

제주 연안의 가시복(*Diodon holocanthus*)에서 분리된 세균의 다양성 및 항균활성 효과

문채윤¹, 고준철², 김민선², 허문수^{1*}

¹제주대학교 해양과학대학 수산생명의학과

²국립수산과학원 제주수산연구소

Received: August 13, 2019 / Revised: November 11, 2019 / Accepted: November 11, 2019

Phylogenetic Diversity and Antibacterial Activity in Bacterium from Balloon Fish (*Diodon holocanthus*) of Jeju Island

Chae-Yun Moon¹, Jun-Cheol Ko², Min-Seon Kim², and Moon-Soo Heo^{1*}

¹Department of Aquatic Biomedical Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Republic of Korea

²Jeju Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Jeju 63068, Republic of Korea

Over the past 20 years, global warming has transformed the marine ecosystem of the Jeju Island into a sub-tropical zone making it conducive to the production of tropical fishes. Recently, the balloon fish (*Diodon holocanthus*) has been found off the coast of the Jeju Island. In this study, we analyzed the diversity of its intestinal microorganisms as a representative for the surrounding environment. In addition, the isolates were evaluated for their antibacterial activity. A total of 161 strains of various species were identified and isolated using 16S ribosomal RNA gene sequence analysis. They were separated into three groups, of which Phylum Proteobacteria was found to be the most dominant with 91% sequence similarity. This includes the class γ -proteobacteria that is made up of twelve genera and twenty-four hundred species. The second group comprised strains of the genus *Vibrio*, made up of 35% *Photobacteria*, 32% *Shewanella*, and 6% *Psychrobacter*. It was also determined that 4% of the isolates were *Acinetobacter*, 3% were *Enterovibrio*, while *Moraxella g2* accounted for 1% of the total isolates. Class α -proteobacteria includes five genera and five species; *Brevundimonas*, *Allorhizobium*, *Pseudoceanicola* and *Erythrobacter*, each accounting for 1% of the total isolates. The Firmicute strains belonged to six genera and ten species. 5% of the strains were *Terribacillus*, while *Paenibacillus*, *Salinicoccus*, *Staphylococcus* and *Streptococcus* accounted for 1% each of the total isolates. Actinobacteria accounted for the final phylum with strains belonging to three genera and ten species with *Janibacter*, *Micrococcus* and *Isoptericola* each accounting for 1% of the total isolates.

Keywords: *Diodon holocanthus*, balloon fish, phylogenetic analysis, 16S rDNA, antibacterial activity

서론

제주도의 해양 생태계는 지난 20년동안 지구 온난화로 인해 대기의 순환이 변화되었고 Kuroshio 해류의 확장으로 온대에서 아열대로 변화되었다[11]. 2014년 제주의 겨울 수온은 14°C 이상을 유지하고 있어 다양한 난대성어류가 회유없이 연중 한 지역에서 출현된다고 보고됐다[12]. 난대성 어류

인 가시복(*diodon holocanthus*)은 전세계 열대와 온대지역에 널리 분포하여 산호나 암석, 모래펄 등에 서식하며 최대 50 cm까지 자란다고 알려져 있다[10].

어류의 장내 미생물은 수중 환경에 적응하고 숙주가 성장하면서 섭취한 먹이에 따라 다양하게 변화된다[3]. 대부분의 미생물은 낮은 pH의 위산, 담즙 또는 lysozyme 등에 의해 저해되나 몇몇 내성을 가진 이들은 장내에 도달하게 된다. 그러나 대부분 오래 살아남지 못하지만, 긴 시간 동안 머무르게 되는 경우 숙주 동물의 장내 미생물로 구성된다[24].

장내 미생물은 병원균의 침입을 막아주고 정상적인 장내 점막을 유지시켜 숙주의 건강과 영양 공급을 촉진시켜 주는

*Corresponding author

Tel: +82-64-754-3473, Fax: +82-64-756-3493

E-mail: msheo@jejunu.ac.kr

© 2020, The Korean Society for Microbiology and Biotechnology

등 다양한 생리학적 역할을 한다고 알려져 있다[16]. 예를 들면 자체 점막 장벽을 유지시켜 병원균에 의한 감염 또는 항생제 치료에 따른 외부 요인에도 스스로 회복하는 능력을 지니고 있다. 그러나 사람에게 장내 세균 불균형(Dysbiosis)이 일어나는 경우, 비만 또는 당뇨와 같은 질병이 발생되며 더 나아가 만성감염으로도 이어질 수 있다. 또한 이러한 질병을 통해 장내 미생물의 감소를 야기시킨다고 알려져 있다[21].

