



저작자표시 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.
- 이차적 저작물을 작성할 수 있습니다.
- 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#) 

석사학위논문

제주도 화구호 습지의 세균군집 분석

제주대학교 대학원

생물학과

변후돈

2013년 2월

목 차

목 차	i
List of Tables	iii
List of Figures	v
Abstract	vii
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	4
2.1. 조사지 및 시료의 채취	4
2.2. 세균수 측정, 세균 분리	7
2.3. 배양 된 세균의 군집 분석	7
2.3.1. Genomic DNA 추출	7
2.3.2. 16S rRNA 유전자의 ARDRA	7
2.3.3. 염기서열 및 계통학적 분석	8
III. 결 과 및 고찰	10
3.1. 세균 수	10
3.1.1. 시료의 세균 수	10
3.2. 세균의 분리 및 배양	11

3.2.1. 세균의 분리	11
3.3. 세균의 군집 분석	13
3.3.1. 16S rRNA 유전자의 ARDRA	13
3.3.2. 염기서열 및 계통학적 분석	15
IV. 요약	50
V. 참고 문헌	52
VI. 감사의 글	63

List of tables

Table 1. Geographic information of sampling sites and physical data of water samples	6
Table 2. Bacterial Number of samples from investigation sites	10
Table 3. Number of colony isolated from different sampling sites	12
Table 4. Number of RFLP types of samples collected at each sampling site	14
Table 5. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Dongsuak sample by 16S rRNA gene sequence similarity	16
Table 6. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Eoseungsaeng sample by 16S rRNA gene sequence similarity	19
Table 7. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Geumoreum sample by 16S rRNA gene sequence similarity	22
Table 8. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Saraoreum sample by 16S rRNA gene sequence similarity	25

Table 9. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Mulchatoreum sample by 16S rRNA gene sequence similarity	29
Table 10. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Muljangori sample by 16S rRNA gene sequence similarity	34
Table 11. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Mulyeongari sample by 16S rRNA gene sequence similarity	37
Table 12. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Semioreum sample by 16S rRNA gene sequence similarity	41
Table 13. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Wondangbong sample by 16S rRNA gene sequence similarity	45

List of figures

- Fig. 1. The map of sampling sites on the Jeju Island. 4
- Fig. 2. Photograph of sampling sites. 5
- Fig. 3. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences
of cultured bacteria from sample of Dongsuak. 17
- Fig. 4. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences
of cultured bacteria from sample of Eoseungsaeng. 20
- Fig. 5. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences
of cultured bacteria from sample of Geumoreum. 23
- Fig. 6. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences
of cultured bacteria from sample of Saraoreum. 26
- Fig. 7. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences
of cultured bacteria from sample of Mulchatoreum. 32
- Fig. 8. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences
of cultured bacteria from sample of Muljangori. 35
- Fig. 9. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences
of cultured bacteria from sample of Mulyeongari. 39

Fig. 10. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences
of cultured bacteria from sample of Semioreum. 42

Fig. 11. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences
of cultured bacteria from sample of Wondangbong. 46

Fig. 12. Comparison of bacterial communities of study sites in the phylum/class
level. 47

Abstract

In this study, bacterial samples were collected from 9 volcanic wetlands on the Jeju Island and culturable bacteria were isolated. Subsequently, we analyzed the bacterial communities through RFLP (restriction fragment length polymorphism) typing by HaeIII digestion and sequence analysis of PCR amplified 16S rRNA genes of isolated bacteria.

From Dongsuak wetland sample, 160 colonies were picked and divided into 26 RFLP patterns. The bacterial species were distributed in three phyla, *Actinobacteria*, *Firmicutes* and *Proteobacteria* and among these phyla, most bacterial species were distributed in the class β -*Proteobacteria* of the phylum *Proteobacteria*. In Eoseungsaeng sample, 295 colonies were picked and divided into 11 RFLP patterns. Three phyla, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* and *Proteobacteria*, were confirmed. The bacterial species belonging to the phylum *Actinobacteria* were approximately 70 % of total numbers of species. *Arthrobacter oryzae* was predominant. In Geumoreum sample, 92 colonies were picked and divided into 23 RFLP patterns. Three phyla, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* and *Proteobacteria*, were confirmed. The numbers of bacterial species were found, in descending order, in the classes of α -*Proteobacteria*, β -*Proteobacteria*, *Actinobacteria*, γ -*Proteobacteria*. The numbers of bacterial species belonging to the class *Sphingobacteria* of the phylum *Bacteroidetes* were counted for approximately 1 %. In Saraoreum, 209 colonies were separated and divided into 26 RFLP patterns. They were classified into 4 phyla and 3 classes. The genera *Variovorax*, *Acidovorax*, and *Paracaligenes* were dominant in β -*Proteobacteria* class. In Mulchatoreum, 675 colonies were picked and divided into 57 RFLP patterns. The bacterial species found in this sample belonged to 8 classes in 5 phyla, and showed the highest diversity among the 9 study areas. *Proteobacteria* and β -*Proteobacteria* comprized

most abundant bacterial species in the phylum and class level respectively. The numbers of bacterial species were shown, in descending order, in the classes of β -*Proteobacteria*, *Actinobacteria*, α -*Proteobacteria* and γ -*Proteobacteria*, the class *Bacilli* of the phylum *Firmicutes*, the class *Cytophagia* of the phylum *Bacteroidetes*, the class *Sphingobacteria* and the class *Verrucomicrobiae* of the phylum *Verrucomicrobia*. In Muljangori sample, 174 colonies were picked and divided into 15 RFLP patterns. The numbers of bacterial species belonging to the phylum *Proteobacteria* occupied approximately 99 %, and the phylum *Actinobacteria* occupied the remaining 1 %. In the phylum *Proteobacteria*, only two classes of α -*Proteobacteria* and β -*Proteobacteria* were shown. In Mulyeongari sample, 123 colonies were picked and divided into 28 RFLP patterns. In the class β -*Proteobacteria*, much bacterial species belonging to the genera *Pelomonas* and *Herbaspirillum* were isolated. The genus *Rhizobium* in the class α -*Proteobacteria* and genus *Pantoea* in the class γ -*Proteobacteria* were commonly found. In addition, bacteria belonging to the class *Flavobacteria* and *Sphingobacteria* in the phylum *Bacteroidetes* were isolated. In Semioreum sample, 215 colonies were picked and divided into 9 RFLP patterns. The numbers of bacterial species belonging to the class α -*Proteobacteria*, *Actinobacteria* and *Flavobacteria* were isolated. the genera *Novosphingobium*, *Beijerinckia* and *Shinella* were shown in the class α -*Proteobacteria*. In the class *Actinobacteria*, the bacteria belonging to genera *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Sporichthya* and *Arthrobacter* were shown. *Flavobacterium* was isolated in the class *Flavobacteria* of the phylum *Bacteroidetes*. In Wondangbong sample, 245 colonies were picked and divided into 33 RFLP patterns. The bacteria were isolated in 6 classes of 4 phyla. The numbers of bacterial species belonging to the phyla *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes* and *Firmicutes* were isolated, and were most frequently separated in the phylum *Proteobacteria*, followed by in the phylum

Actinobacteria. At the class level, the bacteria were frequently separated in order *Actinobacteria*, α -*Proteobacteria*, γ -*Proteobacteria* and β -*Proteobacteria*.

I. 서론

습지는 영구적으로나 계절적으로 습한 상태를 유지하면서 육상생태계와 수생태계의 중간지대의 특성을 지니고 있는 독특한 환경의 전이지대이며, 이에 적응해온 특별한 생물상이 서식하고 있는 동적 생태계로 습지에 의지하는 생물상 역시 생산성과 다양성이 높은 것으로 알려져 종 다양성이 높은 생태계로 여겨지고 있다 (Mitsch *et al.*, 1993; Dobson *et al.*, 2008).

화구는 화산활동으로 생긴 원형의 지형으로, 산정화구, 측화구, 칼데라, 마르, 화산탄의 충돌구, 용암류 표면의 함몰요지 등을 포함한다. 분출구 가운데 직경이 2 Km를 넘는 경우는 칼데라라고 하며, 2 Km 이하로서 화산 화구의 상대적인 위치에 따라 산정화구, 중앙화구, 측화구 등으로 구분한다 (Kim, 2011). 화구호 습지는 분화구가 오랜 시간에 걸쳐 지속적인 퇴적으로 형성되며 제주도의 화구호 습지는 거의 한라산 고지대에 분포하고 있기 때문에 외부와 차단되어 독특한 생태계를 형성하고 호수습지를 형성해 수생식물군락이 잘 보존되어 있어 생태 연구의 가치가 높다. 습지는 생태계 내에서 물질순환이 일어나는 중요한 장소로서 지구상의 무생물 요인과 생물적인 요인을 연결시켜주는 촉매 역할을 한다 (Hoppe, 1983; Jakob *et al.*, 1998).

일부 세균은 독립영양생물로서 이산화탄소를 고정하여 새로운 유기물질을 합성하는 반면 또 다른 세균들은 유기영양 생물로서 물질의 생물학적 분해에 참여하여 유기물 및 무기물을 순환 시키는 역할을 하고 있고 (Weisse, 1992), 생태계의 안정적인 유지를 위한 필수적인 생물이며 다른 생물종과는 비교도 안 되는 수적인 방대함과 종다양성으로 인해 다양한 환경에서 발견되고 있다. 이러한 세균의 종다양성은 세균이 수행하는 역할 및 특성의 다양화를 야기하여 자연 환경에서 뿐만 아니라 산업 등에서 유용한 자원으로 세균의 잠재적 역할은 증대되고 있다. 세균은 이렇게 자연계 내에서 중요한 역할을 하고 있고, 세균은 서식환경의 조건에 따라 제한적인 군집 분포를 나타낸다. 이러한 특징은 생태계에서 그들의 역할

과 기능을 이해하는데 도움을 주기 때문에 환경에서 세균군집의 역할과 기능을 알아보기 위해서는 세균군집의 다양한 특성을 파악하고, 다른 환경 조건에서 각각의 세균을 분석하여 상호 비교 또한 필요하다 (Amann *et al.*, 1995; Holben *et al.*, 1995; Guschin *et al.*, 1997; Torsvik *et al.*, 2002). 세균군집을 분석하는데 있어서 배양법으로는 상당한 제한성이 있다. 자연계에 존재하는 전체 미생물에서 실제적으로 배양이 가능한 경우는 환경에 따라 1 % 미만으로 99% 이상이 배양이 될 수 없다고 보고되고 있다 (Amann *et al.*, 1995). 최근에 세균군집 구조 분석을 위해 16S rRNA 유전자를 분자 지표로 사용함으로써 다양한 환경에서 세균군집을 분석하는 시도가 널리 사용되고 있는데 16S rRNA 유전자의 특정 부분은 진화속도가 매우 느려 많은 생물체가 공통적으로 갖는 보존된 염기서열과 이차구조를 나타내어 다양한 분류군의 상호 비교를 가능하게 한다 (Amann *et al.*, 1995). PCR 과정에서 나타나는 chimeric sequence의 출현으로 인한 자연에 존재하지 않는 세균의 보고 등 몇몇 문제점에도 불구하고 배양의 어려움에 따른 세균의 군집분석의 제한성을 상당히 해결할 수 있어 많은 연구자들이 사용하고 있다 (Hugenholtz *et al.*, 2003). PCR-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) 방법인 amplified ribosomal DNA restriction analysis (ARDRA)는 일부 세균군집의 종 특이적 동정 방법으로 사용될 뿐 만 아니라, 다양한 세균이 서식하고 있는 생태계의 군집 분석에도 사용되고 있는 방법이다 (Urakawa *et al.*, 1999; Ventura *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2004).

세계자연문화유산 및 경관 보전지역인 제주도에 산재하는 오름 368개 중 산정 화구에 존재하는 금오름, 동수악, 물영아리, 물장오리, 물чат오름, 사라오름, 새미오름, 어승생, 원당봉 9곳의 화구습지는 고도와 식생에 따라 다양한 생태계를 갖고 있어 (Kim *et al.*, 2001), 식물상과 곤충에 관한 연구가 활발하게 이루어지고 있는 반면 습지 생태계에 가장 기본이 되는 세균학적인 군집 및 특성분석은 이루어지지 않아 세균 분포에 대한 정보가 거의 없다 (Choi *et al.*, 2011; Jeong, 2011; Shin *et al.*, 2011; Choi, 2012).

본 연구는 화구습지에 존재하는 배양 가능한 세균을 분리하고 16S rRNA 유전자 염기서열 분석을 통하여 다른 세균과의 연관성을 밝히고, Ribosomal Database Project (RDP)와 GeneBank 등에 등록되어 있는 16S rRNA gene

database를 이용하여 계통 분류학적 관점에서 비교가 가능하도록 정리하여 제주도 화구습지에 존재하는 세균 군집을 규명하고자 실시하였다.

II. 재료 및 방법

2.1. 조사지 및 시료의 채취

본 연구의 조사지는 동수악, 어승생, 금오름, 사라오름, 물чат오름, 물장오리, 물영아리, 새미오름, 그리고 원당봉 등 9곳의 화구호 습지로서 제주도의 여러 곳에 분포하고 있으며 (Fig. 1., Fig. 2.), 2012년 6월에서 9월 사이에 멸균된 용기에 물과 바닥의 흙을 같이 채취하여 채취장소의 좌표, 해발고도와 수온을 측정하고 실험실로 옮긴 후 pH를 측정하였다 (Table 1).

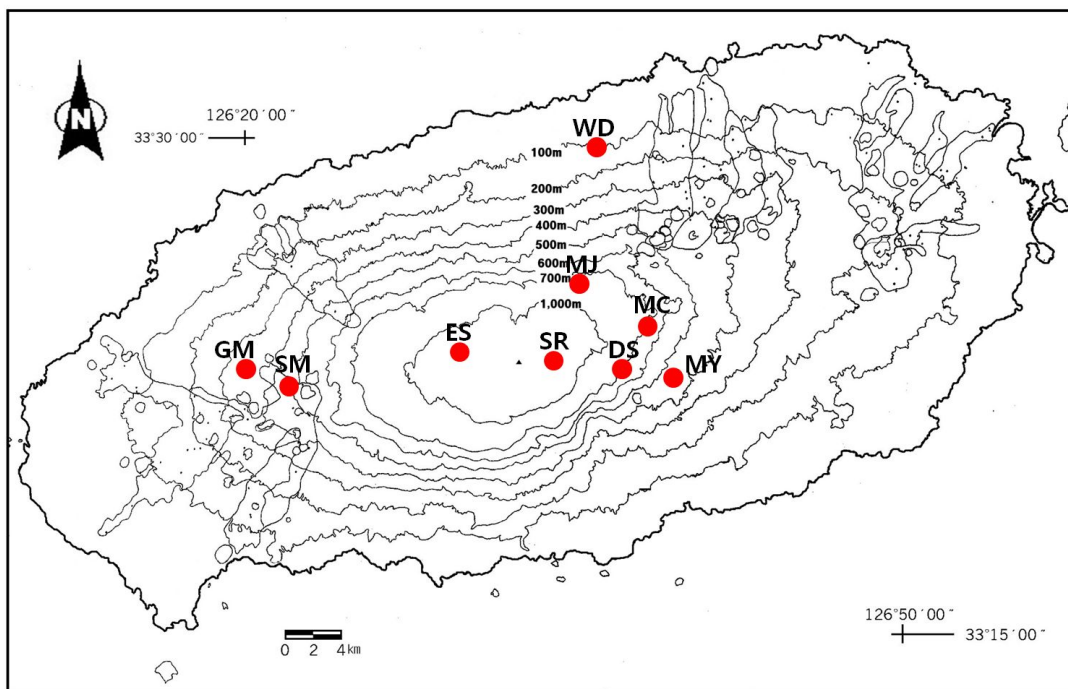


Fig. 1. The map of sampling sites on the Jeju Island.

