

韓國沿岸의 海洋微生物의 分布에 關한 研究

1. 忠武沿岸의 分布에 關하여

李 原 在*

STUDIES ON MARINE BACTERIA IN KOREAN COASTAL WATERS

1. On the distribution of marine bacteria in the Coast of Chung-Mu

Won-Jae LEE*

The monthly distribution of marine bacteria in the coastal waters of Chung-Mu was investigated from April, 1976 to March, 1977. The aim of this study was to obtain basic data for the prevention of food poisoning and for the efficient aquaculture of the area. Samples of sea water, mud, fish and shell fish were taken every month. The results are as follows:

1. One thousand four hundred and twenty-six strains were isolated from 732 samples of sea water, mud, fish and shell fish. They were 450 strains of *Pseudomonas fluorescens*, 422 strains of *Achromobacter liquefacience*, 72 strains of *Vibrio parahaemolyticus*, 234 strain of *Vibrio alginolyticus*, and 248 strains of *Proteus vulgaris*.

2. *V. parahaemolyticus* occupied 9.84% of the total samples and 52% of them were found in the sea water and mud.

3. The muds sampled districtly beneath the aquaculture raft contained much gas. They seemed to originate from the deposition of excretion of shell fish. The fatness of the shell fish was low where the gas was abundant.

4. It was found that the shell fish with low fatness contained much *Vibrio* sp.

5. Regional ditribution shows that marine bacteria were abundant in the order of station 10, 9, 8, 11, 1. The area around station 9 was polluted by reclamation of the area, and station 8 showed the influence of the excrement treat tank located nearby.

緒 論

海洋이란鹽分類, 水壓, 底水溫等 特異한 環境의 要因으로 되어있다.

이러한 環境속에서 棲息하고 있는 海洋微生物에 關한 研究는 19세기 후반에 海水中の 細菌의 存在(Cert- es, 1884, Fisher, 1894)와 生化學的 要因 및 서식 위치

에 따른 분류(Benebe, 1912)를, Kriss(1963)는 海洋의 沿岸水域 및 表層水의 미생물에 關한 研究로 海洋微生物 發展에 크게 공헌 하였다. Zobell(1968)은 深海의 耐壓性 또는 耐壓性을 가지는 영양세균을 분류 하였고, Kakimoto et al. (1968)은 海洋環境에서의 細菌生活의 變化에 關한 보고, Hidaka(1971)는 海洋에서 海洋細菌의 phage를 분리한 보고등 海洋微生物

*統營水産專門學校, Tong-Yeong Fisheries Junior College

에 관한 많은 보고가 있다.

우리나라 沿岸의 海洋微生物의 分布에 관한 研究는 드물며 특히 월별 분포에 관한 보고는 찾아 보기 힘들었다.

저자는 연안 해수 중 月別分布를 파악하고 이에 따라 漁獲지인 양식업 대책 수립을 할 수 있음은 물론 어패류로 인한 식중독 발생 예방 재료를 얻고자 1976년 4월 부터 1977년 3월까지 충무 연안(Fig. 1)의 해수, 이토, 어류 및 패류 등 732시료를 수집하여 실험한 결과를 보고한다.

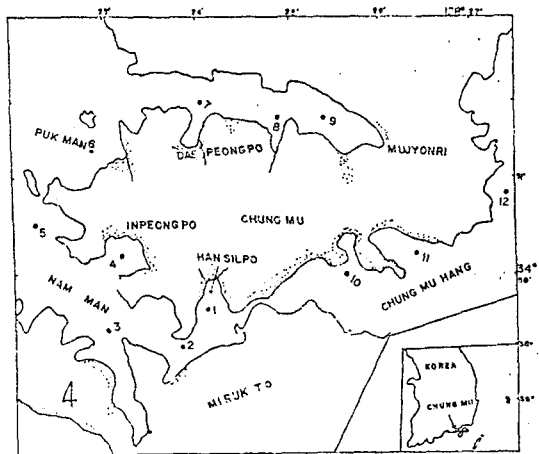


Fig. 1. Location of sampling stations.