가축 동물은 장내 미생물 군집에 따라 식물의 중합체를 소화하거나 발효시킬 수 있고, 면역계 자극 및 독성 화학물을 비 독성 화합물로 전환시켜 비타민을 합성하는 등 다양한 역할을 담당하고 있다[2]. 이러한 장내 미생물의 대사 활동은 가축의 성장 증진과 건강 효과로 이어져 수많은 연구가 진행되어왔다[28]. 어류의 경우에도 1992년 Olsson 외 저자들은 담수 어종의 장내 세균으로 어류질병세균인 *Vibrio anguillarum*에 대한 항균을 보고했는데, 이는 숙주 동물 스스로의 보호 메커니즘과 밀접할 것이라고 시사했다[17].

본 연구에서는 가시복의 장내미생물 군집을 파악하고자 하였고 어류질병세균과 인체 유해세균에 대한 항균활성을 확인하였으며, 어류질병세균과 인체유해세균의 항균활성을 확인하여 추후 질병에 대한 치료 및 예방에 있어 필요한 기초 자료를 제시하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 채취

본 실험에 사용된 가시복은 2018년 11월 14일 제주도 서귀포시에서 채집하여 아이스박스에 담아 -4℃를 유지시키며 운송시킨 후 분리된 장은 실험에 사용하기 전까지 -80℃에서 보관하였다.

장내 미생물 분리

가시복에 서식하는 장내미생물을 분리하기 위해 멸균 된

가위로 장을 떼어 멸균된 0.85% 생리식염수로 한번 세척하였다. 다음 세척된 장을 꺼내어 1g만 잘라 내어 0.85% 멸균된 생리식염수에 옮겨 단계별(10^{-3} - 10^{-5})로 희석시켜 Brain Heart Infusion agar (BHIA, USA), Marine agar (USA), R2A agar (R2A, Difco., USA), Tryptic soy agar (TSA, Difco., USA), MRS agar (MRS, USA)에 각각 100 μ l씩 넣고 도말하였다. 다음 일주일 동안 25℃에서 호기 및 혐기성 (AnaeroGen TM, Oxoid, Ltd., UK) 배양 후 CFU/g⁻¹ 단위로 환산하였다. 다 자라난 균들은 단일 colony를 순수 분리하여 같은 배지 상에 48시간 동안 재 배양시켜 25%(v/v) glycerol에 현탁시켜 -80℃에서 보관하였다.

장내 미생물의 항균 활성 탐색

항균 활성 탐색을 위해 사용된 어류질병세균과 인체 유해세균은 미생물자원센터(Korean Collection for Type Cultures, KCTC)와 한국미생물보존센터(Korean Culture Center of Microorganisms, KCCM)에서 분양받아 사용하였고(Table 1), Wild type은 인체의 피부 및 병어를 통해 각각 분리하였다. 그리고 25% glycerol에 현탁시켜 -80℃에서 보관하였다가 사용하였다. 병원성 세균은 적절한 배지 안에서 배양되었고, 가시복에서 분리한 균주는 BHIA, MA, R2A, TSA에 접종시켜 25℃에서 48시간 동안 배양하였다. 배양된 균주는 1.5 ml tube 안에 넣어 14240 \times g로 원심 분리하여 상등액과 균체를 분리하였다. 상등액은 0.45 μ m syringe filter (Whatman, UK)를 통해 여과시켰고 균체는 0.85% 생리식염수 50 μ l를 넣어 풀어냈다. 다음 여과 된 상등액과 현탁 된 균체는 각각 멸균 된 8 mm paper disc (ADVANTEC, Japan)에 50, 100 μ l씩 분주하고 25℃에서 24시간동안 건조시켰다. 병원균은 MacFarland turbidity 0.4로 조절한 후 Muller Hinton Agar (MHA, USA)에 도말하여 각각의 배양 온도에 맞추어 48시간 동안 형성 된 억제환의 크기를 측정하였다.

Table 1. List of strains used of antibacterial experiment.

