수가 교차하는 곳에서 출현하는 그룹(water; V, sediment; III, IV, V)의 Ps값이 컸으며, 또한 수층부와 저층부의 평균치도 정점 K에서 0.54, 정점 M에서는 0.74, 정점 T에서는 0.77로 나타나 염분이 항상 존재하는 곳에 출현하는 그룹이 염분변화에 더욱 내성이 있는 광염성 세균으로 이루어져 있음을 알 수 있다. 또한 수층부에서의 값(Ps=0.63)보다 저층부(Ps=0.77)에서 높게 나타났다. 이와같이 저층부의 tolerance index가 수층부에 비해 높을 뿐만 아니라 diversity index(Table 3)도 컸다. 즉 낮은 H'값을 지닌 군집은 상대적으로 종의 다양성이 적어 유전적 이질성이 적고, 높은 H'값의 군집은 다양한 종으로 이루어져 군집의 gene pool내에 많은 유전 정보를 지니고 있어서 다양한 환경변화에 대응하기 쉽기 때문이다.

Fig. 4는 각 정점의 수층부와 저층부에 존재하는 미군집의 유사성을 나타낸 것이다. 정점 K의 경

우 공통적으로 출현하는 군집이 약 38%, 정점 M은 약 17%, 정점 T는 약 6%로 공통비율이 많지 않았으며 하류에 위치한 정점일 수록 훨씬 적었다. Table 2에 나타난 바와같이 육상유입물의 양을 간접적으로 나타낼 수 있는 영양염류, 대장균, 포자형성세균 등의 값이 정점 T에 비해 정점 K와 M이 높았다. 즉 정점 T에 비해 정점 K와 M에서의 유속이 느려 육상유입물의 대부분이 이곳에서 침강하여 수층부와 저층부 사이의 교류가 지속적이고 또한 얇은 수심 때문에 약간의 난류에 의해서도 저층부의 상층과 수층부가 쉽게 혼합되어 군집의 공통비율이 정점 T에 비해 높게 나타난 것이다.

각 정점에서 분리한 균주에 대한 실험항목 많은 차이를 나타내는 것을 Table 6에 나타내었다. 저층부에서 *Bacillus* spp.가 많이 출현한다는 보고(Boeyé *et al.*, 1975; Kwon, 1983)가 있는데, 본 결과에서도 그람양성이며 막대모양인 세균이 많아 *Bacillus* spp. 혹은 coryneform bacteria에 속하는 것이 저층부의 우점종임을 알 수 있다. 한편 녹말과 젤라틴분해균의 백분율은 수층부에서 분리한 균주가 저층부에서 분리균주보다 큰 것으로 나타났는데, 이것은 영양분이 적은 곳에 서식하는 세균은 많은 영양분이 존재하는 곳에