DS : Dongsuak	ES : Eoseungsaeng	GM : Geumoreum
SR : Saraoreum	MC : Mulchatoreum	MJ : Muljangori
MY : Mulyeongari	SM : Semioreum	WD : Wondangbong



Dongsuak



Eoseungsaeng



Geumoreum



Saraoreum



Muljangori



Mulyeongari



Mulchatoreum



Semioreum



Wondangbong

Fig. 2. Photographs of sampling sites.

Table 1. Geographic information of sampling sites and physical data of water samples

Sites	Coordinates		Altitude (m)	Water pH	Water temp. (°C)	Final Sampling Date
	latitude (N)	longitude (E)				
Dongsuak	33° 21' 22"	126° 37' 42"	700	5.03	23	Sept. 25, 2012
Eoseungsaeng	33° 23' 49"	126° 29' 16"	1,130	6.77	25	July. 7, 2012
Geumoreum	33° 20' 31"	126° 19' 40"	381	6.41	28	Jun. 17, 2012
Mulchatoreum	33° 23' 32"	126° 39' 12"	666	6.73	26	Jun. 30, 2012
Muljangori	33° 24' 50"	126° 36' 45"	882	5.74	18	Sept. 15, 2012
Mulyeongari	33° 21' 57"	126° 41' 43"	468	5.93	21	Sept. 8, 2012
Saraoreum	33° 22' 05"	126° 34' 19"	1,303	6.65	20	Jun. 30, 2012
Semioreum	33° 21' 02"	126° 19' 21"	374	6.95	25	Jun. 17, 2012
Wondangbong	33° 31' 35"	126° 35' 53"	108	6.96	23	July. 20, 2012

2.2. 세균수 측정, 세균 분리

채취한 시료 1 mL 를 vortex 한 후 멸균한 0.85% NaCl 용액 9 mL 에 현탁하였고, 같은 용액에 연속적으로 $10^{-1} \sim 10^{-5}$ 배가 되게 희석 후 R2A Agar (Difco, USA)배지와 1/5배 Nutrient Agar (Difco, USA) 배지에 100 μ L씩 도말하여 30 $^{\circ}$ C에서 5일간 배양한 후 cfu/mL 로서 시료의 세균수를 측정하였으며, 세균의 분리는 육안으로 집락 형태와 크기에 유의하여 선별하고, 선별한 균주를 동일배지와 온도에서 단일 집락으로 판단될 때 까지 계대배양하며 순수분리 하였으며, 순수분리 된 균주들은 액체 배양하여 배양액을 glycerol (20 %, w/v) 용액에 현탁하여 -70 $^{\circ}$ C에서 냉동 보관하였다.

2.3. 배양된 세균의 균집 분석

2.3.1. Genomic DNA 추출

순수 분리 된 미생물 균체 1 loop를 5 % Chelex (Molecular Biology Grade Resin, 200-400 mesh, Sodium Form, BIO-RAD) 100 μ L에 풀어서 끓는 물에서 5분간 반응시키고 얼음에서 식히는 방법으로 DNA를 추출하여 spin down 후 -20 $^{\circ}$ C에서 냉동 보관하였다.

2.3.2. 16S rRNA 유전자의 ARDRA(amplified rDNA restriction analysis)

16S rRNA 유전자 증폭은 universal primer 27F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3')와 1522R (5'-AAG GAG GTG ATC CAG CCGCA-3')을 사용하여 DNA 1.2 μ L, SP-Taq Polymerase 0.15 μ L, 10X G-Taq Buffer 3 μ L, 2.5 mM dNTPs mixture 0.6 μ L, forward와 reverse primer 각각 1.2 μ L, 멸균된 증류수 22.75 μ L로 총 양 30 μ L 의 조건으로 PCR을 실행하였다. PCR 반응은 Peltier Thermal Cycler PTC-100TM (MJ Research, MA, USA)을 이용하여

95 °C에서 5분간 initial denaturation 한 후, 95 °C에서 1분간 denature, 55 °C에서 1분간 annealing, 72 °C에서 1분간 elongation 반응을 총 30 회 반복하고 72 °C에서 10분간 final extension 을 수행하였다. PCR 산물 2 µL를 1 % Agarose gel에서 100V, 30분간, 0.5 X TAE Buffer로 전기영동 하여 1 Kb Labo DNA Ladder을 이용하여 크기를 확인하였다.

증폭 된 16S rRNA의 RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) 분석을 위해 제한효소 *Hae*III (GG↓CC; TaKaRa, Japan)를 사용하였으며, PCR 산물 8 µL, *Hae*III 0.5 µL, 10×Buffer 1 µL, 멸균 된 증류수 0.5 µL를 섞은 10 µL를 37 °C에서 2 시간 반응시켰다. 반응액 10 µL 는 0.5×TAE Buffer 로 2.5 % Agarose gel 에서 50 V로 2 시간 30 분 동안 전기영동을 하였고, 100 bp DNA Ladder (Bioneer)를 이용하여 제한효소에 의해 잘린 밴드의 크기를 확인하고 RFLP pattern을 비교하였다.

2.3.3. 염기서열 및 계통학적 분석

ARDRA 분석을 통해 동일한 RFLP 절단양상을 나타내는 집락을 모아 유형별로 구분하고 각 유형 중 대표균주를 선별하여 염기서열 분석을 위해 TNT-P200 PCR Purification Kit (TNT research, Korea)를 이용하여 정제를 하였다.

정제 된 균주의 rRNA 유전자 염기서열 분석은 ABI BigDye Terminator Cycle Sequencing Kits v3.1 (Applied Biosystems)과, 27F primer를 사용하여 capillary 방식의 ABI 3730XL DNA Analyzer (Applied Biosystems)를 이용하였다. 분석된 염기서열은 Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) search program을 이용하여 National Center for Biotechnology Information (NCBI)의 Genbank database와 EzTaxon server (Chun *et al.*, 2007)에서 유사한 염기서열을 비교하고, 가장 근연속이나 종으로 나타나는 서열을 확인하였다. 본 연구에 의해서 결정 된 염기서열과 database에서 검색 된 근연 세균의 염기서열은 Mega 5.05 software에 포함된 Clustal W 프로그램을 이용하여 multiple alignment 로 정렬하였다 (Tamura *et al.*, 2011). 진화적 거리는 Jukes & Cantor distance model (Jukes and Cantor, 1969) 방법을 이용하여 계산하고 neighbor-joining 방법

(Saitou & Nei, 1987)을 이용하여 계통수를 작성하였다. Tree topology의 신뢰성을 평가하기 위하여 1000회의 replication을 적용한 bootstrap 분석을 하였다 (Felsenstein, 1993; Maidak *et al.*, 1994).

Ⅲ. 결과 및 고찰

3.1. 세균 수

3.1.1. 시료의 세균 수

각 조사지의 시료를 평판배지에 적정한 희석비의 현탁액을 도말한 후 배양된 집락의 수 (cfu/mL)는 Table 2. 에 나타나 있다. 이 결과는 3회 반복 후 평균을 내었다.

Table 2. Bacterial number of samples from investigation sites

Site	Bacterial Number (cfu/mL)
Dongsuak	0.9×10^7
Eoseungsaeng	2.5×10^5
Geumoreum	2.6×10^6
Saraoreum	1.0×10^7
Mulchatoreum	3.5×10^7
Muljangori	0.9×10^6
Mulyeongari	1.3×10^5
Semioreum	2.7×10^3
Wondangbong	1.1×10^6

3.2. 세균의 분리 및 배양

3.2.1. 세균의 분리

Petri dish 상에 배양 된 세균은 집락의 모양, 색깔, 크기, 성장속도를 비교하여 집락의 수를 계수하였다. 비가 온 후에만 물이 고이는 지역인 동수악에서는 상이한 160개의 집락이 분리되었고, 어승생에서는 295개 집락이 분리되었으며, 금오름에서는 92개 집락, 사라오름에서는 209개 집락이 분리되었다. 항상 물이 차있는 지역인 물찾오름에서는 675개의 집락이 분리되었으며, 물장오리에서 174개의 집락, 물영아리에서 123개의 집락이 분리되었다. 기존 화구호에 인공으로 재조성된 습지인 새미오름과 원당봉에서는 각각 215개 집락, 245개 집락이 분리되었다 (Table 3).

Table 3. Number of colony isolated from different sampling sites

Site	colony
Dongsuak	160
Eoseungsaeng	295
Geumoreum	92
Saraoreum	209
Mulchatoreum	675
Muljangori	174
Mulyeongari	123
Semioreum	215
Wondangbong	245

3.3. 세균의 군집 분석

3.3.1. 16S rDNA 유전자의 ARDRA(amplified rDNA restriction analysis)

각 조사지의 시료에서 분리된 집락의 RFLP 절단양상에 따라 유형을 나누었고, 분류한 유형 내에서 대표를 선정하여 염기서열 및 계통학적 분석에 사용하였다. 제한효소 *Hae*III에 의해 절단된 16S rRNA 유전자를 동일한 RFLP 절단양상을 기준으로 분류한 결과 동수약은 26개의 유형, 어승생 11개, 금오름 23개, 사라오름 26개, 물чат오름 57개, 물장오리 15개, 물영아리 28개, 새미오름 9개, 원당봉 33개 유형으로 분류되었으며 (Table 4), 물чат오름의 시료에서 가장 많은 유형 (57개)이 나타났고 새미오름은 가장 적은 9개의 유형으로 분석되어 6배 이상의 차이를 보였다. 이는 식생이 풍부한 물чат오름과 인공이 가미된 습지로서 식생이 거의 없어 유기물을 이용하는 세균이 서식하기 어려운 환경인 새미오름 습지의 차이로 해석된다. 원당봉의 경우도 새미오름과 같이 인공이 가미된 습지로서 식생이 거의 없는 지역이지만 화구호 습지 주변으로 사찰과 체육공원 시설이 있어 사람들의 출입이 자유로워 외부의 세균이 지속적으로 유입이 되어 비교적 다양한 유형이 나타난 것으로 보인다.

Table 4. Number of RFLP types of samples collected at each sampling site

Site	RFLP type
Dongsuak	26
Eoseungsaeng	11
Geumoreum	23
Saraoreum	26
Mulchatoreum	57
Muljangori	15
Mulyeongari	28
Semioreum	9
Wondangbong	33

3.3.2. 염기서열 및 계통학적 분석

16S rRNA 유전자는 돌연변이가 잘 일어나지 않아 그 염기서열을 비교함으로써 세균을 분류하는데 널리 쓰인다. 많은 연구자들에 의하여 세균들의 rRNA 염기서열에 대한 자료가 축적되어 가고 있고, 16S rRNA 염기서열 분석법의 자동화로 인해 더 쉽고 정확하게 세균을 분류할 수 있게 되었다.

각 조사지의 시료에서 분리된 균주 중 분석된 16S rRNA 염기서열은 염기서열간의 유사도를 확인하기 위해 BLAST search program을 이용하여 NCBI의 Genbank와 EzTaxon server에서 유사한 염기서열을 비교하고, 가장 근연 속이나, 종으로 나타나는 서열을 확인하였다.

동수악에서 분리한 160개의 집락 중 RFLP 유형이 동일한 균주들을 선발하여 염기서열을 분석한 결과 *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*의 3개의 문에서 *Actinobacteria*, *Bacilli*, *α-Proteobacteria*, *β-Proteobacteria* 와 *γ-Proteobacteria*의 5개의 강이 확인되었다 (Table 5, Fig. 3.). *Proteobacteria* 문이 약 93 %를 차지하여 우세하였고, *Firmicutes* 약 4 %, *Actinobacteria* 약 3 %를 차지하였다. *Proteobacteria* 문의 *α-Proteobacteria*, *β-Proteobacteria* 와 *γ-Proteobacteria* 3개의 강 중에서 *β-Proteobacteria* 강이 약 53 %를 차지하였고, *α-Proteobacteria* 28 %, *γ-Proteobacteria* 약 19 %를 차지하였다. *Firmicutes* 문에서는 *Bacilli* 강, *Actinobacteria* 문에서는 *Actinobacteria* 강만이 나타났다. 가장 우세하게 나타난 *β-proteobacteria* 강에서는 우물물에서 발견된 *Curvibacter lanceolatus*, 질소고정세균으로 알려져 있는 *Burkholderia tropica* 가 많이 나타났다 (Linxian Ding *et al.*, 2004; V. M. Reis *et al.*, 2004). *α-Proteobacteria* 강에서 많이 나타난 *Ensifer* 속은 토양에서 분리되는 세균으로 알려져 있다 (L. E. CASIDA, JR., 1982; Li *et al.*, 2011) *γ-Proteobacteria* 에서 많이 나타난 *Pseudomonas segetis* 도 토양에서 분리된 세균 (Park *et al.*, 2006) 으로 많이 나타난 세균들을 보면 동수악의 환경이 수계와 토양환경의 중간 단계를 나타내고 있다고 보여진다. 실제 동수악은 솔비나무가 점차 습지 내부로 영역을 확장하고 있어서 장마철 이외에는 물이 고이지 않고 있으며 육지화가 가속되고 있는 지역이다.

Table 5. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Dongsuak sample by 16S rRNA gene sequence similarity

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
DS1	2	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Chromobacterium piscinae</i>	99.8
DS2	3	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pantoea brenneri</i>	98.5
DS3	5	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Serratia nematodiphila</i>	100.0
DS4	3	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Mitsuaria chitosanitabida</i>	100.0
DS5	15	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Ensifer adhaerens</i>	97.4
DS6	5	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Curvibacter anceolatus</i>	99.7
DS7	2	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacillus niacini</i>	99.2
DS8	1	<i>Firmicutes</i>	<i>Cohnella arctica</i>	97.7
DS9	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Duganella sacchari</i>	97.9
DS10	20	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Burkholderia tropica</i>	100.0
DS11	6	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Mitsuaria chitosanitabida</i>	98.3
DS12	3	<i>Firmicutes</i>	<i>Lysinibacillus xylanilyticus</i>	100.0
DS13	3	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Chromobacterium violaceum</i>	98.6
DS14	3	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas insulae</i>	97.9
DS15	3	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Novosphingobium capsulatum</i>	98.5
DS16	3	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Aquitalea denitrificans</i>	98.9
DS17	13	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Rhizobacter fulvus</i>	99.9
DS18	15	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonas segetis</i>	97.0
DS19	6	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacter kobei</i>	98.2
DS20	11	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Methylobacterium aerolatum</i>	100.0
DS21	3	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Methylobacterium komagatae</i>	99.9
DS22	1	<i>Actinobacteria</i>	<i>Rhodococcus erythropolis</i>	99.7
DS23	3	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter methylotrophus</i>	99.1
DS24	3	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Bosea lupini</i>	99.1
DS25	4	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Novosphingobium capsulatum</i>	98.8
DS26	23	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Curvibacter lanceolatus</i>	100.0