Information	Strain	No.	Medium	Temperature (°C)	Type
Fish pathogen	<i>Streptococcus iniae</i>	KCTC3657	1.5BHIA	25	-
	<i>Streptococcus parauberis</i>	KCTC3651	1.5BHIA	25	-
	<i>Edwardsiella tarda</i>	KCTC12267	1.5BHIA	25	-
	<i>Photobacterium damsela</i> subsp. <i>Damsela</i>	-	MA	25	Wild type
	<i>Listonella anguillarum</i>	KCTC2711	MA	25	-
Human pathogen	<i>Escherichia coli</i>	KCTC1682	TSA	37	-
	<i>Micrococcus luteus</i>	KCCM11211	NA	26	-
	<i>Streptococcus mutans</i>	KCCM40105	BHIA	37	-
	<i>Salmonella enterica</i>	-	BHIA	37	Wild type

16S rRNA 염기서열 분석

분리한 균주는 Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Korea)로 DNA를 추출하였다. 다음 genomic DNA 1 µl와 27F/1492R universal primer 각각 0.5 µM primer와 DNA polymerase, dNTPs, reaction buffer가 포함된 20 µl PreMix (Bioneer)를 사용하여 PCR을 수행하였다.

PCR 반응 조건은 Initial denaturation (95°C, 2분), Denaturation (95°C, 30초), Annealing (55°C, 30초), Extension (72°C, 30초)으로 총 30 cycle로 수행한 후 마지막으로 다시 한번 Extension (72°C, 5분) 하였다. 증폭된 PCR products는 Red safe (Intron, USA)가 첨가된 1% agarose (PromegaCo., USA) gel에서 전기 영동하여 확인하였다. 다음 Accuprep™ PCR purification Kit (Bioneer)를 사용하여 PCR products에 남은 primers, nucleotides, polymerase, salts를 제거 및 정제하고 elution buffer (10 mM Tris-Cl, pH 8.5) 30 µl로 elution 하였다. PCR products의 염기서열의 분석은 (주)솔젠트(Korea)에 의뢰하여 결과를 얻었다. 분석된 염기서열은 EzTaxon (http://eztaxon-e.ezbiocloud.net/)을 이용하여 homology를 확인하였다. 다음 ClustalX로 multiple alignment를 수행한 뒤 MEGA 6.0로 계통도(phylogenetic tree)를 작성하였다.

결과 및 고찰

가시복 장내 미생물 분리

가시복 장내 미생물의 다양성 확인을 위해 평판 배지 위에서 colony를 계수한 수는 Table 2와 같다. 호기성 배양에서는 MA 5.7×10^4 cfu/g⁻¹, BHIA 4.7×10^4 cfu/g⁻¹, TSA 4.9×10^3 cfu/g⁻¹ 및 R2A 0.37×10^1 cfu/g⁻¹이었고 MA 배지에서 높게 계수됐다. 반면에 혐기성 배양에서는 BHIA 6.23×10^4 cfu/g⁻¹, MA 5.9×10^4 cfu/g⁻¹, TSA 2.73×10^4 cfu/g⁻¹, R2A 0.8×10^1 cfu/g⁻¹ 순으로 BHIA에서 높게 계수

되었다.

전반적으로 호기성과 혐기성 배양 모두 MA와 BHIA에서 높게 계수되었고, 혐기성에 비해 호기성에서 여러 속(Genus)이 관찰되었다. 젖산균 또는 유산균은 장내 pH를 낮춰 유해 세균의 침입을 막아주고, 항상성을 유지하는데 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 그러나 MRS 평판 배지 상에서는 콜로니가 관찰되지 않아 가시복 장내 안에서 젖산(lactic acid)을 분비하는 세균이 없는 것으로 관찰됐다.

가시복 장내 미생물 항균 활성 탐색

가시복 장내 미생물의 항균 활성 탐색 결과, 일반적으로 비 병원성 상태로 인체 피부와 공생하는 균이지만 면역이 저하된 환자에게 기회성병원체[18]가 될 수 있는 *M. luteus*균에서 T6, T8, B21, B22 및 B23이 항균 활성을 나타냈다 (Table 3). 그 중 T8은 22 mm으로 가장 높은 항균 활성을 나타내었고 B21은 20 mm, B22와 B23은 19 mm, 나머지 T6은 18 mm으로 관찰되었다. 상등액에서는 오직 T8이 100 µl의 농도에서 반응을 보였으나 크게 관찰되지는 않았고 (NO DATA), 그 외 모든 질병 균주로부터의 항균 활성은 관찰되지 않았다.

장내 미생물은 *Aeromonas* sp., *Staphylococcus* sp., 및 *Escherichia coli* 등과 같은 유해 세균의 항균 활성에 관해 오래 전부터 보고되어 왔었다[23, 24]. 특히 사멸하거나 살아있는 균체를 이용한 백신으로 면역 증가 또는 생존율이 증가됨을 증명해왔다[7, 14]. 가장 많이 알려져 있는 생균제 Probiotic은 장내 pH 산도를 낮춰 유해균의 침입을 막아주고 장벽을 강화시켜 장내 건강 증진 및 면역을 향상시켜준다고 알려져 있다. 또한 'symbiosis' 공생을 통한 기회성병원체 또는 유해 세균과의 조화를 통해 이 또한 숙주 건강을 유지하는데 중요한 역할을 하게 된다. 예를 들어 진딧물과 공생하는 *Buchnera aphidicola*의 plasmid들은 숙주의 아미노산 결핍을 보완해주는 생합성 operons을 함유하고 있고,

Table 2. Intestinal microbial flora isolated from the *Diodon holothur*.

Condition	Medium					
	No.	BHIA	MA	R2A	TSA	MRS
Aerobic	1	3.8×10^4	7.6×10^4	0.1×10^1	1.3×10^4	ND
	2	5.0×10^4	5.6×10^4	0.7×10^1	8.0×10^3	ND
	3	5.3×10^4	3.9×10^4	0.3×10^1	9.0×10^3	ND
Average count		4.7×10^4	5.7×10^4	0.37×10^1	4.9×10^3	ND
Anaerobic	1	6.9×10^4	5.9×10^4	0.8×10^1	3.0×10^4	ND
	2	5.6×10^4	5.6×10^4	0.1×10^1	2.5×10^4	ND
	3	6.2×10^4	6.2×10^4	1.4×10^1	2.7×10^4	ND
Average count		6.23×10^4	5.9×10^4	0.8×10^1	2.73×10^4	ND

*ND: No data.

Table 3. Antibacterial activity of isolates from an intestinal microorganism of *Diodon holothur*.

Isolated strain	Similarity (%)	Diameter of inhibition zone (mm)	
		<i>M. luteus</i>	
T6	<i>Bacilluscirculans</i> ATCC4513 ^T	99.86	18
T8	<i>Vibriohyugaensis</i> 090810a ^T	99.93	22
B21	<i>Vibrioponticus</i> CECT5869 ^T	99.79	20
B22	<i>Photobacteriumleioognathi</i> ATCC25521 ^T	99.15	19
B23	<i>Photobacteriumaquimaris</i> LC2-065 ^T	99.69	19

*Rhizobium*의 sym-plasmid는 아마도 식물성 병원체인 *Agrobacterium tumefaciens*에 의한 공생을 하는데 필요한 필수 유전자 운반을 해준다고 한다. 이는 식물 병원체와 식물 공생체 간의 horizontal 유전자 전이에 따른 것이라고 한다. 결과적으로 동물 또는 식물들은 병원체와 공생체 사이에 유전자 정보를 서로 교환할 수 있는 메커니즘일 수 있다고 시사했다[8].

흥미롭게도, 본 연구에서는 어류질병세균 B21 (*Streptococcus parauberis* sp.)이 인체유해세균으로 작용할 수 있는 *M. luteus*균에서 항균 활성을 나타냈다. 그리고 T8은 *Vibrio* 속

에 해당하나 종에 관한 연구 결과는 미비하고 본 연구 결과에서는 항균 능력을 갖고 있음이 관찰됐다. 또한 같은 속 또는 종에 속하더라도 균주마다의 생산하는 항균 펩타이드는 각기 다른 것으로 추정된다. 이는 생산되는 항균 물질이 다양한 메커니즘에 따라 단백질이 합성되고 분해되는 등 다양한 생리학적 요인에 따라 항균 활성 능력의 여부가 나눌 것이라 생각된다.

16S rDNA 염기서열의 계통학적 분석

가시복 장내 미생물은 16S ribosomal RNA PCR로 증폭하

Table 4. Bacterial diversity associated with *Diodon holothur*.

Phylum	Class	Order	Family	Genus				
Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Alteromonadales	<i>Pseudoalteromonadaceae</i>	<i>Pseudoalteromonas</i>				
			<i>Shewanellaceae</i>	<i>Shewanella</i>				
			<i>Pesudomonadales</i>	<i>Moraxellaceae</i>	<i>Acinetobacter</i>			
					<i>Moraxella_g2</i>			
					<i>Psychrobacter</i>			
					<i>Pseudomonas</i>			
		<i>Vibrionales</i>	<i>Vibrionaceae</i>	<i>Allivibrio</i>				
				<i>Enterovibrio</i>				
				<i>Photobacterium</i>				
			<i>Vibrio</i>					
		Alphaproteobacteria	Caulobacterales	<i>Caulobacteraceae</i>	<i>Brevundimonas</i>			
				<i>Rhizobiales</i>	<i>Allorhizobium</i>			
				<i>Rhodobacterales</i>	<i>Pseudoceanicola</i>			
<i>Sphingomonadales</i>	<i>Erythrobacteraceae</i>			<i>Erythrobacter</i>				
	<i>Methylobacteriaceae</i>			<i>Methylobacterium</i>				
Firmicutes	Bacilli	Bacillales	<i>Bacillaceae</i>	<i>Terribacillus</i>				
				<i>Bacillus</i>				
				<i>Paenibacillus</i>				
				<i>Salinicoccus</i>				
				<i>Staphylococcus</i>				
			Actinobacteria	Actinobacteria	Lactobacillales	<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus</i>	
						Micrococcales	<i>Intrasporangiaceae</i>	<i>Janibacter</i>
							<i>Micrococcaceae</i>	<i>Micrococcus</i>
							<i>Promicromonosporaceae</i>	<i>Isoptericola</i>

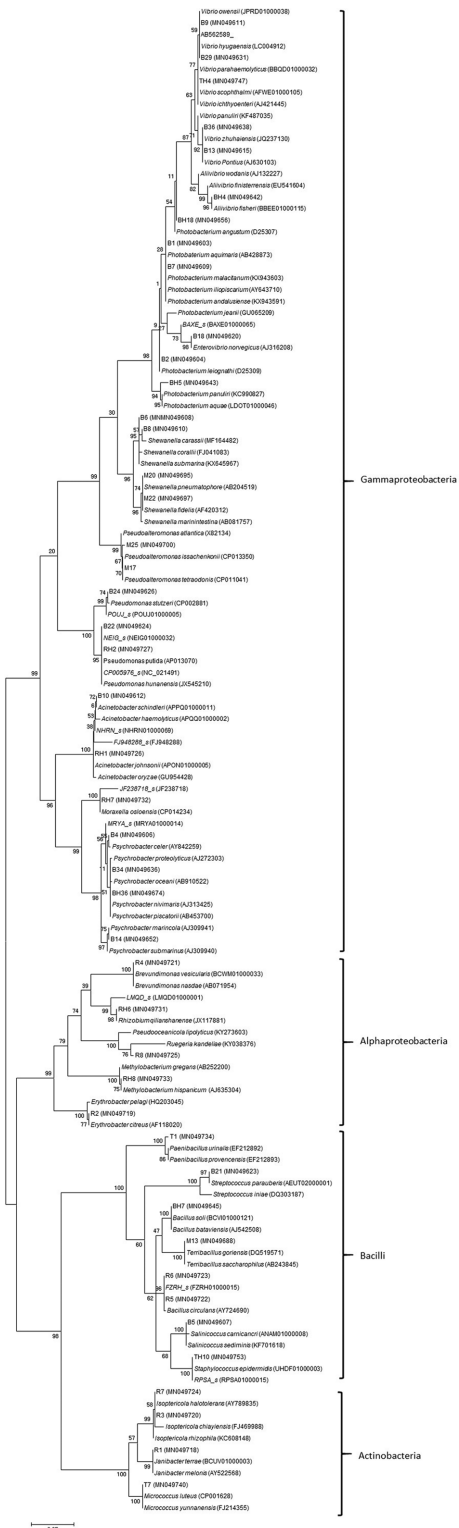


Fig. 1. Neighbour-joining phylogenetic tree determined from the 16S rDNA sequences of bacteria from the *Diodon holothur*. GenBank accession numbers given in parentheses. Bootstrap values (>50%) based on 1,000 replications are shown.

고 EZbiocloud을 통해 3문(Phylum) 4강(Class) 10목(Order) 17과(Family) 24속(Genus)으로 총 161 균주로 분석되었다 (Table 4). 그리고 가장 가까운 속 또는 종의 계통수를 작성 하였다(Fig. 1).

Proteobacteria문은 수중 속 어류의 장 안에서 발견된다고 알려져 있고[15], 가시복 장내에서 분리한 균주 중 91%를 차지한 우점문으로 차지했다. 그 중 γ -proteobacteria강은 88%로 가장 우세하고 다음 α -proteobacteria는 3%, Firmicutes 문 6%, Actinobacteria문 2% 순으로 나타났다(Fig. 2).

Proteobacteria문 γ -proteobacteria강은 96–100%의 상동성을 보였고 11속 142종으로 *Vibrio*속 35%, *Photobacterium*속 32%, *Shewanella*속 6%, *Psychrobacter* 4%, *Acinetobacter* 속 3% 및 나머지 *Enterovibrio*, *Moraxella_g2*속이 각각 1%를 차지했다. 이는 2004년 북대서양 연안과의 같은 우세 그룹을 보였고 저자는 따뜻한 환경에 적응하는 *Vibrio parahaemolyticus*를 주요 종으로 두어 추가 연구를 진행하였다. 그 결과 겨울에서도 *V. parahaemolyticus*가 검출됨에 따라 해양의 온도의 상승 또는 온대 지역에서 넘어 온 아열대성 균주일 것이라고 시사했다[27]. 제주 연안 가시복에서 분리된 주요 종은 *Vibrio leiognathi*로 이에 관한 연구는 미비한 실정이며 추가적인 계절별 변동에 따른 다양성 조사가 필요할 것으로 사료된다. 그리고 종간의 그룹 조사는 생태계 변화 흐름을 파악하는데 필요한 기초 자료로 사용될 수 있을 거라 생각된다. *Photobacterium*속은 대부분 호기성이라 알려져 있으나 가시복에서 분리한 *Photobacterium panuliri*는 혐기성균주로 알칼리에 내성[4]을 지녔다고 보고됐다. 이 종은 96.43%의 상동성을 나타냈고 주로 해양이나 감염된 어류에서 분리[15]되는 *Vibrio ponticus* 또한 96.35%의 상동성을 보여 추가적인 신중 실험이 필요하다 생각된다.

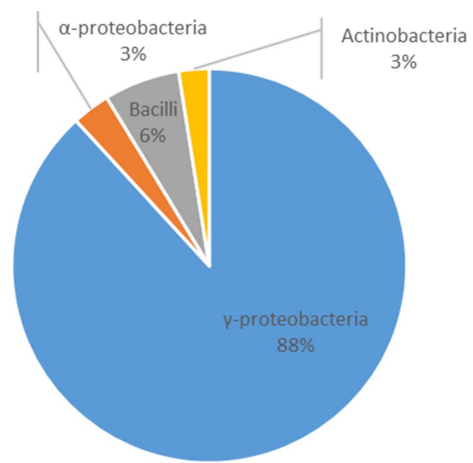


Fig. 2. Pie-diagram showing various genus of bacterial isolated from *Diodon holothur*.

Shewanella속 *Shewanella carassii*는 통성혐기성 균주로 여러 해양 생물에서 분리되며, 사람에게 기회성병원체가 될 수 있다고 알려져 있고[5], *Shewanella submarina*는 최근에 동정[19]을 통해 분리되고 있고 본 연구에서 분리된 두 종 모두 97.65–97.94%의 상동성을 보였다. 그리고 어류 장[26]에서 분리되는 *Enterovibrio norvegicus*도 97.35%로 신종 실험이 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Proteobacteria문 α -proteobacteria강은 96–100%의 상동성을 보였고 5속 5종으로 *Brevundimonas*속, *Allorhizobium*속, *Pseudoceanicola*속, *Erythrobacter*속 및 *Methylobacterium*속이 각각 1%로 나타났다.

해수[9]에서 분리되는 *Pseudoceanicola lipolyticus*는 96.39%로 추가적인 신종 실험이 필요하다.

Firmicutes문 Bacilli강은 99–99%의 상동성으로 6속 10종으로 *Bacillus*속 5%로 가장 높았고 나머지 *Terribacillus*속, *Paenibacillus*속, *Salinicoccus*속, *Staphylococcus*속 및 *Streptococcus*속은 1%로 관찰됐다.

어류 장내미생물로부터 분리 가능한 *Bacillus*속은 Probiotic처럼 유용미생물로 인식되어 사료와 첨가[26]를 하기도 하며, 발효 기술을 이용한 cellulose를 가수 분해[20]하는 이점을 갖고 있다.

Actinobacteria문 Actinobacteria강은 99–100%의 상동성을 보였고 3속 3종으로 *Janibacter*속, *Micrococcus*속 및 *Isoptericola*속이 각각 1%를 차지했다. 두 속은 아직까지 어류에서 분리된 보고가 없는 바 본 자료가 추후 기초 자료로 쓰이는데 도움이 될 것이라 생각된다.

지구의 온난화는 육상 동·식물뿐만 아니라 해양 생태계에도 큰 변화를 주고 있다. 한국의 해역은 열대어가 성장하기에 적합하지 않고 심지어 수온이 10℃ 이하였음에도 불구하고 열대어가 발견됐다[13]. 제주도 역시 겨울 수온이 올라가는 등 생태계의 변화로 인해 다양한 열대 어종이 늘어 나고 있으며, 그 중 가시복은 온대와 열대 지역의 얇은 물에 서식하는 열대어로 최근 제주 연안에서도 찾아볼 수 있다.

본 연구에서는 주변 환경의 영향을 가장 많이 받을 수 있는 가시복의 장내 미생물의 다양성을 확인하였다. 장내 세균의 군집은 추후 타열대어종과 비교 분석하여 생태계 환경의 변화를 관찰 할 수 있을 것이다. 또한 인체 세균에 대한 항균 활성은 추가 연구를 통해 생물적 제제로 이용할 수 있을 것이라 사료된다.

요 약

지구 온난화로 인한 제주도의 해양 생태계는 지난 20년동안 온대에서 아열대로 변화되었다. 이러한 기후 변화는 난대성 어류가 서식할 수 있는 환경이 되며, 최근 제주 연안에서

는 가시복(*diodon holothus*)이 발견되고 있다. 본 연구에서는 가시복의 장내미생물의 다양성을 파악하였다. 그리고 다양한 균주 중 어류 또는 인체 유해세균 가능성을 확인하고자 항균 활성 탐색을 수행하였다.

Proteobacteria는 분리된 균주 중 91%를 차지한 우점문으로 γ -proteobacteria강은 11속 142종으로 *Vibrio*속 35%, *Photobacterium*속 32%, *Shewanella*속 6%, *Psychrobacter*속 4%, *Acinetobacter*속 3% 및 나머지 *Enterovibrio*, *Moraxella_g2*속이 각각 1%를 차지했다. α -proteobacteria강은 5속 5종으로 *Brevundimonas*속, *Allorhizobium*속, *Pseudoceanicola*속, *Erythrobacter*속 및 *Methylobacterium*속이 각각 1%로 나타났다. Firmicutes문 Bacilli강은 6속 10종으로 *Bacillus*속 5%가 가장 높았고 나머지 *Terribacillus*속, *Paenibacillus*속, *Salinicoccus*속, *Staphylococcus*속 및 *Streptococcus*속은 1%로 관찰됐다.

Actinobacteria문 Actinobacteria강은 3속 3종으로 *Janibacter*속, *Micrococcus*속 및 *Isoptericola*속이 각각 1%를 차지했다.

Acknowledgments

This work was supported 2020 scientific promotion program funded by Jeju National University and supported by a grant from the National Institute of Fisheries Science (R2020029) of Korea.

Conflict of Interest

The authors have no financial conflict of interest to declare.

References

- Bairagi A, Sarkar Ghosh K, Sen SK, Ray AK. 2004. Evaluation of the nutritive value of *Leucaena leucocephala* leaf meal, inoculated with fish intestinal bacteria *Bacillus subtilis* and *Bacillus circulans* in formulated diets for rohu, *Labeo rohita* (Hamilton) fingerlings. *Aquac. Res.* **35**: 436-446.
- Chaucheyras-Durand F, Durand H. 2010. Probiotics in animal nutrition and health. *Benef. Microbes.* **1**: 3-9.
- Daly K, Kelly J, Moran AW, Bristow R, Young IS, Cossins AR, et al. 2018. Host selectively contributes to shaping intestinal microbiota of carnivorous and omnivorous fish. *J. Gen. Appl. Microbiol.* **65**: 129-136.
- Deep K, Poddar A, Das SK. 2014. *Photobacterium panuliri* sp. nov., an alkalitolerant marine bacterium isolated from eggs of spiny lobster, *Panulirus penicillatus* from Andaman sea. *Curr. Microbiol.* **69**: 660-668.
- Fang Y, Wang Y, Liu Z, Lu B, Dai H, Kan B, et al. 2017. *Shewanella carassii* sp. nov., isolated from surface swabs of crucian carp and faeces of a diarrhea patient. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **67**: 5284-5289.

6. Gomez GD, Balcazar JL. 2008. A review on the interactions between gut microbiota and innate immunity of fish. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **52**: 145-154.
7. Eigelsbach HT, Downs CM. 1961. Prophylactic effectiveness of live and killed tularemia vaccines. *J. Immunol.* **87**: 415-425.
8. Hentschel U, Steinert M, Hacker J. 2000. Common molecular mechanisms of symbiosis and pathogenesis. *Trends Microbiol.* **8**: 226-230.
9. Huang MM, Guo LL, Wu YH, Lai QL, Shao ZZ, Wang CS, et al. 2018. *Pseudoceanicola lipolyticus* sp. nov., a marine alphaproteobacterium, reclassification of *Oceanicola flagellates* as *Pseudoceanicola flagellates* comb. nov. and emended description of the genus *Pseudoceanicola*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **68**: 409-415.
10. Huang YR, Shiao CY, Chen HH, Huang BC. 2011. Isolation and characterization of acid and pepsin-solubilized collagens from the skin of balloon fish (*Diodon holocanthus*). *Food. Hydrocoll.* **25**: 1507-1513.
11. Kim HS, Kim HS, Jung MM, Lee JB. 2013. New record of dinoflagellates around Jeju Island. *J. Ecol. Environ.* **36**: 273-291.
12. Kim MJ, Han HS, Kim JS, Kim BY, Song CB. 2014. Species composition and bimonthly changes of fish community in the coastal waters of sagyeoi, Jeju Island. *Han. Gug. Eoryu. Hag. Hoeji.* **26**: 212-221.
13. Kim SW, Chung M, Park HS. 2015. Tropical fish species thriving in temperate Korean waters. *Mar. Biodivers.* **45**: 147-148.
14. Krahenbuhl JL, Humphres RC, Henika PC. 1982. Effects of *Propionibacterium acnes* treatment on the course of *Mycobacterium leprae* infection in mice. *Infect. Immun.* **37**: 183-188.
15. Macian MC, Garay E, Grimont PAD, Pujalte MJ. 2004. *Vibrio ponticus* sp. nov., a neighbor of *V. fluvialis*-*V. furnissii* clade, isolated from Gilthead sea bream, mussels and seawater. *Syst. Appl. Microbiol.* **27**: 535-540.
16. Nayak SK. 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquac. Res.* **41**: 1553-1573.
17. Olsson JC, Westerdahl A, Conway PL, Kjelleberg S. 1992. Intestinal colonization potential of turbot (*Scophthalmus maximus*) and Dab (*Limanda limanda*)-associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum*. *Appl. Environ. Microbiol.* **58**: 551-556.
18. Peces R, Gago E, Tejada F, Laures AS, Alvarez-Grande J. 1997. Relapsing bacteraemia due to *Micrococcus luteus* in a haemodialysis patient with a perm-cath catheter. *Nephrol. Dial. Transplant.* **12**: 2428-2429.
19. Sudh Rani P, Saini MK, Pinnaka AK, Kumar GS, Kumar S, Vemuluri VR, et al. 2019. *Shewanella submarina* sp. nov., a gammaproteobacterium isolated from marine water. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **69**: 39-45.
20. Ray AK, Bairagi A, Sarkar-Ghosh K. 2007. Optimization of fermentation conditions for cellulose production by *Bacillus subtilis* CY5 and *Bacillus circulans* TP3 isolated from fish gut. *Acta. Ichthyol. Piscat.* **37**: 47-53.
21. Sommer F, Anderson JM, Bharti R, Raes J, Rosenstiel P. 2017. The resilience of the intestinal microbiota influences health and disease. *Nat. Rev. Microbiol.* **15**: 630-638.
22. Stephens WZ, Burns AR, Stagaman K, Wong S, Rawls JF, Guillemin K, et al. 2016. The composition of the zebrafish intestinal microbial community varies across development. *ISME J.* **10**: 644-654.
23. Sugita H, Shibuya K, Hanada H, Deguchi Y. 1997. Antibacterial abilities of intestinal microflora of the river fish. *Fish. Sci.* **63**: 378-383.
24. Sugita H, Shibuya K, Shimooka H, Deguchi Y. 1996. Antibacterial abilities of intestinal bacteria in freshwater cultured fish. *Aquaculture* **145**: 195-203.
25. Tarnecki AM, Burgos FA, Ray CL, Arias CR. 2017. Fish intestinal microbiome: diversity and symbiosis unraveled by metagenomics. *J. Appl. Microbiol.* **123**: 2-17.
26. Thompson FL, Hoste B, Thompson CC, Goris J, Gomez-Gil B, Huys L, et al. 2002. *Enterovibrio norvegicus* gen. nov., sp. nov., isolated from the gut of turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae: a new member of the family *Vibrionaceae*. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* **52**: 2015-2022.
27. Thompson JR, Randa MA, Marcelino LA, Tomita-Mitchell A, Lim E, Polz MF. 2004. Diversity and dynamics of a north Atlantic coastal *Vibrio* community. *Appl. Environ. Microbiol.* **70**: 4103-4110.
28. Williams BA, Verstegen MWA, Tamminaga S. 2001. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health. *Nutr. Res. Rev.* **14**: 207-227.
29. Yang G, Bao B, Peatman E, Li H, Huang L, Ren D. 2007. Analysis of the composition of the bacterial community in puffer fish *Takifugu obscurus*. *Aquaculture* **262**: 183-191.