試料 및 方法

試料

1976년 4월부터 1977년 3월까지 충무沿岸(Fig. 1)의 12개 地點을 선정하고 海水 146, 泥土 144, 魚類 1290 貝類 310 총 732개의 시료를 다음과 같은 方法으로 채취 하였다.

1) 海水

본 실험을 위하여 만들어진 멸균된 채수기로서 表層에서 5~7m의 깊이의 海水를 採取하였다.

Table 1. Distribution of marine bacteria isolated from samples

Samples	<i>Pseud. fluorescens</i>	<i>Achr. liquifaciens</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>	<i>V. alginolyticus</i>	<i>Pro. vulgaris</i>	Total
Sea water	96	94	20	44	57	311
Mud	107	110	17	55	42	331
Fish <i>Clupanodom punctatus</i>	47	34	2	11	20	114
<i>Sebastes inermis mebaru</i>	29	22	6	24	27	108
<i>Hexagrammus otakii</i>	18	16	2	9	8	53
<i>Hatichoeres bleekeri</i>	16	15	3	9	10	53
Shell fish <i>Crassostrea gigas</i>	31	29	2	13	8	83
<i>Mytilus edulis</i>	70	55	14	47	40	226
<i>Protothaca jadoensis</i>	36	47	6	22	36	147
Total	450	422	72	234	248	1,426

2) 泥土

본 실험 목적으로 製作한 採泥器로서(완전 멸균된 상태)海底의 泥土를 採取 하였다.

3) 魚貝類

貝類는 양식장에서 직접 採取한 것을 無菌室에서 탈자 한 다음 homogenizing하여 시료로 사용 하였고 魚類는 調査地點에서 직접 잡은것과 어획된 것을 試料로 사용하였다.

實驗方法

중균용 배지로서 Bismuth sulfite Broth에서 37°C, 20±2시간 배양한 *Vibrio*菌과 Brown(1964)배지를 약간 변형으로 하여 30°C에서 48시간 배양하였다.

평판배양은 *Vibrio*菌은 T. C. B. S. Agar에, 다른균은 Peptone Glucose Agar(Brown, 1964)배지에 배양 하였고

순수분리 배양은 Stock culture Agar(李 등, 1970)에 접종, *Vibrio*菌은 37°C, 20±2시간, 다른균은 30°C, 48시간 배양하여 시험균주로 하였다.

균주의 分離 및 동정을 위하여 形態的 관찰은 常法에 準하였고 생리 및 생화학적 성상은 Harrigan *et al.* (1966), Bergey's manual(1957), Chae *et al.* (1971), 李(1973), 坂崎(1965), Chang(1916) 및 Yasunaga (1970)에 準하였다.

結果 및 考察

1. 海洋 微生物의 分布

1) 시료별 분포

海水, 泥土, 魚類 및 貝類等 총 732 試料에서 *Pseudomonas fluorescens* 450균주, *Achromobacter liquefaciens* 422균주, *Vibrio parahaemolyticus* 72균주, *Proteus vulgaris* 248균주, *Vibrio alginolyticus*가 234 균주로 총 1,426 균주가 분리되었다.

Table. 1에서 보면 海水 146試料에서 分離된 311菌株中에는 *Ps. fluorescens*와 *A. liquefacience*가 各 96, 94菌株로 가장 많고 *V. parahaemolyticus*가 20菌株로 가장 적었고 泥土 144 試料에서 分離된 331菌株中에서 *Ps. fluorescens* 107 菌株, *A. liquefacience*가 110 菌株로 많고 *V. parahaemolyticus*가 적었으며 다른 試料에서도 이와 비슷한 경향을 나타내었다.

이들 균중 식중독균인 *V. parahaemolyticus*는 총 732 시료중 72 균주로 9.8%, 그 유사균인 *V. alginolyticus*가 234 균주로 32% 였다. *V. parahaemolyticus* 72 균주중에도 해수, 이토에서 분리된 것이 37균주로 52%를 차지 하였고 *V. alginolyticus*는 234 균주중 99균주로 42.3%를 차지 하였다. 여기에 비하여 어류나 패류에서는 18.1%의 낮은 분포를 보였다.

海水, 泥土에 높은 분포를 보이는 것은 (Horie, 1966)수산 動植物의 死體, 魚介, 鳥類等の 排泄物, 河川水와 함께 流入되는 有機物等이 堆積되어 比較的 微生物의 發育에 좋은 條件이 되는것으로 생각된다.

패류 양식장(맷목)海底의 泥土를 採取할 때 매원 퇴적되고 있는 것을 느낄 수 있었고(Station 1, 9, 8, 7, 10)또한 泥土에서 gas 발생이 많은곳도 있었다(부패작용).

특히 양식장(맷목)밑의 이토에서는 상당량의 세균(Table. 1)이 분리 되었고 세균이 번식함에 따라 용존 산소량도 결핍 될 수가 있다.

어패류의 산소량 결핍은 신진대사가 잘되지 않아(특히 굴의 경우)肥滿도가 낮아지고 병원균의 침해를 받게되어 패류등의 폐죽음을 초래한다.

1972年~1973年에 大量斃死된 巨濟灣의 굴은 大量繁殖된 附着生物이(田, 1977)原因이 되었겠지만 附着生物等の 原因으로 肥滿도가 낮아져 병원균의 침해를 컸다고 생각된다.

2) 調査地点別 分布

12個의 調査地点(Fig. 1)에서 採取한 試料中 海洋細菌의 分布를 調査한 結果 Table. 2와 같다.

Table 2. Number of strains isolated from sampling stations

Samples	Stations												total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Sea water	27	23	27	26	22	23	24	28	28	30	27	26	311
Mud	29	25	29	28	25	25	28	29	30	30	27	26	331
Shell fish	42	36	40	41	34	35	40	43	45	0	36	37	429
Fish	29	27	30	26	26	28	37	37	38	5	28	29	329
Total	127	111	126	121	107	109	120	137	141	65	118	118	1,400

調査地点別 分離率을 보면 Station 10, 9, 8, 11, 1의 순이었고 낮은 분포를 보인것은 Station 5, 6이 였다.

Station 10은 여객선 출입이 많은 증무 항이며 St. 9는 맷목공사 및 오래된 양식장의 퇴적물, St. 8은 분뇨처리 탱크등의 오염원이 있고 St. 11, 1은 주위의 100여호의 주택과 工場의 오염이 크다고 생각된다. 이러한 지역에는 海洋細菌 이의 지표세균등 河川에 유입되는 퇴적물로 많은 세균이 존재한다.

이와 같이 환경조건에 따라 분리되는 率은 차이가 있으나 12개 調査地点에서 모두 분리되어 식중독균도 넓게 분포하고 있음을 알았다.

3) 月別分布

一年間 每月 分離한 菌株의 月別 分布狀況을 보면 Fig. 2와 같다.

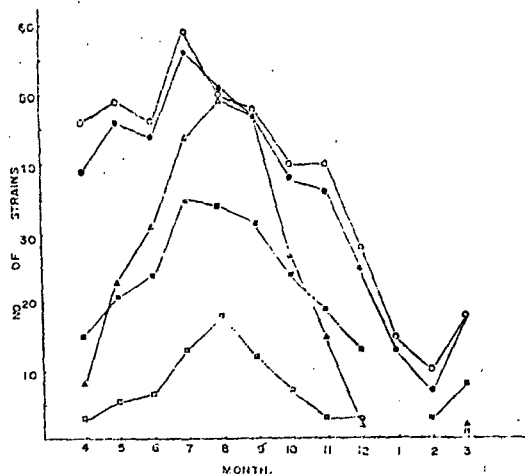


Fig. 2. The distribution of marine bacteria by month.