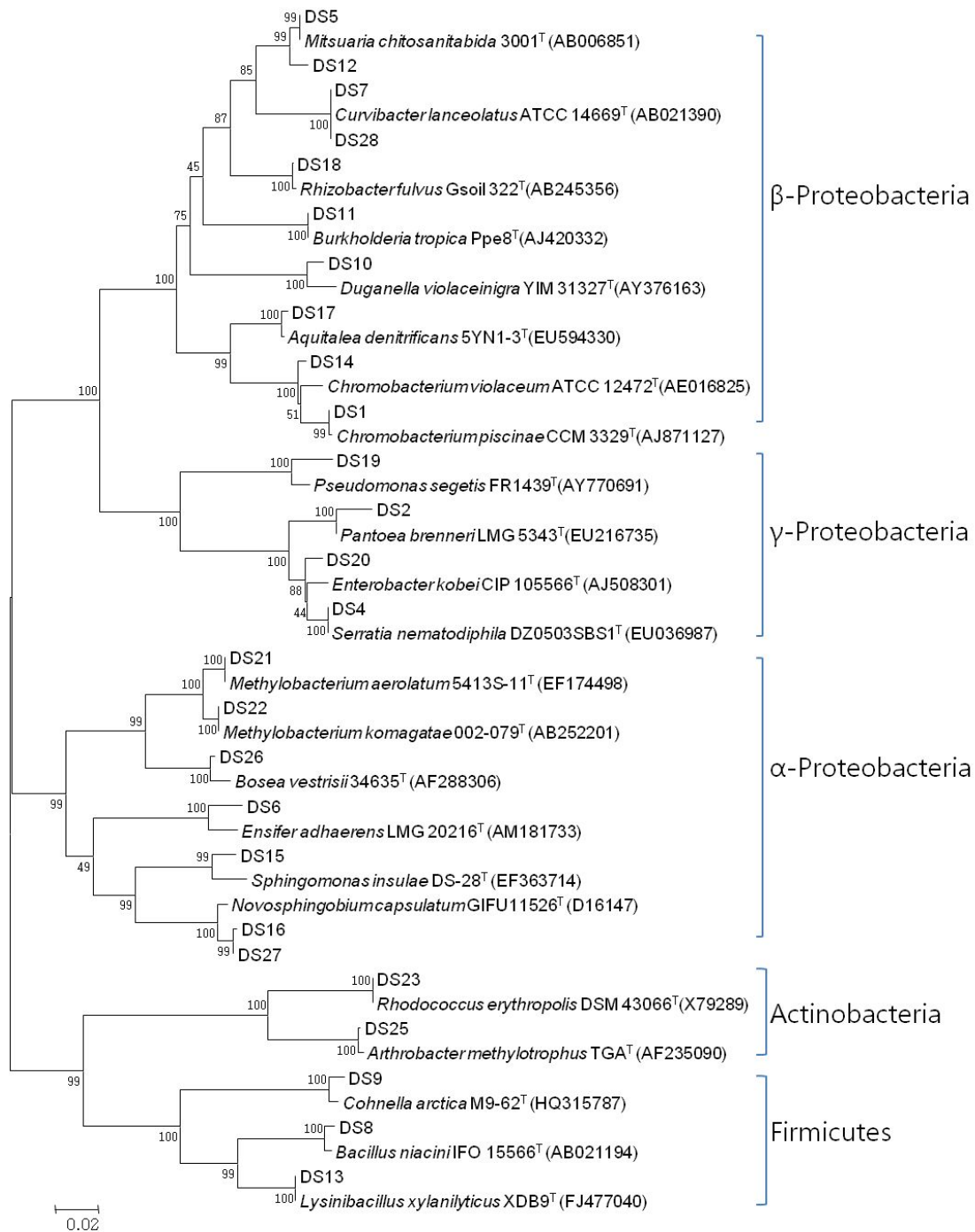


Fig. 3. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of cultured bacteria from sample of Dongsuak. Numbers on branch nodes are bootstrap values expressed as percentages (1000 replicates). Bar, 0.02 substitutions per nucleotide position.

어승생에서는 11개 RFLP유형이 나타났고 이들의 16S rRNA 유전자의 염기서열을 분석하고 가까운 종을 검색한 바, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *proteobacteria* 문을 확인하였다 (Table 6, Fig. 4). *Actinobacteria* 문이 약 70%를 차지함으로써 우점하였고, *proteobacteria* 문이 약 27%, *Bacteroidetes* 문이 약 3%가 나타났다. *proteobacteria* 문에서는 α -*Proteobacteria*, β -*Proteobacteria* 와 γ -*Proteobacteria* 가 나타났으며, β -*Proteobacteria* 약 74%, γ -*Proteobacteria* 약 15%, α -*Proteobacteria* 약 11%가 나타났다. *Actinobacteria* 문에서는 *Actinobacteria* 강이, *Bacteroidetes* 문에서는 *Cytophagia* 강만이 나타났다. 강 수준에서 살펴보면, *Actinobacteria* 강이 약 70%, β -*Proteobacteria* 강은 약 20%, γ -*Proteobacteria* 강이 약 4%, α -*Proteobacteria* 강, *Cytophagia* 강이 각각 약 3%를 차지하는 것으로 나타났다. *Actinobacteria* 강의 *Arthrobacter* 속이 아주 우세하게 나타났다. 어승생의 시료에서는 *Arthrobacter* 속의 *Arthrobacter oryzae* 가 가장 우점하는 것으로 나타났다. 이 세균은 논 토양에서 발견된 것으로 보고되어졌으며 (Kageyama *et al.*, 2008), β -*Proteobacteria* 강의 *Methylibium* 속이 다음으로 많이 나타났으며 늪지대의 물, 인삼 밭 토양 등에서 분리가 되었다(Song *et al.*, 2007; Yoon *et al.*, 2007). 어승생의 환경이 비가 온 후에는 물이 고여 있으면서 수계 환경이, 그 외의 시기에는 물을 많이 가지고 있지 않은 일반적인 토양 환경을 유지하고 있기에 수계 환경에서 나타나는 세균과 토양 환경에서 나타나는 세균이 같이 나타날 수 있었다고 보여지며, 이는 어승생이 수생태계와 육상생태계 중간지대임을 보여 준다고 사료된다.

Table 6. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Eoseungsaeng sample by 16S rRNA gene sequence similarity

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
ES1	17	<i>Actinobacteria</i>	<i>Streptomyces cinereorectus</i>	100.0
ES2	44	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Methylibium petroleiphilum</i>	96.2
ES3	4	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Spirosoma linguale</i>	93.9
ES4	5	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas pituitosa</i>	100.0
ES5	4	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas melonis</i>	99.0
ES6	12	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Luteibacter rhizovicinus</i>	99.0
ES7	2	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Spirosoma linguale</i>	95.1
ES8	4	<i>Actinobacteria</i>	<i>Streptomyces avellaneus</i>	100.0
ES9	14	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Massilia suwonensis</i>	97.5
ES10	187	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter oryzae</i>	99.9
ES11	2	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Fibrella aestuarina</i>	87.7

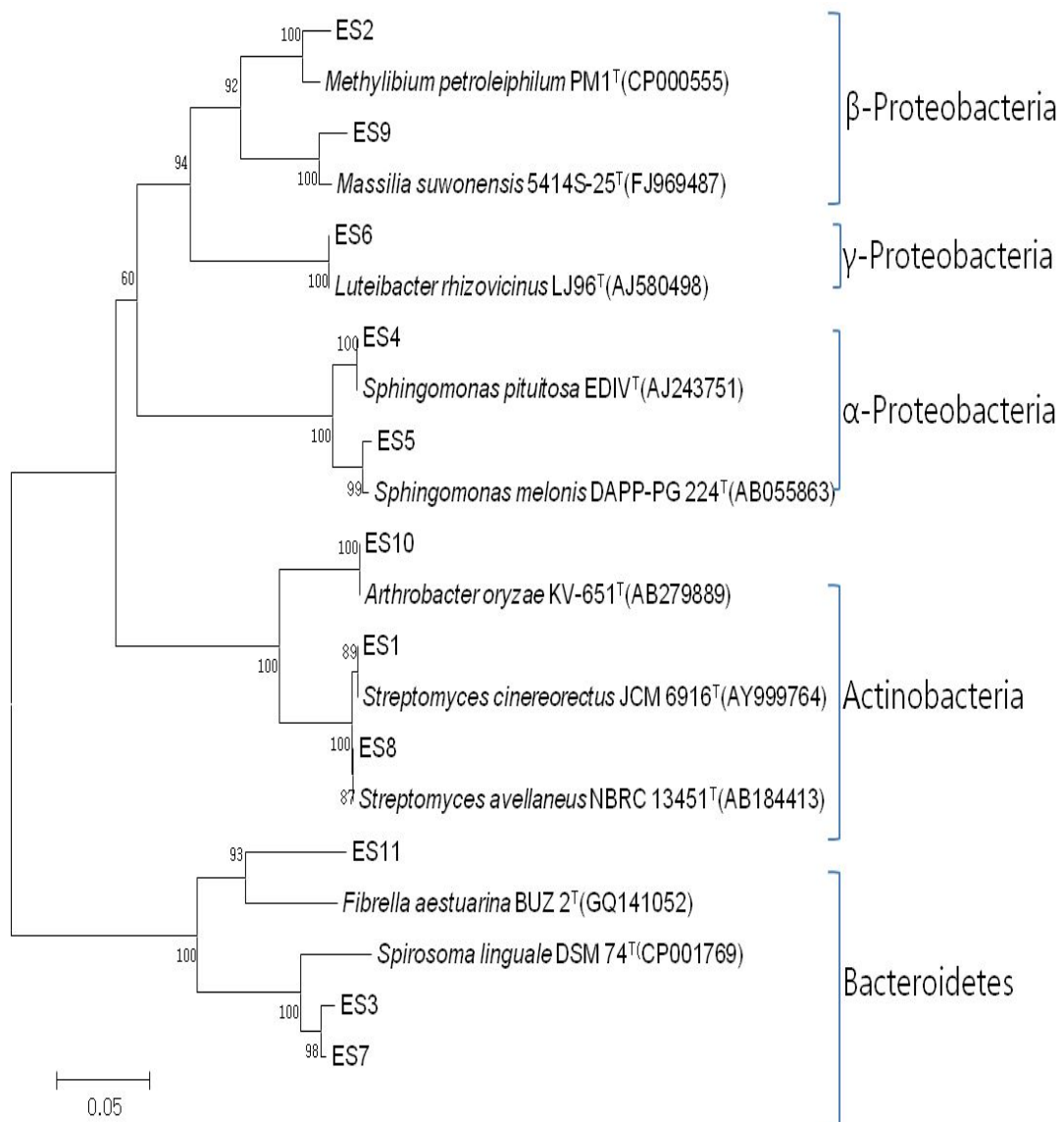


Fig. 4. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of cultured bacteria from sample of Eoseungsaeng. Numbers on branch nodes are bootstrap values expressed as percentages (1000 replicates). Bar, 0.02 substitutions per nucleotide position.

금오름에서 분리된 92개의 집락은 23개의 RFLP유형으로 나타났고 각 유형의 균주를 16S rRNA 유전자의 염기서열과 가까운 종을 검색한 결과 *Actionobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* 3개의 문으로 나눌 수 있었다 (Table 7, Fig. 5). *Proteobacteria* 문이 가장 많이 분리되어 약 86 %를 차지하였다. 그 다음으로 *Actionobacteria* 문이 약 13 %가 나타났고 *Bacteroidetes* 문이 약 1 %가 나타났다. 가장 많이 나타난 그룹인 *Proteobacteria* 문은 α -*Proteobacteria*, β -*Proteobacteria*, γ -*Proteobacteria* 강이 나타났고, *Proteobacteria* 문내에서만 비교해 보았을 때 α -*Proteobacteria* 강이 약 65 %를 차지하였고 β -*Proteobacteria* 강이 약 21 %, γ -*Proteobacteria* 강이 약 14 %를 차지하는 것으로 나타났다. 금오름에서 분리된 세균을 강 수준에서 살펴보면, *Actionobacteria* 강이 약 13 %를 차지하고 *Bacteroidetes* 문 (phylum)의 *Sphingobacteria* 강이 약 1 %를 차지하였고 α -*Proteobacteria* 강은 약 55 %, β -*Proteobacteria* 강은 약 18 %, γ -*Proteobacteria* 강은 약 12 %가 나타났다. 가장 많이 분리된 α -*Proteobacteria* 강에서는 *Novosphingobium*과 *Methylosinus* 속이 나타났다. *Novosphingobium* 속은 쓰레기 수거장, 강 하구의 퇴적물 등 유기물이 많이 있는 곳에서 발견된다고 보고되어 있다 (Katsuhiko *et al.*, 2003; Sohn *et al.*, 2004; Saxena *et al.*, 2012). *Methylosinus* 속은 습지 내 토양에서 발견되는 세균으로 아주 추운 지역의 습지에서도 분리되었다고 보고되어 있다 (Dedysh *et al.*, 2000; Wartainen *et al.*, 2006). 금오름은 사람의 왕래가 있으며, 소나 말을 방목의 흔적을 보이고 있다. 이에 *Novosphingobium* 속과 같이 유기물이 많은 곳에서 자라는 세균들이 많이 나타났다고 보여 진다.

Table 7. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Geumoreum sample by 16S rRNA gene sequence similarity

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
GM1	3	<i>Actinobacteria</i>	<i>Micromonospora saelicesensis</i>	99.9
GM2	21	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Novosphingobium indicum</i>	95.4
GM3	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Chitinilyticum litopenaei</i>	95.1
GM4	15	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Methylosinus sporium</i>	96.7
GM5	5	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Polynucleobacter necessarius</i>	99.8
GM6	5	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Bosea thiooxidans</i>	93.1
GM7	2	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Ideonella dechloratans</i>	96.9
GM8	2	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Paracraurococcus ruber</i>	95.1
GM9	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Roseomonas lacus</i>	95.0
GM10	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Methylobacterium tardum</i>	100.0
GM11	5	<i>Actinobacteria</i>	<i>Sporichthya polymorpha</i>	93.6
GM12	2	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Methylosinus sporium</i>	96.0
GM13	3	<i>Actinobacteria</i>	<i>Mycobacterium frederiksbergense</i>	97.2
GM14	5	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Massilia niabensis</i>	98.0
GM15	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Brevundimonas bullata</i>	99.5
GM16	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Curvibacter delicatus</i>	97.7
GM17	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Methylocystis echinoides</i>	96.3
GM18	3	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Polynucleobacter necessarius</i>	100.0
GM19	1	<i>Actinobacteria</i>	<i>Mycobacterium frederiksbergense</i>	97.7
GM20	1	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Pedobacter nyackensis</i>	97.1
GM21	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Novosphingobium stygium</i>	98.8
GM22	11	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Rhodanobacter soli</i>	100.0
GM23	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Paracraurococcus ruber</i>	94.9