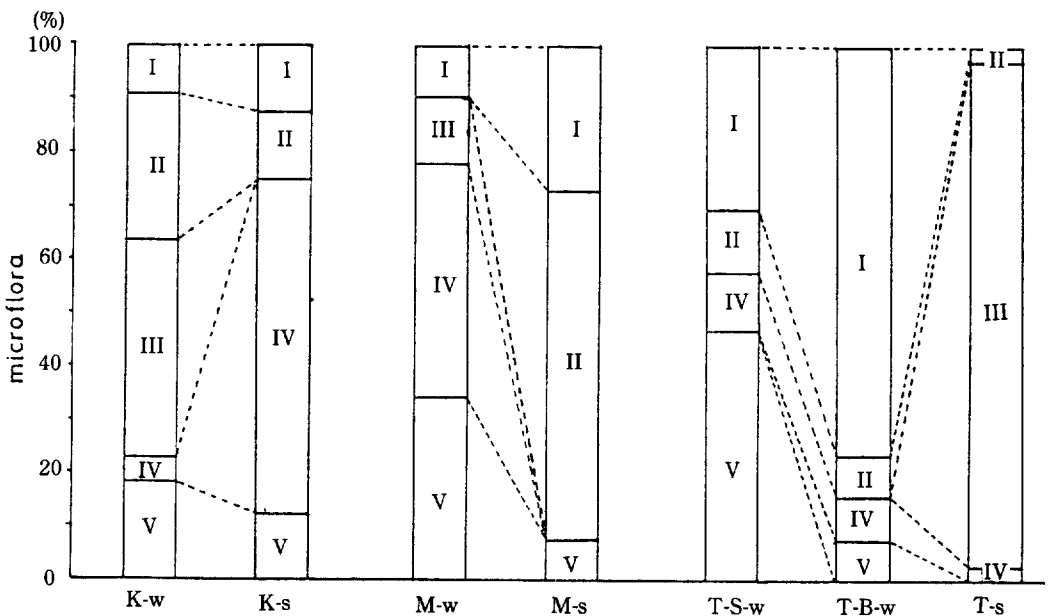


Fig. 4. Changes of microflora between water and sediment column of each sites in Naktong Estuary.

Table 6. Characteristical differences of isolates between sampling sites (%).

character \ site	water				sediment		
	K	M	T-S	T-B	K	M	T
cocci	22.7	40.6	47.8	60.0	0.0	7.7	0.0
Gram-positive	0.0	0.0	0.0	3.3	56.3	38.5	56.4
degradation of							
starch	45.5	41.9	55.6	63.3	12.5	45.8	59.0
gelatin	63.6	56.3	66.6	66.7	7.7	42.3	79.6
growth at							
37 C	81.8	84.4	65.2	93.3	93.8	100.0	100.0
44 C	0.0	12.5	4.3	20.0	81.3	76.9	94.9
pH 4.5	13.6	12.9	21.7	43.3	0.0	7.7	41.0
NaCl 0%	100.0	81.3	47.8	93.3	100.0	96.2	94.9
1.5%	86.4	90.6	87.0	100.0	93.8	100.0	97.4
3.0%	50.0	81.3	95.7	100.0	75.0	92.3	97.4
5.0%	4.5	46.9	47.8	70.0	37.5	92.3	82.1
10.0%	0.0	25.0	21.7	40.0	0.0	42.3	51.3
tolerance to							
KCN	50.0	28.1	95.7	93.3	100.0	80.8	97.4
SLS*	31.8	16.1	21.7	33.3	56.3	19.2	7.9

\*sodium lauryl sulfate

서식하는 세균에 비해 새로운 영양분이 유입되는 이라 하겠다.  
경우 이를 쉽게 이용한다는 사실을 뒷받침하는 것

적 요

감조수역 생태계의 종속영양세균군집을 파악하기 위하여 낙동강하구에서 수층부와 저층부의 시료를 채취하여 분리한 균주를 73개항목의 확인결과로 cluster analysis하였다. 사용가능한 30종의 대조균주를 사용하여 분석한 결과 80%의 유사성(S value)에서 종의 구분이 가능하여 본 실험에서 종의 기준점은 S value 80%로 하였다.

Diversity index (H')는 수층부보다 저층부에서 높게 나왔으며, 수층부와 저층부에 공통으로 출현하는 균집은 하류로 내려갈 수록 감소하였다. 수온과 염분에 대한 tolerance index (Pt, Ps)도 수층부보다 저층부에서 더 큰 값을 나타내어, 저층부가 수층부보다 종의 다양성이 큰 것으로 판명되었다. 이것은 저층부가 환경의 변화에 의하여 크게 변하지 않는 세균군집으로 이루어져 있음을 말해주는 것으로 해석된다.

사 사

본 연구의 시료채취 및 분석에 많은 도움을 준 안태영 학형과 전도용 군, 대조균주를 제공하여 준 배경숙 박사, 통계분석에 도움을 준 안태석 박사 등에게 고마움을 전한다.

REFERENCES

1. Bianchi, M.A.G. and A.J.M. Bianchi, 1982.

Statistical sampling of bacterial strains and its use in bacterial diversity measurement. *Micro. Ecol.* 8: 61-69.

2. Boeyé, A., M. Wayenbergh and M. Aerts, 1975. Density and composition of heterotrophic bacterial populations in North Sea sediments. *Mar. Biol.* 32: 263-270.  
3. Buckley, E.N., R.B. Jonas and F.K. Pfaender, 1976. Characterization of microbial isolates from an estuarine ecosystem: relation-



- ship of hydrocarbon utilization to ambient hydrocarbon concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.* **32**(2): 232-237.
4. Collins, V.G., 1960. The distribution and ecology of Gram-negative organisms other than *Enterobacteriaceae* in lake. *J. Appl. Bacteriol.* **23**: 510-514.
  5. Dutka, B.J. and K.K. Kwan, 1977. Confirmation of the single-step membrane filtration procedure for estimating *Pseudomonas aeruginosa* densities in water. *Appl. Environ. Microbiol.* **33**(2): 240-245.
  6. Gerhardt, P., R.G.E. Murray, R.N. Costilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N.R. Krieg, and G.B. Phillips, 1981. Manual of methods for general bacteriology. ASM.
  7. Hauxhurst, J.D., T. Kaneto, and R.M. Atlas, 1981. Characteristics of bacterial communities in the gulf of Alaska. *Micro. Ecol.* **7**: 167-182.
  8. Kaneko, T.R., M. Atlas, and M. Krichevsky, 1977. Diversity of bacterial populations in the Beaufort Sea. *Nature.* **270**: 596-599.
  9. Krieg, R.E. and W.R. Lockhart, 1966. Classification of enterobacteria based on overall similarity. *J. Bacteriol.* **92**: 1275-1280.
  10. Kwon, O.S., 1983. Isolation, identification and variation pattern of general bacteria in Jinhae Bay. M.S. thesis. SNU. Seoul.
  11. Lighthart, B., 1975. A cluster analysis of some bacteria in water column of Green Lake, Washington. *Can. J. Microbiol.* **21**: 392-394.
  12. Liston, J., W. Wiebe, and R.R. Colwell, 1963. Quantitative approach to the study of bacterial species. *J. Bacteriol.* **85**: 1061-1070.
  13. Moss, M.O. and C. Ryall, 1981. Distribution of chromobacteria in a Lowland River. *Microb. Ecol.* **7**: 139-149.
  14. Mullings, R. and J.H. Parish, 1984. Mesophilic aerobic Gram-negative cellulose degrading bacteria from aquatic habitats and soils. *J. Appl. Bacteriol.* **57**: 455-468.
  15. Niemelä, S. and V. Sundman, 1977. Effects of clear-cutting on the composition of bacterial populations of northern spruce forest soil. *Can. J. Microbiol.* **23**: 131-138.
  16. Oliver, J.D., R.A. Warner, and D.R. Cleland, 1983. Distribution of *Vibrio vulnificus* and other lactose-fermenting vibrios in the marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* **45**(3): 985-998.
  17. Pielou, E.C., 1966. Shannon's formula as a measure of species diversity: its use and misuse. *Am. Nat.* **100**: 463-465.
  18. Rheinheimer, R., 1977. Microbial ecology of brackish water environment. Springer-Verlag.
  19. Sokal, R. and P.H. Sneath, 1963. Principles of numerical taxonomy. W.H. Freeman and Co., San Francisco.
  20. Stevensen, L.H. and R.R. Colwell, 1973. Estuarine microbial ecology. Univ. South Carolina Press.
  21. Trousellier, M. and P. Legendre. 1981. A functional evenness index for microbial ecology. *Microb. Ecol.* **7**: 283-296.
  22. Tsukamura, M., 1976. An approach to numerical identification of bacterial species. *J. Gen. Microbiol.* **95**: 207-212.
  23. Tsukamura, M., 1985. Numerical identification of slowly growing mycobacteria. *Microbiol. Immunol.* **29**(11): 1039-1050.

(Received July 16, 1987)