○ : *Pseu. fluorescens* ● : *Achr. liquefacience*
 □ : *V. parahaemolyticus* ■ : *V. alginolyticus*
 ▲ : *Pro. vulgaris*

Fig. 2에 의하면 4월부터 서서히 증가하여 7월에서 9월사이가 가장높은 分布率을 나타내었고 10월부터는 점차 감소하여 1~3월에는 아주 낮았다.

이와같은 현상은 환경요인(pH, 水溫, 有機物等)에 의한 것이라고 생각된다.

월별 試料 採取時의 環境變化를 보면(Table. 4) pH는 10월에서 3월까지 근소한 차이인 7.6~7.9였고, 4월~9월에는 8.0~8.3으로 비교적 높았다. 수온의 변화는 1°C에서 29°C였는데, 특히 1~2월(77년)은 이상 기온의 추위였다.

Table 3. Monthly variation of pH, temperature, salinity and PO₄-P at the sampling stations

Month	pH	Temp. (°C)	Salinity (‰)	PO ₄ -P (mg at./l)
4	8.0	18.0	32.4	0.31-0.80
5	8.1	20.0	32.1	0.61-0.93
6	8.3	24.0	32.9	0.89-0.98
7	8.2	27.0	31.1	0.81-1.47
8	8.2	29.0	30.9	0.80-1.50
9	8.1	26.2	32.0	0.85-1.64
10	7.9	19.0	32.5	0.28-0.49
11	7.8	14.0	32.8	0.29-0.52
12	7.7	6.0	33.1	0.22-0.46
1	7.6	2.0	33.2	0.22-0.48
2	7.6	1.0	33.5	0.22-0.41
3	7.7	5.0	33.4	0.31-0.48

Table 4. Morphological characteristics of examined strains

Items	Form	Size(μ)	Gram	Flagella
<i>Psed. fluorescens</i>	Rod	0.3-0.9×1.0-2.2	-	Monotrichous
<i>Achr. liquefacience</i>	Bod(thick)	1.0-1.6×1.4-2.8	-	Peritrichous
<i>V. parahaemolyticuce</i>	Rod(or slightly)	0.9-1.2×1.2-2.8	-	Monotrichous
<i>V. alginolyticus</i>	Rod(Short)	0.4-0.8×0.9-1.6	-	Monotrichous
<i>Pro. vulgaris</i>	Rod	0.5-1.2×1.2-3.0	-	Peritrichous

Table 4.에서 볼 수 있는 바와 같이 분리된 모든균이 간균이었으며, *Achromobacter liquefaciens* 균체는 두터워 보였고 *V. parahaemolyticus*는 약간의 파나나형, *V. alginolyticus*는 짧은형의 간균이었다.

편모는 *Achromobacter liquefacience*와 *pro. vulgaris*는 주모성이었고 다른균은 단모성이 었다. 평판배지에서 배양적 특징은 *Proteus*菌의 확산집락, *Vibrio*菌의 T.C.B.S Agar medium에서 *V. parahaemolyticus*

인산염은 12~3월에 0.22~0.47mg at./l이고 7월~9월에는 비교적 높은 0.81~1.64mg at./l였다.

*Vibrio*菌의 溫度와의 관계는 淺川등(1966)이 장염비브리오와 유사균을 시험관 내에 넣어 외계를 차단한 것, 밥-드네에 넣어서 外界와 同一하게 한것 또 다른 flask내에는 魚類의 表皮에 접종한후 외계와 交流 되도록 한 것을 모래속에 埋設하여 自然環境 속에서 방치한 대로 약 一個年間に 걸쳐 觀察 하였다. 그 결과 自然環境에 가까운 밥-드네에서는 腐敗를 일으켜 장염비브리오와 그 유사균은 77日만에 이미 사멸되었고 flask內에도 外界와 交流 시켰던 것에서는 95日 생존하였고, 외계를 차단한 시험관 내에서는 1年 이상 생존하는 사실을 확인하였다. 또 장염비브리오는 저온에 약한것으로 6~7°C 전후에서는 균수에 현저한 감소가 일어난다고 하였다.

Chang(1976)의 실험에는 1~3월에도 분포율은 낮으나 검출된다고 하였다.

본 실험의 결과와 비교하면 다소 차이는 있으나 온도, 급하강에 기인 된다고 생각된다.

2. 分離菌株의 特徵

1) 形態的 性狀

분리된 1,426균주에 대한 형태적 검사 결과는 Table. 4와 같다

는 2~3mm의 Green 색의 집락은, *V. alginolyticus*는 3-5mm Orange(또는 yellow)집락이 형성되었다가 시간의 경과에 따라 초록색으로 변하는 것도 알았다.

2) 生理 및 生化學的 性狀

분리된 1,426 균주에 대하여 실시한 생화학적 검사는 Table. 5와 같다.

Table 5. Brief characterization of the test organisms

Items	A	B	C	D	E
Oxidase	+	+	+	+	+
Catalase	+	+	+	+	+
Indole	-	-	+	+	+
Nitrate	+	-	+	+	+
Gelatine	+	+	+	+	+
H ₂ S	±	+	-	-	+
V. P.	-	+	-	+	-
M. R.	+	+	+	-	+
Starch	+	+	+	+	+
Lecithine	±	-	+	-	-
Arginine	-	+	-	-	+
Citrate	-	+	+	+	+
Glucose	+	+	+	+	+
Arabinose	+	+	-	+	+
Rhamnose	+	-	-	-	-
Xylose	+	+	-	-	-
Sucrose	-	+	-	+	+
Fructose	+	-	-	-	+
Galactose	+	+	-	+	-
Inocite	-	-	-	-	+
Dulcite	+	+	+	+	+
Mannite	+	-	-	-	+
Maltose	-	+	-	+	-
Lactose	+	-	-	-	-
Mannitol	+	-	-	-	-
Adonite	±	±	±	±	±
Salicine	+	-	-	-	-
Glycine	+	±	+	+	-

A: *Pseud. fluorescense* B: *Achr. liquefacience*
 C: *V. Parahaemolyticus* D: *V. alginoliticus*
 E: *Pro. vulgaris*

*Pseudomonas fluorescens*와 *Achromobacter lifuefacience*는 해양의 고유세균으로서 해양의 어느곳이나 존재한다. *Pseudomonas fluorescens*는 Nitrate Gelatine, Glucose가 양성이고 Indole은 음성 *Achr. liquefacience*는 Indole, Nitrate가 음성 Gelatine을 액화 하였고, *V. parahaemolyticus*는 식염농도 7%까지, Indole, Nitrate, Gelatine, 등은 양성 Sucrose Lactose, V. P는 음성이었고 *V. alginalyticus*는 Nitrate, Indole, Gelatine, Sucrose 모두 양성인 것

으며, *Proteus vulgaris*는 Indole, Nitrate, Gelatine, H₂S는 양성, Arginine은 음성이었다.

이와같은 결과는 Horie(1966), Yasunaga(1970), Lee등(1973), Choe등(1971), 坂崎(1970)등의 결과와一致 되었다.

要 約

우리나라 중무연안의 해양 미생물의 월별 분포를 파악하고 이에 따라 효과적인 양식업 대책수립은 물론, 어패류로 인한 식중독 發生 豫防 材料를 얻고자 1976年 4월부터 1977年 3월까지 每月 海水, 泥土, 魚類 및 貝類등을 수집하여 調査한 結果를 要約하면 다음과 같다.

1. 海水, 泥土, 魚類 및 貝類 732 試料에서 1,426 菌株을 分離 하였다.

分離된 菌種은 *Pseudomonas fluorescens*가 450균주, *Achromobacter liquifacienc* 422 菌株 *Vibrio Parahaemolyticus*가 72菌株, *V. alginoliticus* 234균주, *Proteus vulgaris*가 248 균주였다.

2. *V. parahaemolyticus*는 732 試料중 72 균주로서 9.84%였으며 이들중에도 해수, 이토에서 52%이상을 차지 하였다.

또 넓게 분포되어 있음을 알았다.

3. 양식장(뱃목)의 이토를 채취 했을 때 이토속에 서 많은 Gas가 발생함을 알았고 이것은 대부분 패류의 분비물 퇴적으로 추정되었다. (부패가 일어남)

또한 이러한 곳은 용존산소량이 적을뿐 아니라, 패류에 산소가 부족되면 신진대사가 잘 안되므로 비만도(肥滿度)가 저하한다. 이러한 해역에서 斃死된 패류를 많이 볼 수 있었다.

4. 調査地域別 分布를 보면 Station 10, 9, 8, 11, 1의 순이었다. (Fig. 1)특히 St. 10은 여객선이 많이 출입하는 중무항이며 Station 9는 주위 매축공사로 인하여 분포율이 컸고 St. 8은 분뇨처리 탱크가 가까이 있기 때문에 영향이 크다고 느껴진다.

본 研究는 1976年度 文教部 學術研究 助成費로 이루어졌다.

봉양수전 한하수 교장님과 문교부에 감사할 드리며 본 실험을 도운 이정태 조교님, 재료 학명등에 협조하여 주신 김무상 교수님, 가공과 신영화, 강숙희양께 사의를 표한다.

문 헌

- 浅川肇・赤松莊資・野口政輝(1966) : 腸炎 비브리오에 관한 연구. 静岡縣衛生 研究所 年報. 5(14).
- Breed, B. S., E. G. D. Murry, and N. R. Smith (1957); Bergey's manual of determinative bacteriology. The Williams & Wilkins Co. p. 105—366.
- Brown, A. D. (1964) : Seasonal variation in heterotrophic bacterial population in waters of Sydney. Aust. J. Mar. Freshw. Res., 15, 73—76.
- 張東錫(1976) : 腸炎 *Vibrio* 菌의 分布 및 生理的 特性에 關한 研究(博士學位論文, 未發表).
- 田世圭(1977) : 魚類疾病, 太和出版社. p. 12—13.
- 崔潤卿・李原在・田世圭(1971) : 한국연안의 장염 비브리오에 관한 연구. 2. 분리군의 생리적, 생화학적 성상에 관하여. 수대연보. 11, 63—68.
- 多賀信夫(1974) : 海洋 微生物. 東京大出版會. 第 11卷. p. 2—60.
- 日高富男(1971) : 海水より海洋バクテリオファジの分離. 日本誌. 37 (12), 1199—1206.
- Harrigan, W. F. and M. H. McCane(1966) : Laboratory methods in microbiology. Academic press, p. 51—283.
- Horie, S. (1966) : Contamination of marine product swith *Vibrio parahaemolyticus*, J. Food Hyg. Japan, p. 99—104.
- Kakimodo, D. and L. Hidaka. (1968) : Variatio of the bacteria living in the marine environment. Misaki marine biol. Kyoto Univ. No. 12. 152—161.
- Kriss. A. E. (1963) : Marine microbiology (deep sea). Translated by J. M. Shewan and Z. Kabata, Oliver & Boyd, London, pp. 536.
- 李原在. (1972) : 한국 연안의 호염성 비브리오에 관한 연구. *V. alginolyticus*에 관하여. 統水 研報, 8, 41—47.
- 李原在・崔潤卿(1973) : 한국 연안의 장염 비브리오에 관한 연구. 3. 부산시 해수욕장의 분포에 관하여. 韓水誌. 6. (1, 2) 20—26.
- Sakazaki, R. (1965) : *Vibrio parahaemolyticus*. A non-choleraogenic enteropathogenic *Vibrio*. In proceeding's of the cholera research symposium (U. S. Dept. Health Education and Washinton D. C.)
- Yasunaga, N. (1970) : Studies on *Vibrio parahaemolyticus*. J. Food Hyg. Soc. Japan. 11, 28—32.
- Zobell, C. E. (1968) : Bacterial life in the deep sea, bull. Misaki Mar. Biol. Inst., Kyoto Univ., No. 12, 77—96.