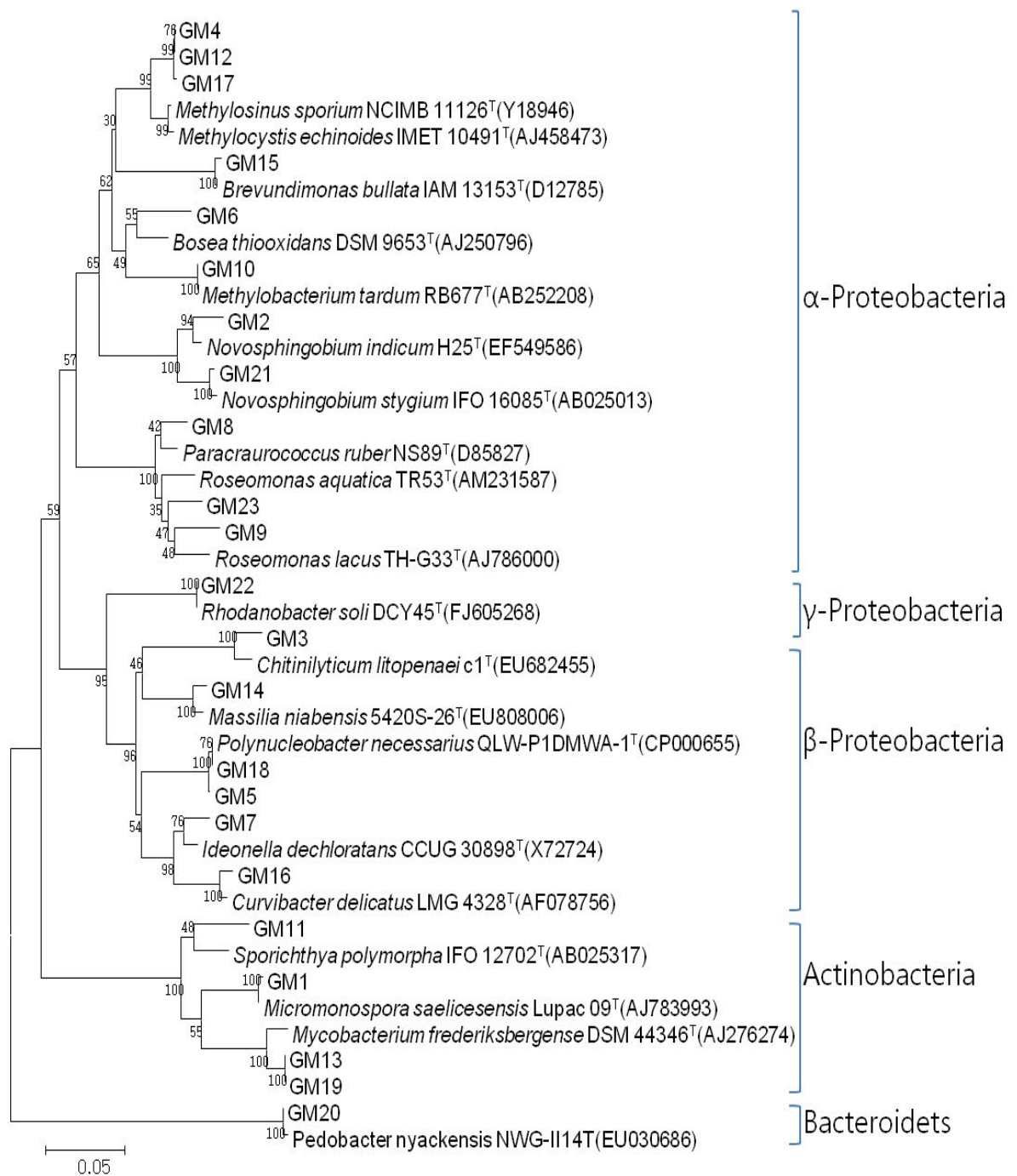


Fig. 5. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of cultured bacteria from sample of Geumoreum. Numbers on branch nodes are bootstrap values expressed as percentages (1000 replicates). Bar, 0.02 substitutions per nucleotide position.

사라오름에서 분리된 209개의 집락은 26개의 RFLP 유형으로 나타났고 각 유형의 균주를 16S rRNA 유전자의 염기서열과 가까운 종을 검색한 결과 4개의 문, 6개의 강이 나타났다 (Table 8, Fig. 6.). *Proteobacteria* 문이 약 68 %를 차지하고, *Actionobacteria* 문이 약 30 %가 나타났으며, *Bacteroidetes* 문과 *Firmicutes* 문이 각각 약 1 % 가 나타났다. 가장 많이 나타난 *Proteobacteria*문에서 α -*Proteobacteria*, β -*Proteobacteria*, γ -*Proteobacteria* 가 나타나며, *Proteobacteria* 문에서는 β -*Proteobacteria* 가 약 79 %, α -*Proteobacteria* 가 약 20 %, γ -*Proteobacteria* 가 약 1 % 가 나타났다. 분리 된 6개의 강에서 비교해보면 β -*Proteobacteria*가 약 54 %를 차지하며 우점하였고, *Actionobacteria*가 약 30 %가 나타났으며, α -*Proteobacteria*가 약 13 %, 그 외 *Flavobacteria* 강, γ -*Proteobacteria* 강, *Bacilli* 강이 1 %이하로 나타났다.

β -*Proteobacteria* 강 중에서 *Variovorax*, *Acidovorax* 속이 가장 많이 차지하는 것으로 나타났다. *Variovorax* 속은 하수, 온실토양 등에서 분리 되었다고 알려져 있으며, *Acidovorax* 속은 쓰레기 매립지 토양, 활성 슬러지 등에서 나타나고 있다 (Kim *et al.*, 2006; Yoon *et al.*, 2006; Miwa *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2008; Choi *et al.*, 2010; JIN *et al.*, 2012). *Actionobacteria* 강에서는 *Arthrobacter* 속이 가장 많이 분리 되었다. *Arthrobacter* 속은 어승생에서도 우점하는 속으로 나타났다. 이 속의 세균은 하수, 논 토양, 근권 토양, 연못, 남극지역의 토양, 알프스 병하의 퇴적물 등 다양한 곳에서 나타나며 넓은 분포를 보이고 있는 속으로 알 수 있겠다 (Reddy *et al.*, 2000; Kageyama *et al.*, 2008; Kim *et al.*, 2008; Ganzert *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2012; Margesin *et al.*, 2012). α -*Proteobacteria* 강에서는 *revundimonas* 속이 나타났는데 이는 색깔이 검은색 모래로 용암의 작은 파편으로 이루어진 화산 주변의 해변에서 발견되는 흑사 (black sand)인 제주도 서귀포시 남원읍에 있는 쇠소깍에서도 분리가 되었고 독도의 토양에서도 분리가 되었다고 알려졌다 (Yoon *et al.*, 2007; Kang *et al.*, 2009; Choi *et al.*, 2010). 이는 화산지형 및 화산토와 관련이 있을 것으로 추정된다.

Table 8. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Saraoreum sample by 16S rRNA gene sequence similarity

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
SR1	1	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Stenotrophomonas humi</i>	97.2
SR2	2	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax boronicumulans</i>	99.4
SR3	2	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Chryseobacterium haifense</i>	97.8
SR4	11	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter oryzae</i>	100.0
SR5	18	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter globiformis</i>	99.5
SR6	26	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Brevundimonas bullata</i>	99.7
SR7	8	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter kerguelensis</i>	98.8
SR8	1	<i>Firmicutes</i>	<i>Brevibacillus brevis</i>	100.0
SR9	17	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter globiformis</i>	99.5
SR10	32	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Acidovorax facilis</i>	98.0
SR11	3	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Acidovorax radialis</i>	98.0
SR12	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Kaistia terrae</i>	100.0
SR13	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Paracaligenes ureilyticus</i>	97.5
SR14	7	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter globiformis</i>	99.3
SR15	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Afipia broomeae</i>	97.8
SR16	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax paradoxus</i>	99.3
SR17	3	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax paradoxus</i>	99.5
SR18	1	<i>Actinobacteria</i>	<i>Streptomyces avellaneus</i>	99.5
SR19	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax paradoxus</i>	99.5
SR20	1	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonas mohnii</i>	100.0
SR21	2	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Polaromonas jejuensis</i>	97.9
SR22	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Oxalicibacterium solurbis</i>	97.6
SR23	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax paradoxus</i>	99.5
SR24	2	<i>Actinobacteria</i>	<i>Streptomyces avellaneus</i>	99.5
SR25	23	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Paracaligenes ureilyticus</i>	97.4
SR26	42	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax paradoxus</i>	99.3

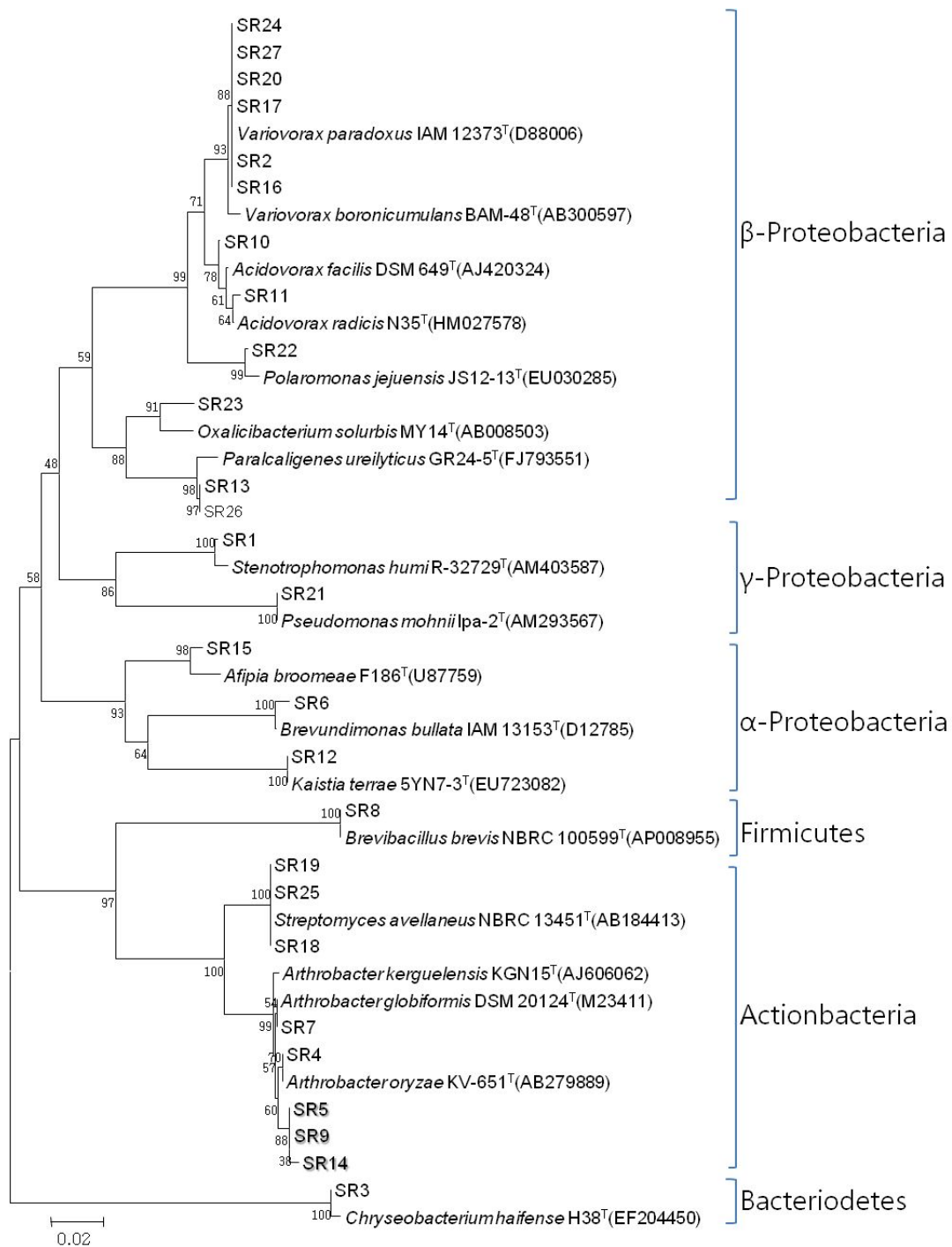


Fig. 6. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of cultured bacteria from sample of Saraoreum. Numbers on branch nodes are bootstrap values expressed as percentages (1000 replicates). Bar, 0.02 substitutions per nucleotide position.

물чат오름에서 분리된 675개의 집락은 57개의 RFLP 유형으로 나타났고 각 유형의 균주를 16S rRNA 유전자의 염기서열과 가까운 종을 검색한 결과 5개 문, 8개 강으로 가장 다양한 분류군이 나타났다 (Table 9, Fig. 7). *Proteobacteria* 문이 약 65 %, *Actionobacteria* 문이 약 23 %, *Firmicutes* 문이 약 6 %, *Bacteroidetes* 문이 약 5 %, *Verrucomicrobia* 문이 약 1 % 를 차지하였다. *Proteobacteria* 문에서는 α -*Proteobacteria*, β -*Proteobacteria*, γ -*Proteobacteria* 가 나타났으며, *Bacteroidetes* 문에서는 *Cytophagia* 강, *Sphingobacteria* 강이 나타났다. 강 수준에서 비교를 하면, β -*Proteobacteria* 강이 약 37 %, *Actionobacteria* 강이 약 23 %, γ -*Proteobacteria* 가 약 14 %, α -*Proteobacteria* 강이 약 13 %, *Bacilli* 강이 약 6 % *Sphingobacteria* 강이 약 4 %, *Verrucomicrobiae* 강이 약 1 % 를 차지하며 다양하게 나타났다. 물чат오름은 람사르 협약에 등록 예정 습지로 한라산 중산간 지역에 있으며 주변에 둘러 싸인 산림과 더불어 청정한 환경을 유지하고 있다. 이러한 환경적인 영향도 다양한 분류군이 나타나는 것에 영향을 미친 것으로 보인다. RFLP type MC8은 *Actionobacteria* 에 속하며, *Lapillicoccus jejuensis* 와 99.8 % 유사성을 나타내며 분리된 집락 수로는 가장 많은 90개 집락이 분리되었다. *Lapillicoccus jejuensis* 는 제주도의 작은 돌에서 분리가 되었다고 보고가 된 종이다 (Lee *et al.*, 2007).

β -*Proteobacteria* 강에서 *Variovorax* 속이 가장 많이 나타났는데, 이 속은 사라오름에서도 많이 나타났으며, 하수, 인삼재배 토양, 온실 토양 등 양분이 많은 곳에서 잘 분리된 것으로 보이며 (Kim *et al.*, 2006; Yoon *et al.*, 2006; Miwa *et al.*, 2008; JIN *et al.*, 2012). *Yersinia nurmii*와 *Shigella flexneri*는 동물의 장내에 존재하는 세균으로 동물의 분변을 통해 물чат오름 습지에 유입 되었을 것으로 추정되며 물чат오름의 습지가 주변에 서식하는 동물들에게 중요한 식수원으로 이용되고 있다고 사료된다. 다른 지역과 달리 다양성이 높게 분리된 *Actionobacteria* 강에서 *Lapillicoccus jejuensis* 외에 많이 분리된 *Leifsonia* 속은 근권 토양, 연못, 빙하 등에서 분리 되어졌고 (Qiu *et al.*, 2007; Dastager *et al.*, 2008; Reddy *et al.*, 2008; Dastager *et al.*, 2009; Pindi *et al.*, 2009; Madhaiyan *et al.*, 2010), 수계 및 토양 환경에서 모두 나타나기에 이 조사지에서

많이 나타날 수 있었다고 보여진다. 일반적인 배양기술로는 분리하기 어려운 난 배양성 세균으로 알려진 *Verrucomicrobiae* 강에 속하는 세균이 물чат오름에서 유일하게 분리되었다. *Verrucomicrobiae* 강의 *Luteolibacter* 속은 활성슬러지, 툰드라 지역의 토양 등에서 분리되고 있다 (Jiang *et al.*, 2012; Park *et al.*, 2012). 자연휴식년제로 인간의 출입의 엄격히 통제되고 있는 물чат오름은 습지에 서식하고 있는 토착 수생 동식물 뿐 만 아니라 야생동물의 출입으로 고유한 생태계를 이루고 있으며, 이는 다양한 세균 생태계를 가질 수 있는 환경을 제공해 줌으로써 다양한 세균상이 나타난다고 생각된다.

Table 9. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Mulchatoreum sample by 16S rRNA gene sequence similarity

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
MC1	4	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Ralstonia pickettii</i>	99.6
MC2	3	<i>Actinobacteria</i>	<i>Oerskovia turbata</i>	99.8
MC3	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas mucosissima</i>	98.7
MC4	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Novosphingobium stygium</i>	98.0
MC5	5	<i>Verrucomicrobia</i>	<i>Luteolibacter pohnppeiensis</i>	97.9
MC6	10	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax ginsengisoli</i>	99.4
MC7	21	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax soli</i>	98.4
MC8	90	<i>Actinobacteria</i>	<i>Lapillicoccus jejuensis</i>	99.8
MC9	3	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Arcicella aquatica</i>	97.5
MC10	5	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Methylobacterium radiotolerans</i>	99.8
MC11	1	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter ramosus</i>	99.1
MC12	5	<i>Firmicutes</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>	99.8
MC13	30	<i>Actinobacteria</i>	<i>Leifsonia shinshuensis</i>	99.0
MC14	20	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter pascens</i>	100.0
MC15	13	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Massilia niabensis</i>	96.7
MC16	3	<i>Actinobacteria</i>	<i>Streptomyces avellaneus</i>	99.7
MC17	10	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>	99.8
MC18	3	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Cupriavidus metallidurans</i>	100.0
MC19	9	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Bradyrhizobium betae</i>	99.7
MC20	4	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacillus drentensis</i>	99.7
MC21	2	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonas moorei</i>	99.0
MC22	5	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Enterobacter soli</i>	100.0
MC23	10	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Chitinophaga niabensis</i>	90.5

Table 9. continued

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
MC24	15	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Cupriavidus pauculus</i>	98.3
MC25	6	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Methylibium petroleiphilum</i>	97.1
MC26	2	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax ginsengisoli</i>	100.0
MC27	1	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Chitinophaga niabensis</i>	90.5
MC28	1	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Chitinophaga eiseniae</i>	98.6
MC29	30	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Acinetobacter parvus</i>	98.8
MC30	1	<i>Actinobacteria</i>	<i>Dactylosporangium luridum</i>	99.8
MC31	2	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Curvibacter lanceolatus</i>	99.4
MC32	4	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Arcicella aquatica</i>	97.5
MC33	2	<i>Firmicutes</i>	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	99.8
MC34	8	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Duganella violaceinigra</i>	96.3
MC35	19	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacillus luciferensis</i>	99.0
MC36	8	<i>Actinobacteria</i>	<i>Terrabacter aerolatus</i>	99.8
MC37	7	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Pelomonas saccharophila</i>	97.9
MC38	30	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Yersinia nurmii</i>	97.2
MC39	3	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Dyadobacter ginsengisoli</i>	97.1
MC40	25	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax ginsengisoli</i>	99.6
MC41	64	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Novosphingobium capsulatum</i>	98.1
MC42	13	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Aquitalea denitrificans</i>	99.7
MC43	82	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax ginsengisoli</i>	98.5
MC44	10	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax soli</i>	99.4
MC45	22	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Pelomonas saccharophila</i>	99.0
MC46	2	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	99.0

Table 9. continued

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
MC47	3	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Sediminibacterium salmoneum</i>	92.3
MC48	1	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Chitinophaga eiseniae</i>	98.6
MC49	1	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Shigella flexneri</i>	97.0
MC50	24	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Rhizobacter fulvus</i>	91.2
MC51	5	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax ginsengisoli</i>	99.3
MC52	7	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Sediminibacterium salmoneum</i>	92.9
MC53	2	<i>Actinobacteria</i>	<i>Streptomyces avellaneus</i>	99.7
MC54	1	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Dyella japonica</i>	98.5
MC55	4	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax ginsengisoli</i>	100.0
MC56	11	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Novosphingobium aromaticivorans</i>	97.9
MC57	1	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Chitinophaga niabensis</i>	89.8

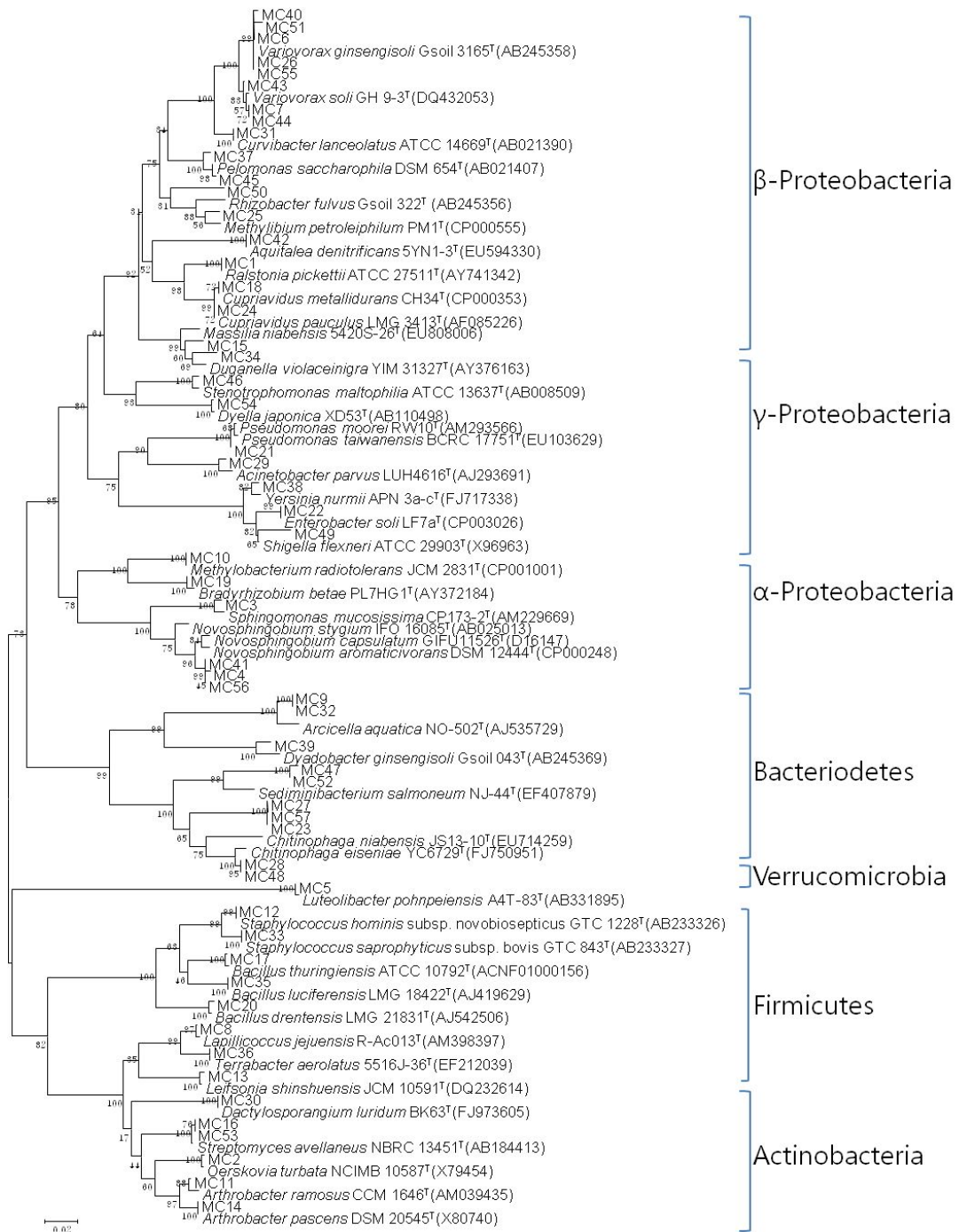


Fig. 7. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of cultured bacteria from sample of Mulchatoreum. Numbers on branch nodes are bootstrap values expressed as percentages (1000 replicates). Bar, 0.02 substitutions per nucleotide position.

물장오리에서 분리된 174개의 집락은 15개의 RFLP 유형으로 나타났고 각 유형의 균주를 16S rRNA 유전자의 염기서열과 가까운 종을 검색한 결과 2개의 문, 3개의 강만이 나타남으로, 가장 적은 분류군을 나타낸 지역이다 (Table 10, Fig. 8.). *Proteobacteria* 문이 약 99 %, *Actionobacteria* 문이 약 1 % 가 분리 되었는데, *α-Proteobacteria* 강이 약 60 % 를 차지하고, *β-Proteobacteria* 강이 약 39 %, *Actionobacteria* 강이 약 1 %를 차지하는 것으로 나타났다. *Proteobacteria* 문에서도 *α-Proteobacteria* 와 *β-Proteobacteria* 강만이 약 60 %, 40 % 가 나타났다. *α-Proteobacteria* 강에서는 *Novosphingobium*, *Bradyrhizobium*, *Sphingomonas* 속이 많이 분리되었고, *β-Proteobacteria* 강에서는 *Variovorax* 속, *Aquabacterium* 속이 많이 나타났다. *Actinobacteria* 강에서는 *Sporichthya* 속만이 나타났다. *Novosphingobium* 속은 금오름 지역에서도 많이 나타났으며, 수계의 퇴적토 등에서 나타나며(Saxena *et al.*, 2012; Sohn *et al.*, 2004; Katsuhiko *et al.*, 2003), *Bradyrhizobium* 속은 콩과 식물의 nodules에서 분리 되고 있는 것으로 알려져 있기에 조사지에 콩과 식물이 존재한다고 생각이 되어 진다(Zhang *et al.*, 2012). *Sphingomonas* 속은 경작지 토양, 고지대의 토양, 산림 토양 등에서 분리되어지고 있다(Zhang *et al.*, 2010; Lin *et al.*, 2011; Margesin *et al.*, 2012). 물장오리는 사계절 물이 고여 있지만 채취 당시 바닥의 퇴적층까지 채취하였기에 퇴적 된 토양에서 분리된 것이라 보여 진다. *Variovorax* 속은 사라오름, 물참오름에 이어 많이 나타나는 것으로 보아 습지 환경에서도 잘 자라는 것으로 생각되어진다. *Aquabacterium* 속의 세균은 깨끗한 물에서 많이 나타나는 것으로 알려졌다(Kalmbach *et al.*, 1999; Chen *et al.*, 2012), 이는 물장오리의 수질이 깨끗하다는 것을 알 수 있게 해준다. 현재 물장오리는 람사르 협약에 의한 관리 습지로 출입이 통제되어 있어 허가를 받은 사람만이 입산을 할 수 있는 곳으로 인공적인 간섭으로부터 잘 격리되어 있다.

Table 10. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Muljangori sample by 16S rRNA gene sequence similarity

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
MJ1	28	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Novosphingobium fuchskuhlense</i>	99.3
MJ2	11	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas pituitosa</i>	97.8
MJ3	5	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Rubrivivax gelatinosus</i>	95.3
MJ4	24	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Aquabacterium commune</i>	97.6
MJ5	6	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Uliginosibacterium gangwonense</i>	95.5
MJ6	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Zoogloea caeni</i>	94.2
MJ7	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Methylocystis echinoides</i>	95.5
MJ8	7	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Albidiferax ferrireducens</i>	96.8
MJ9	1	<i>Actinobacteria</i>	<i>Sporichthya polymorpha</i>	95.3
MJ10	2	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Methylobacterium persicinum</i>	100.0
MJ11	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Roseomonas mucosa</i>	95.7
MJ12	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Novosphingobium fuchskuhlense</i>	85.7
MJ13	37	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Novosphingobium fuchskuhlense</i>	100.0
MJ14	26	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Variovorax soil</i>	99.1
MJ15	23	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Bradyrhizobium oligotrophicum</i>	99.9

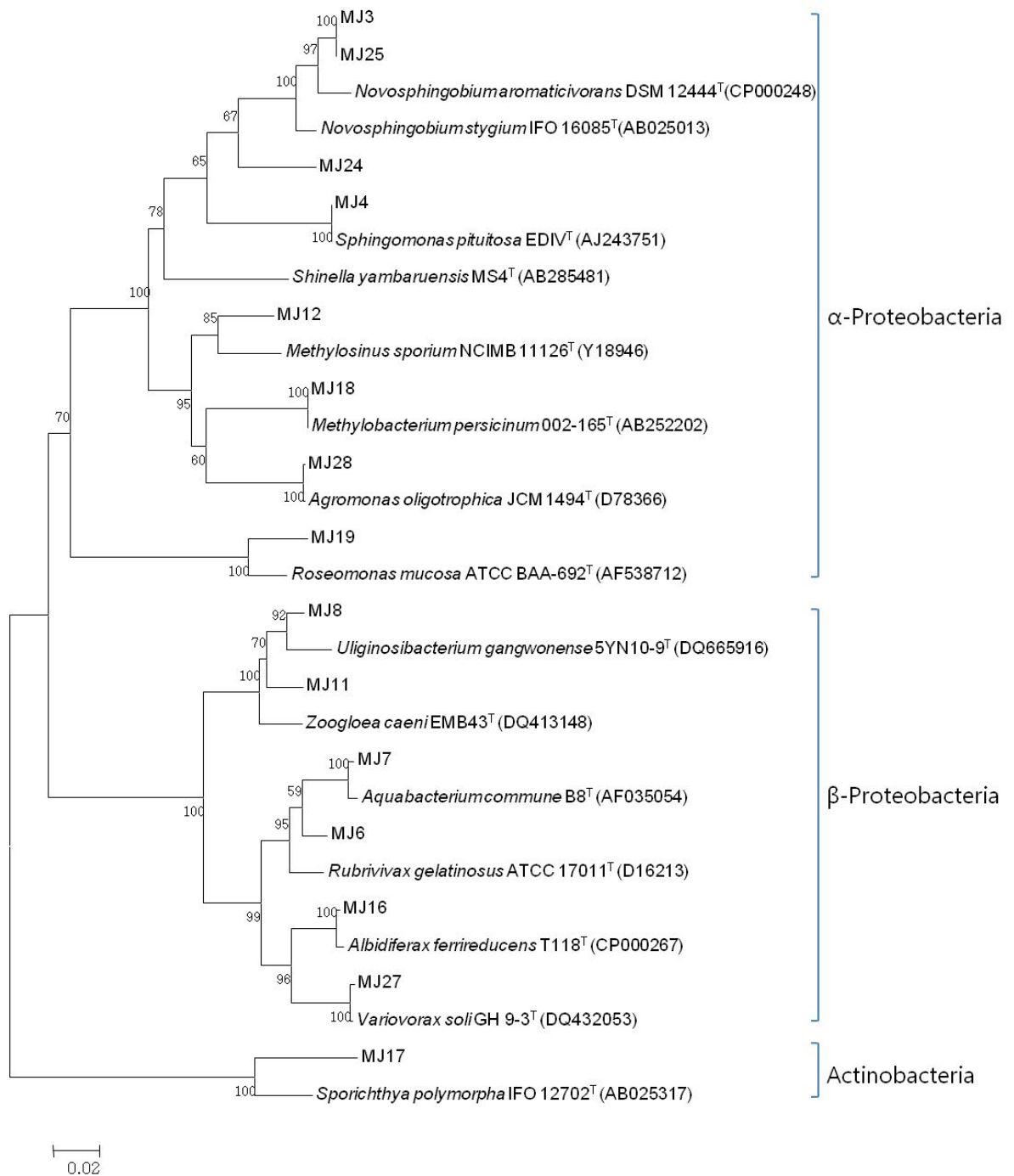


Fig. 8. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of cultured bacteria from sample of Muljangori. Numbers on branch nodes are bootstrap values expressed as percentages (1000 replicates). Bar, 0.02 substitutions per nucleotide position.

물영아리에서 분리된 123개의 집락은 28개의 RFLP 유형으로 나타났고 각 유형의 균주를 16S rRNA 유전자의 염기서열과 가까운 종을 검색한 결과 4개 문, *Actionobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* 문이 나타났으며, *Actionobacteria*, *Flavobacteria*, *Sphingobacteria*, *Bacilli*, α -*Proteobacteria*, β -*Proteobacteria*, γ -*Proteobacteria* 의 7개 강에 존재하는 세균이 나타났다 (Table 11, Fig. 9). 확인 된 4개의 문에서는 *Proteobacteria* 문이 약 86 % 를 차지하면서, 우점하고 있는 것으로 나타났고, 그 외 3개의 문은 각각 약 10 % 미만으로 나타났다. 가장 많이 나타난 *Proteobacteria* 문에서만 알아보면, β -*Proteobacteria* 강이 약 73 % 를 차지하면서 가장 우세하게 나타난 그룹임을 알 수 있었고, α -*Proteobacteria*는 약 13 %, γ -*Proteobacteria*는 약 11 % 를 차지하였다. 물영아리에서 분리된 세균을 강 수준에서 살펴보면, β -*Proteobacteria* 가 약 63 %, α -*Proteobacteria* 약 13 %, β -*Proteobacteria* 약 11 %, *Actionobacteria* 약 7 %, *Bacilli* 약 6 %가 나타났고, *Bacteroidetes* 문의 *Flavobacteria*, *Sphingobacteria* 강은 각각 1 %를 넘지 않았다. β -*proteobacteria* 강의 *Pelomonas*, *Herbaspirillum* 속이 가장 많이 분리가 되었다. α -*Proteobacteria* 강에서 *Rhizobium*속이, *Gammaproteobacteria* 강에서는 *Pantoea* 속이 많이 나타났다. *Pelomonas* 속은 산업지대의 물에서 발견되는 세균이다 (Gomila *et al.*, 2007). 물영아리 또한 물장오리와 마찬가지로 람사르 협약에 의해 보호되고 있는 습지이지만, 인간의 출입이 자유자재로 이루어지고 있으며, 오름에서 말을 방목하고 있다. 이에 따른 자연스레 오염이 조금씩 진행되고 있기에 나타났다고 보여 진다. *Herbaspirillum* 속은 화산의 토양에서 분리가 된 것이 보고가 되어 있다 (Carro *et al.*, 2012). 물영아리 역시 화산에 의해 형성된 화구호 습지이기에 많이 분리된 것이라 생각된다.

Table 11. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Mulyeongari sample by 16S rRNA gene sequence similarity

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
MY1	2	<i>Actinobacteria</i>	<i>Curtobacterium albidum</i>	98.4
MY2	3	<i>Actinobacteria</i>	<i>Microbacterium hatanonis</i>	99.9
MY3	7	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pantoea brenneri</i>	97.8
MY4	1	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Chitinophaga oryzae</i>	87.8
MY5	2	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonas argentinensis</i>	98.9
MY6	3	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacillus safensis</i>	98.0
MY7	10	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rhizobium nepotum</i>	99.2
MY8	3	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Aminobacter niigataensis</i>	99.3
MY9	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Paludibacterium yongneupense</i>	97.2
MY10	3	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Duganella sacchari</i>	97.7
MY11	2	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter humicola</i>	99.2
MY12	2	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Kinneretia asaccharophila</i>	99.0
MY13	3	<i>Firmicutes</i>	<i>Paenibacillus garidevorans</i>	97.8
MY14	2	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Pelomonas aquatica</i>	97.8
MY15	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas aquatilis</i>	99.0
MY16	2	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas pituitosa</i>	100.0
MY17	1	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Xanthomonas translucens</i>	99.7
MY18	2	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pantoea ananatis</i>	99.6
MY19	1	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Cytophaga massiliensis</i>	99.9
MY20	1	<i>Actinobacteria</i>	<i>Lapillicoccus jejuensis</i>	100.0
MY21	5	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Albidiferax ferrireducens</i>	97.1
MY22	34	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Pelomonas aquatica</i>	92.4
MY23	1	<i>Firmicutes</i>	<i>Paenibacillus pectinilyticus</i>	99.3
MY24	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Pelomonas puraquae</i>	97.8
MY25	2	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Kinneretia asaccharophila</i>	98.0

Table 11. continued

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
MY26	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Undibacterium oligocarboniphilum</i>	95.4
MY27	26	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Herbaspirillum aquaticum</i>	99.3
MY28	1	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonas protegens</i>	99.2

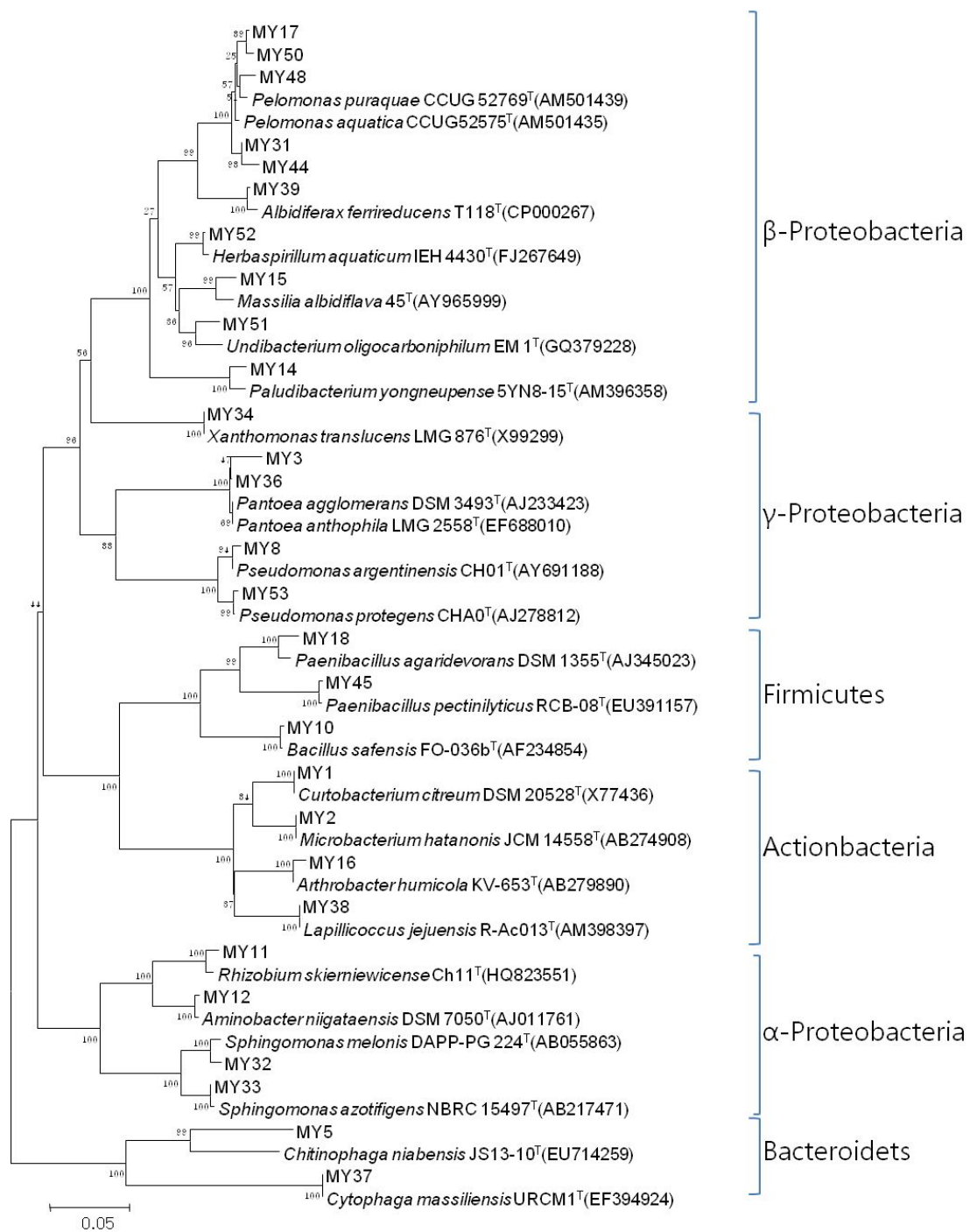


Fig. 9. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of cultured bacteria from sample of Mulyeongari. Numbers on branch nodes are bootstrap values expressed as percentages (1000 replicates). Bar, 0.02 substitutions per nucleotide position.

새미오름에서 분리된 215개의 집락은 9개의 RFLP 유형으로 나타났고 각 유형의 균주를 16S rRNA 유전자의 염기서열과 가까운 종을 검색한 결과 *Actionobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* 문으로 3개의 문으로 확인하였고, 각기 1개의 강만이 나타났다 (Table 12, Fig. 10.). 3개의 문 중에서 *Proteobacteria*가 약 85 %로 우세하게 나타났고, *Actionobacteria*가 약 15 %, *Bacteroidetes*가 1 % 미만으로 확인하였다. *Proteobacteria* 문 중에서 *a-Proteobacteria*만이 분리가 되었고, *Novosphingobium*, *Beijerinckia*, *Shinella* 속이 나타났으며, *Novosphingobium* 속이 아주 우세하게 많이 나타났다. *Actionobacteria*강에서는 *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Sporichthya*, *Arthrobacter* 속의 세균이 나타났고, 이 들 중에서 *Micrococcus* 속이 많이 나타났다. *Bacteroidetes* 문의 *Flavobacteria* 강에서는 *Flavobacterium*이 분리되었다. 이 조사지에서는 *Novosphingobium* 속의 세균이 아주 우세하게 나타났으며, 이 속은 수계의 퇴적토에 분리가 되며 금오름, 물장오리에서도 많이 분리가 되었다 (Katsuhiko *et al.*, 2003; Sohn *et al.*, 2004; Saxena *et al.*, 2012). 새미오름은 천주교 종교시설이 있으며, 종교 시설과 좀 떨어진 곳에 기존 화구호 위에 인공적으로 조성한 습지가 있다. 이는 인공습지를 조성 후 바닥에 퇴적물이 많이 쌓여 있기에 수계의 퇴적토에서 분리되는 세균이 많이 나타난 것으로 추정된다. *Micrococcus* 속은 산업폐수, 활성슬러지, 산림 토양 등에서 분리가 되는데(Liu *et al.*, 2007; Dastager *et al.*, 2010; Chittpurna *et al.*, 2011), 인공적으로 조성하며 오염이 되거나, 산림 토양의 유입이 되었기에 나타났다고 생각된다. *Arthrobacter* 속은 동수악, 어승생, 사라오름, 물찾오름, 물장오리, 물영아리, 원당봉에서 나타났으며 이 속은 습지환경에서 잘 생육하는 것으로 추정 된다.

Table 12. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Semioreum sample by 16S rRNA gene sequence similarity

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
SM1	154	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Novosphingobium stygium</i>	99.1
SM2	1	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Flavobacterium granuli</i>	97.7
SM3	1	<i>Actinobacteria</i>	<i>Micromonospora mirobrigensis</i>	99.7
SM4	3	<i>Actinobacteria</i>	<i>Sporichthya polymorpha</i>	94.1
SM5	2	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter oryzae</i>	99.7
SM6	3	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Shinella fusca</i>	98.2
SM7	22	<i>Actinobacteria</i>	<i>Micrococcus yunnanensis</i>	99.8
SM8	4	<i>Actinobacteria</i>	<i>Micromonospora mirobrigensis</i>	99.5
SM9	25	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Beijerinckia indica</i>	94.9

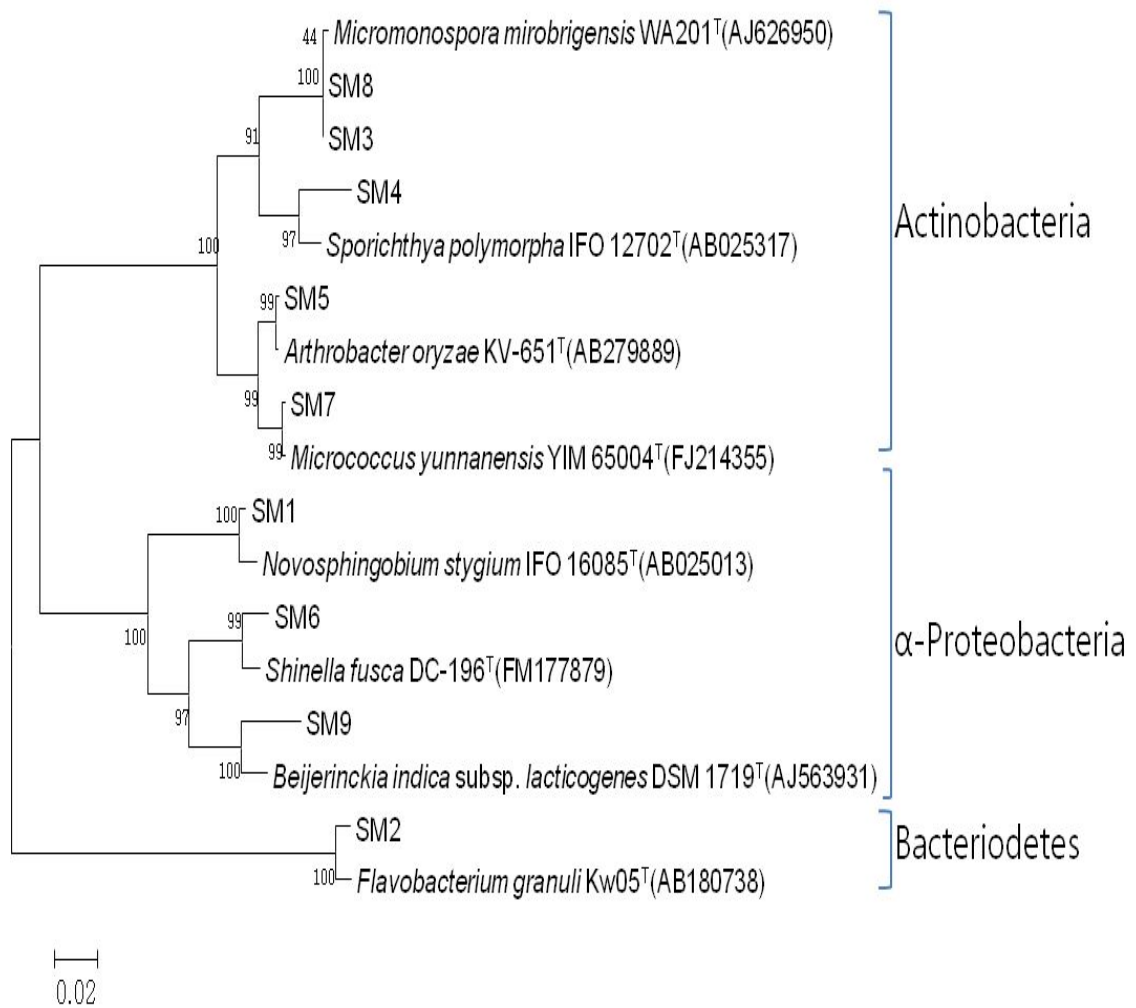


Fig. 10. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of cultured bacteria from sample of Semioreum. Numbers on branch nodes are bootstrap values expressed as percentages (1000 replicates). Bar, 0.02 substitutions per nucleotide position.

원당봉에서 분리된 245개의 집락은 33개의 RFLP 유형으로 나타났고 각 유형의 균주를 16S rRNA 유전자의 염기서열과 가까운 종을 검색한 결과 4개의 문에서 6개의 강의 세균이 분리되었다 (Table 13, Fig. 11). *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* 문의 세균이 분리되었고, *Proteobacteria*가 약 55 %, *Actinobacteria*가 약 40 %로 나타났고, *Bacteroidetes* 약 3 %, *Firmicutes* 약 2 %를 확인하였다. 강 수준에서 보면, *Actinobacteria* 강이 약 40 %, α -*Proteobacteria*가 약 38 %로 비슷하게 나타났고, γ -*Proteobacteria* 약 17 %, *Bacilli*, *Sphingobacteria* 각각 약 2 %, β -*Proteobacteria* 약 1 %, *Flavobacteria* 1 % 미만으로 나타났다. *Actinobacteria* 에서는 *Nocardioides*, *Arthrobacter* 속이 *Alphaproteobacteria* 강에서는 *Sphingomonas* 속이, *Gammaproteobacteria* 강에서는 *Lysobacter* 속이 많이 나타났다. *Bacteroidetes* 문에서는 *Sphingobacteria*, *Flavobacteria* 강이 나타났으며, *Firmicutes* 문에서는 *Bacilli* 강이 나타났다. *Nocardioides* 속은 하수처리장 슬러지에서 분리된다고 알려져 있다 (Woo *et al.*, 2012). 원당봉은 해발 108m로 인근 지역에 바다와 화력발전소, 농작지가 위치해 있어 다른 화구 습지와 달리 해양 토양 및 경작지 등에서 많이 분포하는 세균들이 나타났으며 화구호 습지 주변으로 사찰과 체육공원 시설이 있어 인간의 출입이 자유로워 화구습지내로 외부의 세균의 지속적으로 유입이 되어 비교적 다양한 분류군이 골고루 존재하였다.

Table 13. The Phylogenetic relatives of representative strain from each RFLP type strains from Wondangbong sample by 16S rRNA gene sequence similarity

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
WD1	1	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Flavobacterium resistens</i>	96.0
WD2	1	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacillus cibi</i>	100.0
WD3	9	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas oligophenolica</i>	98.4
WD4	1	<i>Actinobacteria</i>	<i>Micromonospora humi</i>	98.7
WD5	2	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonas mosselii</i>	100.0
WD6	1	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Duganella violaceinigra</i>	98.8
WD7	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas oryzae</i>	98.5
WD8	27	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Lysobacter dokdonensis</i>	98.1
WD9	7	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas oryzae</i>	98.8
WD10	2	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas jaspsi</i>	99.3
WD11	2	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudoxanthomonas icgebensis</i>	98.4
WD12	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Brevundimonas aveniformis</i>	99.0
WD13	9	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter oryzae</i>	99.8
WD14	55	<i>Actinobacteria</i>	<i>Nocardioides ganghwensis</i>	97.9
WD15	1	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacillus nanhaiensis</i>	100.0
WD16	1	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Filimonas lacunae</i>	91.3
WD17	2	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Massilia varians</i>	97.5
WD18	1	<i>Actinobacteria</i>	<i>Microbacterium maritpicum</i>	100.0
WD19	2	<i>Firmicutes</i>	<i>Exiguobacterium indicum</i>	99.6
WD20	10	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Lysobacter brunescens</i>	100.0
WD21	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas jaspsi</i>	99.4
WD22	49	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas jaspsi</i>	99.4
WD23	4	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Filimonas lacunae</i>	91.6
WD24	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Methylobacterium oryzae</i>	100.0
WD25	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas soli</i>	98.2

Table 13. continued.

RFLP Type	NO. colony	Phylum/Class	Closest relative species	Sequence similarity (%)
WD26	1	<i>Actinobacteria</i>	<i>Micromonospora aurantiaca</i>	100.0
WD27	18	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Bosea thiooxidans</i>	94.5
WD28	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonas jaspsi</i>	99.4
WD29	1	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Porphyrobacter donghaensis</i>	99.0
WD30	1	<i>Actinobacteria</i>	<i>Nocardioides ganghwensis</i>	97.8
WD31	2	<i>Actinobacteria</i>	<i>Micromonospora humi</i>	98.5
WD32	2	<i>Actinobacteria</i>	<i>Micrococcus yunnanensis</i>	99.8
WD33	27	<i>Actinobacteria</i>	<i>Arthrobacter oxydans</i>	100.0

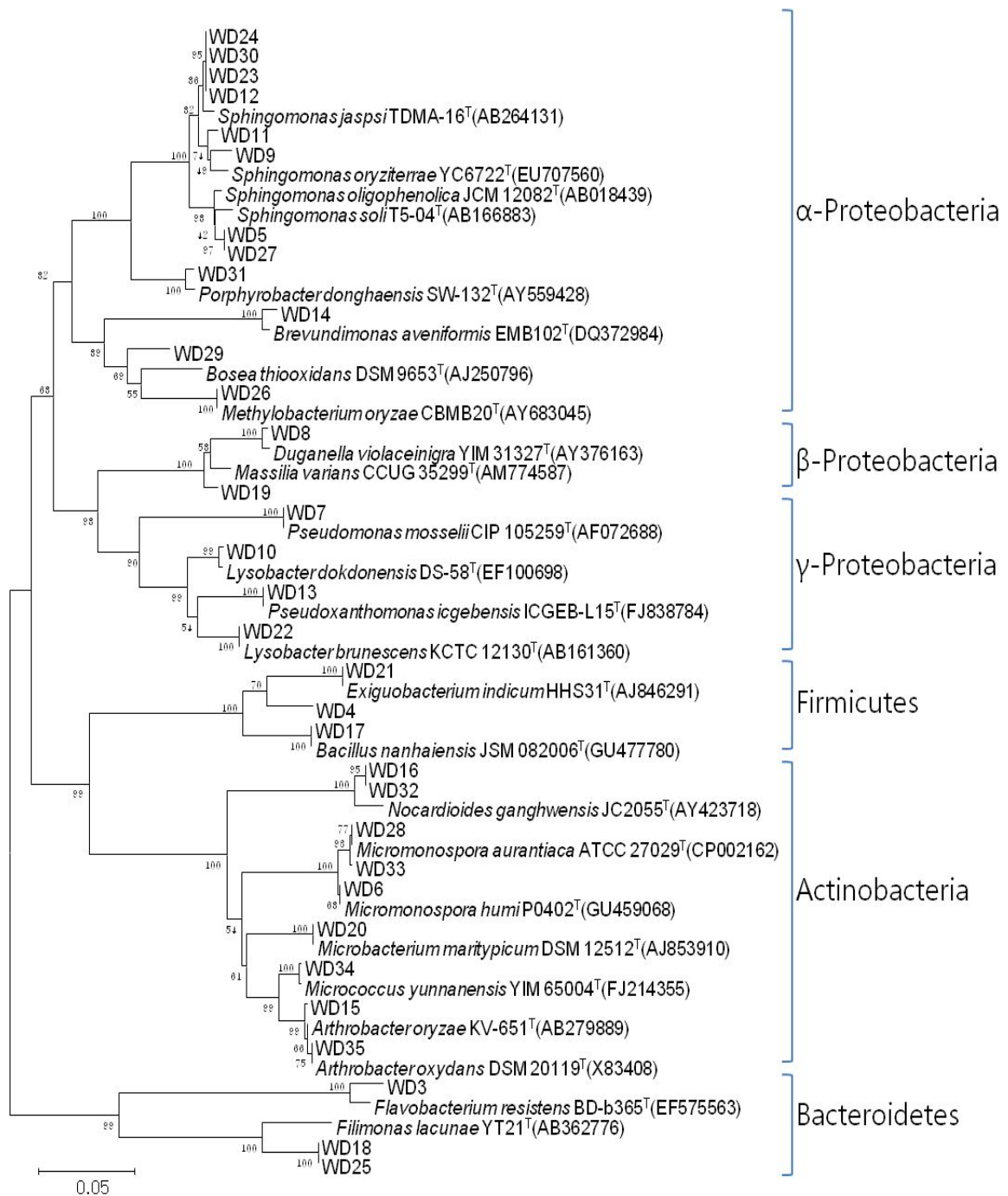


Fig. 11. Neighbor-joining phylogenetic tree based on 16S rRNA gene sequences of cultured bacteria from sample of Wondangbong. Numbers on branch nodes are bootstrap values expressed as percentages (1000 replicates). Bar, 0.02 substitutions per nucleotide position.

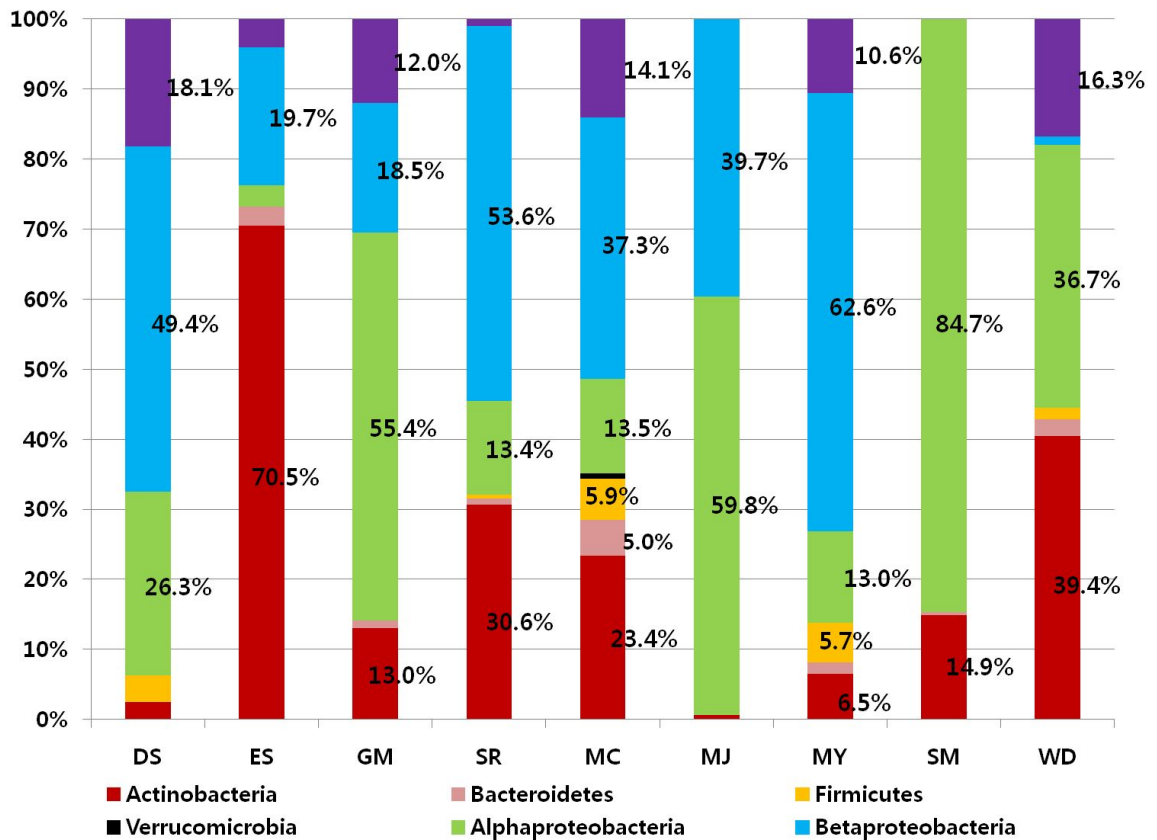


Fig. 12. Comparison of bacterial communities of study sites in the phylum/class level.

DS : Dongsuak ES : Eoseungsaeng GM : Geumoreum
 SR : Saraoreum MC : Mulchatoreum MJ : Muljangori
 MY : Mulyeongari SM : Semioreum WD : Wondangbong

조사지 9 곳에서 분리된 세균의 염기서열을 분석한 결과, 주요 분류군으로 *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Verrucomicrobia* 5개의 문이 확인되었으며, *Bacteroidetes* 문은 *Cytophagia*, *Flavobacteria*와 *Sphingobacteria* 강, *Proteobacteria* 문은 α -*Proteobacteria*, β -*Proteobacteria*와 γ -*Proteobacteria* 강이 나타났으며, *Actinobacteria* 문의 *Actinobacteria* 강, 그리고 *Firmicutes* 문의 *Bacilli* 강이 분류됨으로 5개의 문, 8개의 강의 세균이 분리되었다. 9곳의 조사지 중 어승생에서만 *Actinobacteria* 문이 약 70 %로 우세하게 나타나고 있다. 다른 지역과 확연히 구분이 되며, 이는 *Arthrobacter* 속의 세균이 다른 세균 보다 월등히 많이 나타나 우점하고 있었기 때문이다. 동수악과 물장오리 조사지에서는 다른 조사지에 비해 아주 적은 비율로 나타났다. *Proteobacteria* 문은 모두 그람음성균이며, 자색 광영양세균과 근연종이 포함되어 있으며 세균 중 가장 크며 생리적으로 가장 다양한 분류군이다. α , β , γ , δ 4개의 class로 분류되며, α -*Proteobacteria*의 유기영양성을 제외하면 모두는 유기영양 및 무기영양을 할 수 있는 그룹이다(Baik, 2006). β -*Proteobacteria* 강(Garrity et al. 2006)은 *Burkholderiales*, *Hydrogenophilales*, *Methylophilales*, *Neisseriales*, *Nitrosomonadales*, *Proteobacteriales* 및 *Rhodocyclales*의 7개 목과 이에 속한 13과 153속을 보유한 대규모의 분류군이다 (Euzéby 2011). 동수악, 사라오름, 물참오름. 물영아리가 β -*Proteobacteria* 강이 우세하게 나타났다. 어승생을 제외하고는 *Proteobacteria* 문이 우점하고 있는 것으로 나타났으며, 이는 *Proteobacteria* 문의 세균이 가장 많이 알려져 있고 가장 큰 분류군이기에 당연한 결과라고 생각된다. *Firmicutes* 문은 DNA G+C 비율이 낮은 *Clostridium*, 간균, 구균 등을 포함하는 분류군으로 조사지 전체에서 *Bacilli* 강만이 나타났으며 이는 간균을 나타내고 있다. *Verrucomicrobia* 문은 난 배양성 세균으로 아직까지 많이 알려져 있지 않은 분류군으로 본 연구에서 1개의 균주만이 나타났으며, 이 세균에 대한 더 많은 실험의 진행은 연구의 가치가 높다고 사료된다.

본 연구와 관련하여 한반도 내의 습지에 대한 세균 군집에 관한 연구와 제주도의 본 조사지 외에 습지의 세균 군집에 관한 연구를 알아보았다. 한반도 내의 습지 중 우포습지의 세균 군집에 관한 연구 결과가 발표되어 있고, 제주도 내는 숨은물뱅뒤 습지와 1100고지 습지를 조사한 연구 결과가 발표되어 있다(Baik,

2006; Choi, 2012). 관련 연구 결과에 따르면 우포 습지에서는 *Firmicutes* 문이 약 50 %로 우점을 하였고, *Actinobacteria* 문이 약 32 %로 많이 나타났다. 그 외 *Proteobacteria* 문이 약 14 %, *Bacteroidetes* 문이 약 4 %로 나타났으며, *Proteobacteria* 문에서 α -*Proteobacteria* 가 약 7 %, γ -*Proteobacteria*가 약 5 %, β -*Proteobacteria*가 약 2 %가 나타났다. 제주도의 화구호 습지에서는 전체적으로 *Proteobacteria* 문이 우세하게 나타난 결과를 통해서 한반도와 한반도에서 떨어져 있는 화산섬인 제주도와 환경적인 영향이 작용했다고 생각되어진다. 이에 제주도 내에서 화구호 습지와 산지습지의 세균군집 결과를 살펴보면, 숲은물뱅디 습지와 1100고지 습지에서는 4개의 문, 7개 강에서 분리되었다고 보고가 되었다. *Proteobacteria* 문에서는 α -*Proteobacteria*, β -*Proteobacteria*, γ -*Proteobacteria* 강이 나타났고, *Bacteroidetes* 문에서는 *Flavobacteria* 강, *Sphingobacteria* 강이 나타났으며, *Actinobacteria* 문의 *Actinobacteria* 강, *Firmicutes* 문에서 *Bacilli* 강이 나타났다. β -*Proteobacteria* 44 %, γ -*Proteobacteria* 29 %, *Bacteroidetes* 문 15 %, α -*Proteobacteria* 11 %, *Actinobacteria* 문 1 %, *Firmicutes* 문 1 % 미만 이라는 분포를 보였다. *Proteobacteria* 문이 우세하게 나타났고, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* 문 순으로 나타났다. *Proteobacteria* 문의 우세하게 나타난 것은 한반도 내의 우포 습지와 확연한 차이를 나타내고 있다. 화구호 습지와 달리 *Bacteroidetes* 문이 많이 나타난 것은 화구호 습지와 일반 산지습지의 차이점에서 찾아보아야 할 것이다. 한반도의 우포 습지, 제주도의 숲은물뱅디 습지, 1100고지 습지와 화구호 습지는 유사하면서도 다른 분류군을 나타내고 있다. 이는 우선 지리적, 환경적 요인이 작용한다고 보여진다. 이에 비배양성 세균의 분리에 대한 연구와 습지 내에서 계절별, 습지 내 지역별 등의 다양한 조건에서 진행한다면 습지에 존재하는 세균에 대해 좀 더 정확히 알 수 있을 것이다.

모든 습지가 생태적으로 매우 중요한 곳으로 알려져 있다. 특히 화구호 습지는 습지가 형성되기 어려운 조건을 지닌 곳에 형성된 특이한 환경을 가지고 있기에 지속적인 모니터링을 통하여 변화를 관찰하고 좀 더 활발한 기초적 학술연구를 진행해야 될 필요성이 있다고 보인다. 본 연구는 화구호 습지의 세균의 군집에 대한 기초자료를 제공하며, 앞으로 이와 관련하여 다양한 연구가 진행되기 바란다.

IV. 요약

본 연구는 제주도 내 9곳의 화구호 습지에서 배양 가능한 세균을 분리하고 16S rRNA 유전자를 PCR로 증폭하여 RFLP 유형분석과 염기서열 분석을 통해 화구호 습지의 세균군집을 분석하였다.

동수약에서는 160개의 집락이 분리되었고, 26개의 RFLP 유형으로 나누어졌으며 *Actinobacteria*, *Firmicutes*, *Proteobacteria*의 3개 문 (phylum)의 세균이 분포하였으며, *Proteobacteria* 문 중 β -*Proteobacteria* 강 (class)의 세균이 가장 많이 분리되었다. 어승생에서는 295개의 집락이 분리되었고, 11개의 RFLP 유형으로 나누어졌다. *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* 3개의 문을 확인 할 수 있었다. *Actinobacteria* 문이 약 70 %를 차지하였는데, *Arthrobacter* 속의 *Arthrobacter oryzae* 가 우점을 하고 있는 것으로 나타났다. 금오름에서는 92 개의 집락이 분리되었고, 23개의 RFLP 유형으로 나누어졌다. *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Proteobacteria* 3개의 문을 확인 할 수 있었다. α -*Proteobacteria*, β -*Proteobacteria*, *Actinobacteria*, γ -*Proteobacteria* 강 순으로 많이 나타났으며, *Bacteroidetes* 문의 *Sphingobacteria* 강이 약 1 %를 차지하였다. 사라오름은 209 개의 집락이 분리되었고, 26개의 RFLP 유형으로 나누어졌다. 이들은 4개 문, 3개 강으로 분류되었고, β -*Proteobacteria* 강 중에서 *Variovorax*, *Acidovorax*, 그리고 *Paracaligenes* 속이 가장 많이 차지하는 것으로 나타났다. 물чат오름에서는 675개의 집락이 분리되었고, 57개의 RFLP 유형으로 나누어졌다. 5개의 문에서 8 개의 강에 속하는 세균이 나타났으며, 9개 지역 중 가장 다양성이 높은 것으로 나타났다. *Proteobacteria* 문이 가장 많이 나타났으며, *Proteobacteria* 문 중에서 β -*Proteobacteria* 강이 많이 나타났다. β -*Proteobacteria*, *Actinobacteria*, α -*Proteobacteria*, γ -*Proteobacteria* 강, *Firmicutes* 문의 *Bacilli* 강, *Bacteroidetes* 문의 *Cytophagia* 강, *Sphingobacteria* 강, *Verrucomicrobia* 문의 *Verrucomicrobiae* 강 순으로 많이 나타났다. 물장오리는 174개의 집락이 분리되었고, 15개의 RFLP 유형으로 나누어졌다. *Proteobacteria* 문이 약 99 %를 차지하였고 *Actinobacteria* 문이 약 1 %를 차지하였다. *Proteobacteria* 문 중에서도

α-Proteobacteria 와 *β-Proteobacteria* 강만이 나타났다. 물영아리에서는 123개의 집락이 분리되었고, 28개 RFLP 유형으로 나누어졌다. *β-Proteobacteria* 강의 *Pelomonas*, *Herbaspirillum* 속이 가장 많이 분리가 되었다. *α-Proteobacteria* 강에서 *Rhizobium* 속이, *γ-Proteobacteria* 강에서는 *Pantoea* 속이 많이 나타났다. 그 외에 *Bacteroidetes* 문에서 *Flavobacteria*, *Sphingobacteria* 강의 세균이 분리되었고, *Firmicutes* 문에서 *Bacilli* 강의 세균이 나타났다. 새미오름에서는 215개의 집락이 분리되었고, 9개의 RFLP 유형으로 나누었다. *α-Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Flavobacteria* 강의 세균이 분리가 되었다. *α-Proteobacteria* 강에서 *Novosphingobium*, *Beijerinckia*, *Shinella* 속이 나타났으며, *Actinobacteria* 강에서 *Micrococcus*, *Micromonospora*, *Sporichthya*, *Arthrobacter* 속의 세균이 나타났고, *Bacteroidetes* 문의 *Flavobacteria* 강에서는 *Flavobacterium*이 분리되었다. 원당봉에서는 245개의 집락이 분리되었고, 33개의 RFLP 유형으로 나누어졌으며 4개의 문에서 6개의 강의 세균이 분리되었다. *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes* 문의 세균이 분리되었고, *Proteobacteria* 문에서 가장 많이 분리되었으며, *Actinobacteria* 문이 그 다음을 차지하였다. 강 수준에서 보면 *Actinobacteria*, *α-Proteobacteria*, *γ-Proteobacteria*, *β-Proteobacteria* 순으로 많이 분리가 되었다.

9곳의 화구호 습지에서 배양 가능한 세균을 분리한 결과 5개의 문, 8개의 강에서 다양한 세균이 분리되었다. 하지만 비배양성 세균의 분리에 대한 연구와 습지 내에서 계절별, 습지 내 지역별 등의 다양한 조건에서 조사한다면 화구호 습지에 존재하는 세균에 대해 좀 더 정확히 알 수 있을 것이다.

본 연구는 화구호 습지의 세균 군집에 대한 기초자료를 제공하며, 앞으로 이와 관련하여 다양한 연구가 진행되기를 바란다.

V. 참고 문헌

- Amann, R., Ludwig, W. and Schleifer, K. H. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol Rev* 59, 143-169.
- Baik, K. S. 2006. Prokaryotic diversity of woopo wetland estimated by phylogenetic analysis, A Ph. D. thesis Sunchon national university
- Carro, L., Rivas, R., León-Barrios, M., González-Tirante, M., Velázquez, E. and Valverde, A. 2012. *Herbaspirillum canariense* sp. nov., *Herbaspirillum aurantiacum* sp. nov. and *Herbaspirillum soli* sp. nov., isolated from volcanic mountain soil, and emended description of the genus *Herbaspirillum*. *Int J Syst Evol Microbiol*. June 2012 62:1300-1306
- Chen, W.-M., Cho, N.-T., Yang, S.-H., Arun, A. B., Young, C.-C. and Sheu, S.-Y. 2012. *Aquabacterium limnoticum* sp. nov., isolated from a freshwater spring. *Int J Syst Evol Microbiol*. March 2012 62:698-704
- Chittpurna, Pradip K. Singh, Verma, D., Pinnaka, A. K., Shanmugam Mayilraj, S. and Korpole, S. 2011. *Micrococcus lactis* sp. nov., isolated from dairy industry waste. *Int J Syst Evol Microbiol*. December 2011 61:2832-2836
- Choi, A., Choi, J., Kang, J. Y., Choe, J.-U., Lee, S., Kim, H., Yi, H., Shin, Y. M., Jahng, K., Lee, H. H., Kim, K., Joh, K., Chun, J., Kim, S. B., and Cho, J.-C. 2011. Novel Species Candidates Belonging to the Phyla *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, and *Actinobacteria* Isolated from the Halla

Mountain Wetlands. *Korean J. Environ. Biol.* 29 (3) : 126-137 (2011)

Choi, J.-H. 2012. Taxonomic diversity of heterotrophic bacteria isolated from the Halla Mountain Wetlands, A master's thesis Inha university

Choi, J.-H., Kim, M.-S., Roh, S. W. and Bae, J.-W. 2010. *Brevundimonas basaltis* sp. nov., isolated from black sand. *Int J Syst Evol Microbiol.* July 2010 60:1488-1492

Choi, J.-H., Kim, M.-S., Roh, S. W. and Bae, J.-W. 2010. *Acidovorax soli* sp. nov., isolated from landfill soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* December 2010 60:2715-2718

Dastager, S. D., Raziuddin, S., Deepa, C. K., Tang, S.-K., Li, W.-J. and Pandey, A. 2010. *Micrococcus niistensis* sp. nov., isolated from forest soil, India. *IJSEM* published ahead of print April 23, 2010, doi:10.1099/ijms.0.023382-0

Dastager, S. G., Lee, J.-C., Ju, Y.-J., Park, D.-J. and Kim, C.-J. 2009. *Leifsonia kribbensis* sp. nov., isolated from soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* January 2009 59:18-21

Dastager, S. G., Lee, J.-C., Ju, Y.-J., Park, D.-J. and Kim, C.-J. 2008. *Leifsonia bigeumensis* sp. nov., isolated from soil on Bigeum Island, Korea. *Int J Syst Evol Microbiol.* August 2008 58:1935-1938

Dedysh, S. N., Liesack, W., Khmelenina, V. N., Suzina, N. E., Trotsenko, Y. A., Semrau, J. D., Bares, A. M., Panikov, N. S. and James M. Tiedje, J. M. 2000. *Methylocella palustris* gen. nov., sp. nov., a new methane-oxidizing acidophilic bacterium from peat bogs, representing a novel subtype of

serine-pathway methanotrophs. *Int J Syst Evol Microbiol.* May 2000 50:955-69

Ding, L. and Yokota, A. 2004. Proposals of *Curvibacter gracilis* gen. nov., sp. nov. and *Herbaspirillum putei* sp. nov. for bacterial strains isolated from well water and reclassification of [*Pseudomonas*] *huttiensis*, [*Pseudomonas*] *lanceolata*, [*Aquaspirillum*] *delicatum* and [*Aquaspirillum*] *autotrophicum* as *Herbaspirillum huttiense* comb. nov., *Curvibacter lanceolatus* comb. nov., *Curvibacter delicatus* comb. nov. and *Herbaspirillum autotrophicum* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* DOI 0.1099/ijs.0.02975-0.

Dobson, M., Frid, C. 2008, Ecology of Aquatic Systems. 2nd ed. Oxford university Press Inc., pp. 282.

Euzéby JP. 2011. List of Prokaryotic Names with Standing in Nomenclature, as of April 2011 (www.bacterio.net).

Ganzert, L., Bajerski, F., Mangelsdorf, K., Lipski, A. and Wagner, D. 2011. *Arthrobacter livingstonensis* sp. nov. and *Arthrobacter cryotolerans* sp. nov., salt-tolerant and psychrotolerant species from Antarctic soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* April 2011 61:979-984

Gomila, M., Bowien, B., Falsen, E., Edward, R. B. M. and Jorge, L. 2007. Description of *Pelomonas aquatica* sp. nov. and *Pelomonas puraquae* sp. nov., isolated from industrial and haemodialysis water. *Int J Syst Evol Microbiol.* November 2007 57:2629-2635

Goodfellow, M. & T. Cross, T. 1984. The biology of actinomycetes. pp.7-164. (ed. Goodfellow M.), Academic press, London

- Guschin, D. Y., Mobarry, B. K., Proudnikov, D., Stahl, D. A., Rittmann, B. E. & Mirzabekov, A. D. (1997). Oligonucleotide microchips as genosensors for determinative and environmental studies in microbiology. *Appl Environ Microbiol* 63, 2397-2402.
- Holben, W. E. & Harris, D. 1995. DNA-based monitoring of total bacterial community structure in environmental samples. *Mol Ecol* 4, 627-631.
- Hoppe. H. G. 1983. Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water; measurements by means of methylumbelliferyl substrates. *Mar Ecol Prog Ser* 11,299-308
- Jakob, P., Glockner, F. O., Unterholzner, S., Alfreider, A., Psenner, r. & Amann, R. 1998. Seasonal community and population dynamics of pelagic bacteria and archaea in high mountain lake. *Appl Environ microbiol* 64:4299-4306
- Jeong. S. 2011. Characteristics of the Aquatic Insect Communities in the Wetlands of Jeju Island: Distribution and Species Diversity along the Altitudinal Gradient. A Ph. D. thesis Jeju national university
- Jiang, F., Li, W., Xiao, M., Dai, J., Kan, W., Chen, L., Li, W., Fang, C., and Peng, F. 2012. *Luteolibacter luojiensis* sp. nov., isolated from Arctic tundra soil, and emended description of the genus *Luteolibacter*. *Int J Syst Evol Microbiol*. September 2012 62:2259-2263
- Jin, L., Kim, K. K., Ahn, C.-Y. and Oh, H.-M. 2012. *Variovorax defluvi* sp. nov., isolated from sewage. *Int J Syst Evol Microbiol*. August 2012 62:1779-1783

- Jukes, T. H. & Cantor, C. R. 1969. Evolution of protein molecules. In *Mammalian protein metabolism*, pp.21-133. Edited by H. N. Munro. New York: Academic Press.
- Kageyama, A., Morisaki, K., Ōmura, S., and Takahashi, Y. 2008. *Arthrobacter oryzae* sp. nov. and *Arthrobacter humicola* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* January 2008 58:53-56
- Kalmbach, S., Manz, W., Wecke, J. and Szewzyk, U. 1999. *Aquabacterium* gen. nov., with description of *Aquabacterium citratiphilum* sp. nov., *Aquabacterium parvum* sp. nov. and *Aquabacterium commune* sp. nov., three in situ dominant bacterial species from the Berlin drinking water system. *Int J Syst Bacteriol.* April 1999 49:769-777
- Kang, S.-J., Choi, N.-S., Choi, J.-H., Lee, J.-S., Yoon, J.-H. and Song, J. J. 2009. *Brevundimonas naejangsanensis* sp. nov., a proteolytic bacterium isolated from soil, and reclassification of *Mycoplana bullata* into the genus *Brevundimonas* as *Brevundimonas bullata* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* December 2009 59:3155-3160
- Katsuhiko, F., Masataka, S., Naoki M., Taizo, M., Tadaharu, T. and Shintaro, K. 2003. *Novosphingobium tardaugens* sp. nov., an oestradiol-degrading bacterium isolated from activated sludge of a sewage treatment plant in Tokyo. *Int J Syst Evol Microbiol.* January 2003 53:47-52
- Kim, B.-Y., Weon, H.-Y., Yoo, S.-H., Lee, S.-Y. Kwon, S.-W., Go, S.-J., and Erko, S. 2006. *Variovorax soli* sp. nov., isolated from greenhouse soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* December 2006 56:2899-2901

- Kim, E.-H., Lee, H.-W., Lee, S.-M., 2001. Freshwater algal flora and environmental factor at crater of Cheju parasite volcano(1). Environmental Research Institute, Kyungnam Univ. Vol. 24 : 5-22.
- Kim H., K., Liesbeth, L., and Paul, D. V. 2008. *Acidovorax caeni* sp. nov., a denitrifying species with genetically diverse isolates from activated sludge. *Int J Syst Evol Microbiol.* January 2008 58:73-77
- Kim, K. K., Lee, K. C., Oh, H.-M., Kim, M. J., Eom, M. K. and Lee, J.-S. 2008. *Arthrobacter defluwii* sp. nov., 4-chlorophenol-degrading bacteria isolated from sewage. *Int J Syst Evol Microbiol.* August 2008 58:1916-1921
- