

# Analysis of Rhizosphere Soil Bacterial Communities on Seonginbong, Ulleungdo Island

Yoon-Jong Nam, Hyeokjun Yoon, Hyun Kim and Jong-Guk Kim\*

Department of Life Sciences and Biotechnology, Kyungpook National University, Daegu 702-701, Korea

Received November 28, 2014 / Revised January 31, 2015 / Accepted February 2, 2015

The study of microbial diversity and richness in soil samples from a volcanic island named Ulleungdo, located east of South Korea. The soil bacterial communities on the Ulleungdo were analyzed using pyrosequencing method based on 16S rRNA gene. There were 1,613 operational taxonomic units (OUT) from soil sample. From results of a BLASTN search against the EzTaxon-e database, the validated reads (obtained after sequence preprocessing) were almost all classified at the phylum level. Proteobacteria was the most dominant phylum with 48.28%, followed by acidobacteria (26.30%), actinobacteria (6.89%), Chloroflexi (4.58), Planctomycetes (4.56%), Nitrospirae (1.83%), Bacteroidetes (1.51%), Verrucomicrobia (1.48%), and Gemmatimonadetes (1.11%).  $\alpha$ -proteobacteria was the most dominant class with 36.07% followed by Acidobacteria\_c (10.65%), Solibacteres (10.64%),  $\delta$ -proteobacteria (4.42%),  $\gamma$ -proteobacteria (4.29%), Planctomycetacia (4.16%), Actinobacteria\_c (4.00%), Betaproteobacteria (3.50%), EU686603\_c (2.97%), Ktedonobacteria (2.91%), Acidimicrobia (1.32%), Verrucomicrobiae (1.27%), Gemmatimonadetes\_c (1.11%), Sphingobacteria (1.09%), and GU444092\_c (1.06%). Bradyrhizobiaceae was the most dominant family with 22.83% followed by Acidobacteriaceae (10.62%), EU445199\_f (5.72%), Planctomycetaceae (4.03%), Solibacteraceae (3.63%), FM209092\_f (3.58%), Steroidobacter\_f (2.81%), EU686603\_f (2.73%), Hyphomicrobiaceae (2.33%), Ktedonobacteraceae (1.75%), AF498716\_f (1.46%), Rhizomicrobium\_f (1.03%), and Mycobacteriaceae (1.01%). Differences in the diversity of bacterial communities have more to do with geography than the impact on environmental factors and also the type of vegetation seems to affect the diversity of bacterial communities.

**Key words** : Bacterial communities, pyrosequencing, Seonginbong, Ulleungdo

## 서론

울릉도는 지리적으로 동경 130° 51' 58", 북위 37° 30' 12"에 위치하며, 지질적으로는 신생대 제4기에 일어난 화산활동으로 생성되었다. 전체 면적은 7,286 ha이며 이 중 산림지역이 5,515 ha (75.7%)로 가장 넓은 면적을 점유하고 있으며, 다음으로 농경지 1,296 ha (17.79%), 기타지역 385 ha (5.29%), 대지 88 ha (1.22%) 등의 순으로 구성되어 있다. 울릉도의 연평균 기온은 12.4°C, 연강수량은 1,383.4 mm로 전형적인 해양성 기후를 보이고 있다[13]. 울릉도 식물상은 너도밤나무, 우산고로쇠, 향나무, 동백 등 총 122과 465속 762종 5아종 178변종 21품종 9교잡종 총 975종류로 정리되어 있다. 울릉도의 해양미생물 군집이나 식물의 군집에 관한 연구는 다소 이루어져 있으나, 울릉도 토양의 세균군집에 관한 연구는 미비한 실정이다.

일반적으로 미생물상을 연구하기 위한 방법으로, 배양기반 어세이(culture-based assay)와 변성구배전기영동(denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)기법이 이용되고 있다[7, 10, 14]. 배양기반 어세이는 목적 미생물을 분리·배양하여 실험할 수 있는 장점이 있으나, 현재까지 배양가능한 미생물은 전지구상 미생물의 0.02%를 차지하는 것으로 추측되며, 나머지 99.8%의 미생물중 대부분의 미생물은 배양성 또는 난배양성으로 정확하게 분류되고 있지 않은 실정이다[2, 22]. 변성구배전기영동기법은 환경시료로부터 난배양성 미생물상 분석이 가능한 장점이 있으나, 대규모의 16S rRNA 염기서열을 획득하기에는 제한적이다[10]. 따라서 차세대 시퀀싱(next generation sequencing, NGS)을 기반으로한 메타지노믹스(metagenomics)기법은, 환경시료로부터 대규모 미생물상 분석 및 배양성·난배양성 미생물 군집분석에 매우 적합한 방법으로 알려져 있다[7, 21]. 차세대 시퀀싱 기술 중 Roche 454 GS-FLX 시퀀서를 이용한 파이로시퀀싱(pyrosequencing)기법이 메타지노믹스에 널리 사용되고 있다[6, 16]. 본 연구에서는 메타지노믹스 기법을 이용하여 울릉도 지역의 토양시료로부터 대량의 세균군집을 최초로 분석하였다. 또한 울릉도와 가장 가까운(약 87.4 km) 독도의 세균군집과 비교 분석하기 위하여, 기출판된 독도의 동도 및 서도의 세균군집분석 연구결과와 비교 분석을 수행하였다.

### \*Corresponding author

Tel : +82-53-950-5379, Fax : +82-53-955-5379

E-mail : kimjg@knu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

## 재료 및 방법

### 시료 채취

울릉도 성인봉에서 코어(깊이 15 cm, 직경 2 cm)를 사용하여 토양시료를 채취하였으며, 10코어의 토양시료를 채취하여 혼합 및 균일화시켰다.

### DNA 추출 및 파이로시퀀싱

FastDNA SPIN Kit (MP Biomedicals, Santa Ana, CA)를 이용하여 토양시료로부터 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA에서 16S rRNA 유전자의 V1/V3영역을 증폭하기 위하여 퓨전 프라이머(fusion primer)를 사용하였다[24]. 퓨전 프라이머는 454 특이 어댑터(454 specific adapters), key sequence 4 bp, barcode sequence (7~11 bp unique sequence), linker sequence 2 bp, universal primers (518R and 27F)를 포함하고 있다. 포워드 프라이머(forward primer) 27F 시퀀스는 5'-CCTATCCCTGTGTGCCCTTGGCAGTC-TCAG-AC-AGTTTGATCMTGGCTCAG-3', 리버스 프라이머(reverse primer) 518R 시퀀스는 5'-CCATCTCATCCCTGCGTGTCTCCGAC-TCAG-X-CWTTACCGCGGCTGCTGG-3'이며, 리버스 프라이머의 X는 바코드 시퀀스를 나타내며 샘플들을 분리하기 위하여 사용되었다.

중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction)은 PTC-200 Peltier thermal cycler (MJ Research, Waltham, MA)를 이용하여 수행하였다. 증폭된 PCR 산물은 QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Valencia, CA)를 이용하여 정제하였으며, 정제된 DNA 정량은 QuantiT™ PicoGreen® dsDNA Assay Kit (Invitrogen, Carlsbad, CA)와 TBS-380 Mini Fluorometer (Turner BioSystems, Sunnyvale, CA)를 이용하여 분석하였다. PCR 산물을 전기영동하여 서열의 길이가 300 bp 이상의 DNA를 선별하였다. DNA단편의 길이를 Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA)를 이용하여 재확인하였다[18]. 파이로시퀀싱은 ㈜천랩(Seoul, South Korea)에서 454 GS FLX Titanium Sequencing System (Roche, Branford, CT, USA)을 사용하여 수행하였다. 파이로시퀀싱 결과는 EMBL Sequence Read Archive (SRA) 데이터베이스에 등록하였으며, 부여받은 accession number PRJEB7304이다.

### 계통분류와 통계데이터 분석

전체 파이로시퀀싱 리드 시퀀스들로부터 바코드 시퀀스 및 프라이머 시퀀스를 제거하였으며, 낮은 퀄리티를 가지는 서열(ambiguous base calls  $\geq 2$ , read length  $< 300$  bp, 또는 average quality value  $< 25$ )들을 제거하였다. 정확한 분류 할당(taxonomic assignment) 결과를 얻기 위하여, 시퀀싱 결과들을 은닉 마르코프 모델(Hidden Markov Model (HMMER 3.0 platform, <http://hmmer.janelia.org/>))을 이용하여 비타겟(non-

targeting) 16S rRNA 시퀀스와 키메릭(chimeric) 시퀀스들을 분석한 후 제거하였다. 결과의 서열들은 EzTaxon-e 데이터베이스를 사용하여 BLASTN 탐색 및 쌍정렬(pairwise alignments)기법을 이용하여 분류 할당을 수행하였다[1, 11]. 분류 할당은 다음의 컷오프(cutoff) 값을 이용하였다: Species ( $x \geq 97\%$ ), genus ( $97\% > x \geq 94\%$ ), family ( $94\% > x \geq 90\%$ ), order ( $90\% > x \geq 85\%$ ), class ( $85\% > x \geq 80\%$ ), phylum ( $80\% > x \geq 75\%$ )[5, 19]. 또한 분류학적으로 정확한 네이밍(naming)을 위해 다음과 같은 규칙을 적용하였다. 만약 특정 분류학적 수준(taxonomic level)에 대한 이름(science name)이 알려지지 않은 경우 다음과 같은 규칙을 적용하였다. 특정 분류학적 수준에 대한 알려진 이름을 첫 번째로 부여하고, 중간에 밑줄(underscore)를 붙인 후, 마지막에 접미사(suffix)를 첨가한다. 예를 들어 만약 강(class) 이름이 알려지지 않았을 경우, 문(phylum) 이름을 앞에 붙이고 뒤에 "\_c"를 첨가하였다(예) "Acidobacteria\_c"; c=class, o=order, f=family, g=genus, and s=species).

세균 군집 분석은 CLcommunity (Chunlab, Inc., Seoul, South Korea) 프로그램을 사용하여 수행하였다. 운영분류단위(Operational Taxonomic Units, OTUs)는 97% 서열 유사성을 기준으로 CD-HIT 프로그램을 사용하여 분석하였다[15]. 통계분석(Chao1, Shannon, Simpson, Good's coverage)은 Mothur platform을 이용하여 분석하였다[8, 20]. Chao1, Shannon, Simpson값의 계산방법은 Table 1의 공식을 사용하였다.

## 결과 및 고찰

### Pyrosequencing 결과와 통계분석

총 9,295개의 염기서열에 대하여 전 처리(preprocessing) 과정을 수행한 결과, 3,776개의 유효염기서열(valid read sequences)이 분석되었다. 유효염기서열의 평균길이는 456.06 bp, 최소길이는 283 bp, 최대길이는 522 bp로 분석되었다. CD-HIT 프로그램을 이용하여 97% 서열 유사성을 기준으로 클러스터링(clustering)을 수행한 결과 총 1,613개 OTUs가 분석되었으며, Good's coverage값은 0.7174로 분석되었다(Table 2). 종 풍부도를 산정한 결과 Chao1값은 3,906으로 나타났다. 독도의 동도에서는 3,975, 서도에서는 3,455으로 울릉도와 동도의 종 풍부도는 유사하며, 서도에서는 다소 낮게 나타났다[12]. 다양성 지수(Diversity index)를 측정된 결과, Shannon과 Simpson값은 각각 6.70, 0.0044로 분석되었다(Table 2). 독도의 동도에서는 7.03, 0.0013 서도에서는 6.79, 0.0022로 울릉도 보다 다양성 지수가 높았다[12].

### 울릉도의 세균 군집 분석

문(phylum) 수준에서 세균 군집의 빈도수 분석 결과, Proteobacteria문이 48.28%로 가장 높은 비율을 차지하였고, 다음

Table 1. The index formulas used in this study

Index	Formula	Description
Chao1	$S_{chao1} = S_{obs} + \frac{n_1(n_1 - 1)}{2(n_2 + 1)}$	$S_{chao1}$ = the estimated richness $S_{obs}$ = the observed number of species $n_1$ = the number of OTUs with only one sequence (i.e. "singletons") $n_2$ = the number of OTUs with only two sequences (i.e. "doubletons")
Shannon	$H = - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i$	$p$ = the proportion (n/N) of individuals of one particular species found (n) divided by the total number of individuals found (N) $\ln$ = the natural log $\Sigma$ = the sum of the calculations $s$ = the number of species
Simpson	$D = \frac{1}{\sum_{i=1}^s p_i^2}$	$p$ = the proportion (n/N) of individuals of one particular species found (n) divided by the total number of individuals found (N) $\ln$ = the natural log $\Sigma$ = the sum of the calculations $s$ = the number of species

Table 2. Operational Taxonomic Units (OTUs) and statistical analyses

	Ulleungdo
Number of total reads	9,295
Number of valid reads	3,776
Mean read length (bp)	456.06
Minimum read length (bp)	283
Maximum read length (bp)	522
Number of OTUs <sup>a</sup>	1,613
Chao1 <sup>b</sup>	3,906
Shannon <sup>c</sup>	6.70
Simpson <sup>d</sup>	0.0044
Good's coverage <sup>e</sup>	0.7174

<sup>a</sup>OTUs: Operational Taxonomic Units.

<sup>b</sup>Chao1: Species richness estimation.

<sup>c</sup>Shannon: Shannon diversity index (>0, higher, more diverse).

<sup>d</sup>Simpson: Simpson diversity index (0-1, 1=most simple).

<sup>e</sup>Good's coverage: 1 - (number of singleton OTUs / number of sequences), 1=100% coverage.

으로 Acidobacteria문(26.30%), Actinobacteria문(6.89%), Chloroflexi문(4.58), Planctomycetes문(4.56%), Nitrospirae문(1.83%), Bacteroidetes문(1.51%), Verrucomicrobia문(1.48%), 그리고 Gemmatimonadetes문(1.11%) 순으로 분석되었다(Fig. 1). 울릉도 세균 군집에서 Proteobacteria문, Acidobacteria문, 그리고 Actinobacteria문이 81.47%를 차지하는 것으로 분석되었다. 독도의 동도와 서도의 세균 군집 분석의 경우에도 Proteobacteria문, Acidobacteria문, Actinobacteria문이 우점하고 있었으며, 이들 3가지 문은 동도에서 78.08%, 서도에서 70.52%를 차지하는 것으로 나타나 있다[12]. 울릉도에서 Proteobacteria문과 Acidobacteria문이 각각 48.28%와 26.30%로 동도(Proteobacteria문, 32.79%; Acidobacteria문, 15.22%)와 서도(Pro-

teobacteria문, 35.81%; Acidobacteria문, 16.93%)보다 높은 비율을 차지하였다[12]. 반면에 Actinobacteria문은 동도에서 30.07%로 울릉도에 비해 약 5배 높은 비율을 차지하는 것으로 분석되었다[12].

강(class) 수준에서 분석한 결과  $\alpha$ -proteobacteria강이 36.07%로 가장 높은 비율을 차지하였고, 다음으로 Acidobacteria\_c

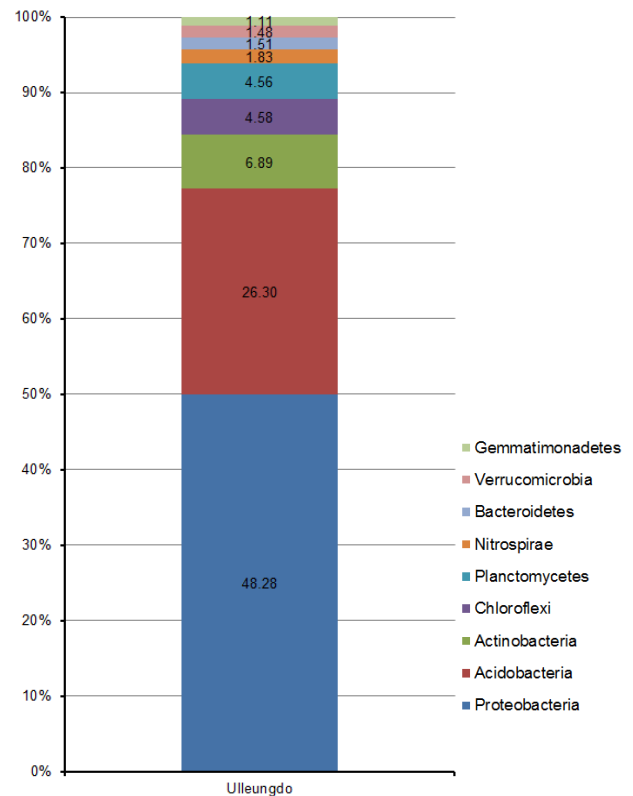


Fig. 1. Taxonomic composition of bacterial phyla from Ulleungdo samples.

강(10.65%), Solibacteres강(10.64%), δ-proteobacteria강 (4.42%), γ-proteobacteria강(4.29%), Planctomycetacia강(4.16%), Actinobacteria\_c강(4.00%), Betaproteobacteria강(3.50%), EU686603\_c강(2.97%), Ktedonobacteria강(2.91%), Acidimicrobiia강(1.32%), Verrucomicrobiae강(1.27%), Gemmatimonadetes\_c강 (1.11%), Sphingobacteria강(1.09%), GU444092\_c강(1.06%) 순으로 분석되었다(Fig. 2). 독도의 세균 군집분석 결과에서 동도와 서도 모두 α-proteobacteria강이 19.30%와 15.19%로 우점도가 가장 높은 것으로 나타나 있으며, 울릉도에서의 비율은 36.7%로 독도와 비교하였을 때 약 2배 정도 높은 것으로 분석되었다[12]. α-proteobacteria강에는 Rhodospirillales, Rickettsiales, Rhodobacterales, Sphingomonadales, Caulobacteriales, Rhizobiales의 6목(order)이 포함되어 있다. 이 분류군에는 동물이나 식물에 공생 혹은 기생하는 세균들이 포함되어 있다[23].

과(family) 수준에서의 분석 결과는 Bradyrhizobiaceae과가 22.83%로 가장 높은 비율을 차지하였고, 다음으로 Acidobacteriaceae과(10.62%), EU445199\_f과(5.72%), Planctomycetaceae과(4.03%), Solibacteraceae과(3.63%), FM209092\_f과(3.58%), Steroidobacter\_f과(2.81%), EU686603\_f과(2.73%), Hyphomicrobiaceae과(2.33%), Ktedonobacteraceae과(1.75%), AF498716\_f과(1.46%), Rhizomicrobium\_f과(1.03%), 그리고

Mycobacteriaceae과(1.01%) 순으로 분석되었다(Fig. 3). 울릉도의 분석결과와 유사하게 독도의 동도 세균 군집분석 결과에서 Bradyrhizobiaceae과가 우점하는 것으로 나타나 있으나, 비율은 울릉도에서 약 4배 높은 것으로 분석되었다[12]. 반면 서도에서는 Acidobacteriaceae과가 전체 비율의 8.22%로 우점한 것으로 보고되어 있으나, 비율은 울릉도와 비교하였을 때 약간 낮은 것으로 분석되었다[10]. Bradyrhizobiaceae과에 속해 있는 Bradyrhizobium속은 토착 근류균으로 토양내 콩과식물과 공생하며 질소를 고정하는 균으로 토양 내 널리 분포하고 있다[3, 4, 17]. 본 연구에서는 16S rRNA 유전자 기반의 파이로시퀀싱을 이용하여 울릉도 토양에서의 세균 군집을 분석하였고 독도의 동도 및 서도의 세균군집분석 연구결과와 비교분석을 수행하였다. 그 결과 문 수준에서 Proteobacteria문, Acidobacteria문, 그리고 Actinobacteria문이 전체세균의 81.47%를 차지하였고, Proteobacteria문이 49.29%로 우점하고 있었다. 강 수준에서는 α-proteobacteria강이 36.07%로 우점하고 있었으며, 과 수준에서는 Bradyrhizobiaceae과가 22.83%로 우점하고 있었다. 독도의 동도와 서도의 세균군집 결과와 비교하였을 때 유사한 다양성을 보이고 Actinobacteria문을 제외하고는 대부분 세균비율이 울릉도에서 높게 나타났다. 울릉도와 독도는 환경적으로 유사하지만 울릉도에서의 식물상이 보다 다양하고 개체수가 훨씬 많기 때문에 우점하고 있는 세균의 비율

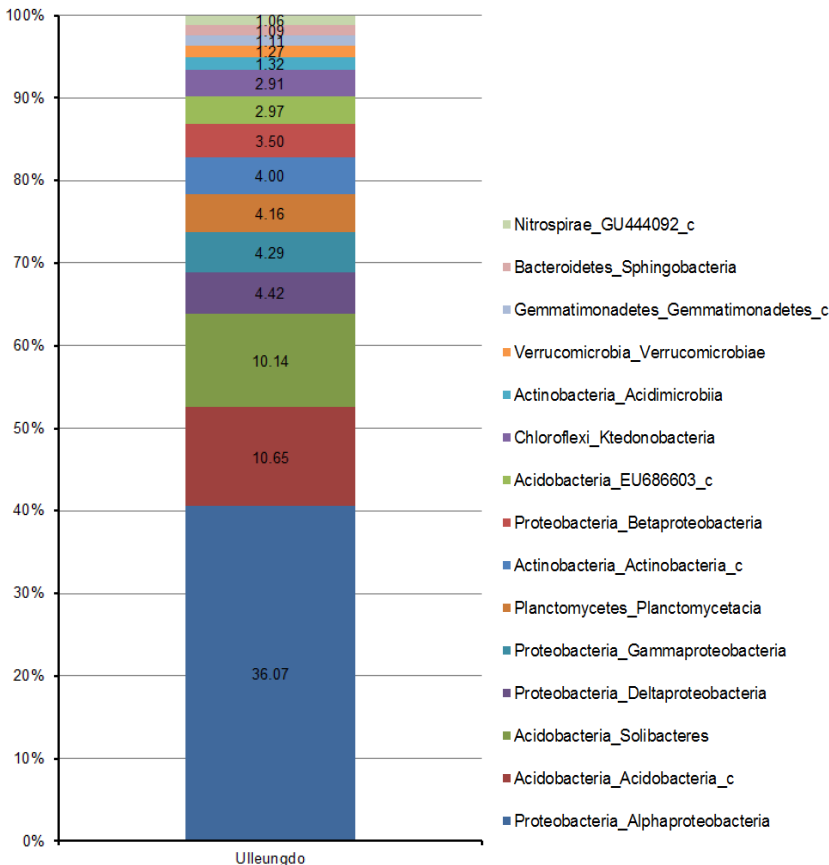


Fig. 2. Taxonomic composition of bacterial classes from Ulleungdo samples.

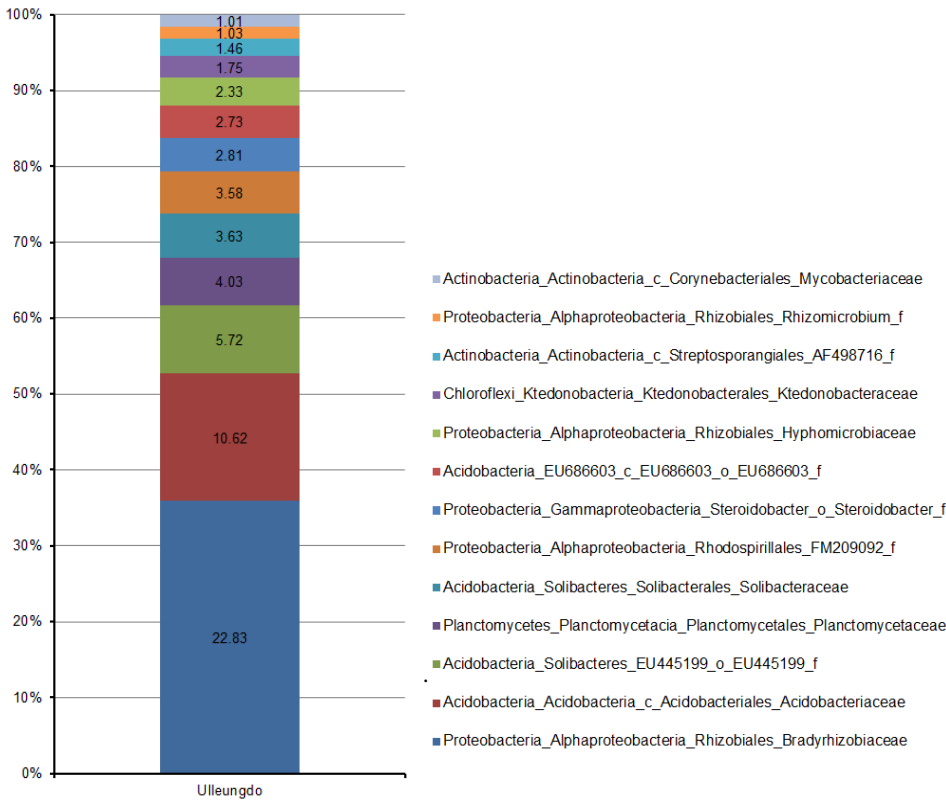


Fig. 3. Taxonomic composition of bacterial families from Ulleungdo samples.

은 높은 차이를 보였지만 비우점 세균들이 차지하는 비율은 다양하게 나타났다. 울릉도와 독도의 세균군집의 다양성 차이는 환경요인에 의한 영향보다 지리적인 위치와 더 관련이 있으며 또한 식생의 유형에 따라 세균 군집의 다양성 영향을 미치는 것으로 보인다. 본 연구는 앞으로 울릉도에서의 세균 배양 및 난배양에 대한 정보를 제공하고, 새로운 종의 선별을 용이하게 할 것으로 예상된다.

### 감사의 글

본 연구는 환경부 “차세대 에코이노베이션 기술개발사업”으로 지원 받은 과제이며, 연구비 지원에 감사를 드립니다.

### References

- Altschul, S. F., Gish, W., Miller, W., Myers, E. W. and Lipman, D. J. 1990. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* **215**, 403-410.
- Amann, R. L., Ludwig, W. and Schleifer, K. H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* **59**, 143-169.
- Brockwell, J. 2004. Abundant, cheap nitrogen for Australian farmers: a history of Australian nodulation and nitrogen fixation conferences. *Soil Biol. Biochem.* **36**, 1195-1204.
- Brockwell, J., Holliday, R. A., and Pilka, A. 1988. Evaluation of the symbiotic nitrogen-fixing potential of soils by direct microbiological means. *Plant Soil* **108**, 163-170.
- Chun, J., Lee, J. H., Jung, Y., Kim, M., Kim, S., Kim, B. K. and Lim, Y. W. 2007. EzTaxon: a web-based tool for the identification of prokaryotes based on 16S ribosomal RNA gene sequences. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **57**, 2259-2261.
- Gilles, A., Megléc, E., Pech, N., Ferreira, S., Malausa, T. and Martin, J. F. 2011. Accuracy and quality assessment of 454 GS-FLX Titanium pyrosequencing. *BMC Genomics* **12**, 245.
- Handelsman, J. 2004. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **68**, 669-685.
- Heck, K. L., Van Belle, G. and Simberloff, D. 1975. Explicit calculation of the rarefaction diversity measurement and the determination of sufficient sample size. *Ecology* **56**, 1459-1461.
- Hong, S. W., Lee, J. S. and Chung, K. S. 2011. Polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis analysis of bacterial community structure in the food, intestines, and feces of earthworms. *J. Microbiol.* **49**, 544-550.
- Islam, E. and Sar, P. 2011. Culture-dependent and -independent molecular analysis of the bacterial community within uranium ore. *J. Basic Microbiol.* **51**, 372-384
- Kim, O. S., Cho, Y. J., Lee, K., Yoon, S. H., Kim, M., Na, H., Park, S. C., Jeon, Y. S., Lee, J. H., Yi, H., Won, S. and Chun, J. 2012. Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **62**,

- 716-721.
12. Kim, Y. E., Yoon, H., Kim, M., Nam, Y. J., Kim, H., Seo, Y., Lee, G. M., Kim, Y. J., Kong, W. S., Kim, J. G. and Seu, Y. B. 2014. Metagenomic analysis of bacterial communities on Dokdo Island. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **60**, 65-74
  13. Lee, J. H., Cho, H. J., Lee, B. C., Oh, S. H. and Bae, K. H. 2007. Forest vegetation types and growth characteristics of Seongin-bong in Ulleung Island, Korea. *Kor. J. Agric. For. Meteorol.* **9**, 37-48.
  14. Li, A., Chu, Y., Wang, X., Ren, L., Yu, J., Liu, X., Yan, J., Zhang, L., Wu, S. and Li, S. 2013. A pyrosequencing-based metagenomic study of methane-producing microbial community in solid-state biogas reactor. *Biotechnol. Biofuels* **6**, 3.
  15. Li, W. and Godzik, A. 2006. Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences. *Bioinformatics* **22**, 1658-1659.
  16. Li, X., Yu, Y., Feng, W., Yan, Q. and Gong, Y. 2012. Host species as a strong determinant of the intestinal microbiota of fish larvae. *J. Microbiol.* **50**, 29-37.
  17. Minamisawa, K., Seki, T., Onodera, S., Kubota, M., and Asami, T. 1992. Genetic relatedness of *Bradyrhizobium japonicum* field isolates as revealed by repeated sequences and various other characteristics. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**, 2832-2839.
  18. Panaro, N. J., Yuen, P. K., Sakazume, T., Fortina, P., Kricka, L. J. and Wildind, P. 2000. Evaluation of DNA fragment sizing and quantification by the agilent 2100 bioanalyzer. *Clin. Chem.* **46**, 1851-1853.
  19. Park, E. J., Chun, J., Cha, C. J., Park, W. S., Jeon, C. O. and Bae, J. W. 2012. Bacterial community analysis during fermentation of ten representative kinds of kimchi with bar-coded pyrosequencing. *Food Microbiol.* **30**, 197-204.
  20. Schloss, P. D., Westcott, S. L., Ryabin, T., Hall, J. R. and Hartmann, M. et al. (2009) Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* **75**, 7537-7541.
  21. Shokralla, S., Spall, J. L., Gibson, J. F. and Hajibabaei, M. 2012. Next-generation sequencing technologies for environmental DNA research. *Mol. Ecol.* **21**, 1794-1805.
  22. Streit, W. R. and Schmitz, R. A. 2004. Metagenomics-the key to the uncultured microbes. *Curr. Opin. Microbiol.* **7**, 492-498.
  23. Takeuchi, M., Sakane, T., Yanagi, M., Yamasato, K., Hamana, K. and Yokota, A. 1995. Taxonomic study of bacteria isolated from plants: proposal of *Sphingomonas rosa* sp. nov., *Sphingomonas pruni* sp. nov., *Sphingomonas asaccharolytica* sp. nov., and *Sphingomonas mali* sp. nov. *Int. J. Sys. Bacteriol.* **45**, 334-341.
  24. Wang, Y. and Qian, P. Y. 2009. Conservative fragments in bacterial 16S rRNA genes and primer design for 16S ribosomal DNA amplicons in metagenomic studies. *PLoS One* **4**, e7401.

## 초록 : 울릉도 성인봉의 근권 토양 세균군집 분석

남윤종 · 윤혁준 · 김 현 · 김종국\*

(경북대학교 생명과학부)

본 연구에서는 울릉도 성인봉지역의 근권 토양시료로부터 세균군집의 다양성을 조사하였다. 파이로시퀀싱에 의한 16S rRNA 유전자의 염기서열 분석결과 총 1,613개 OTUs를 확인했다. 세균 군집 조사결과 문 수준에서 Proteobacteria문이 42.29%, Acidobacteria문이 26.30%, 그리고 Actinobacteria문이 6.89%로 전체세균의 81.47%를 차지하였다. 강 수준에서는  $\alpha$ -proteobacteria강이 36.07%로 우점하고 있었으며, Acidobacteria\_c강이 10.65% 차 우점하였다. 과 수준에서는 Bradyrhizobiaceae과가 22.83%로 우점하고 있었으며, Acidobacteriaceae과가 10.62%로 차 우점하고 있었다. 울릉도와 독도는 환경적으로 유사하지만 울릉도에서의 식물상이 보다 다양하고 개체수가 훨씬 많기 때문에 우점하고 있는 세균의 비율은 높은 차이를 보였지만 비우점 세균들이 차지하는 비율은 다양하게 나타났다. 울릉도와 독도의 세균군집의 다양성 차이는 환경요인에 의한 영향보다 지리적인 위치와 더 관련이 있으며 또한 식생의 유형에 따라 세균 군집의 다양성 영향을 미치는 것으로 보인다.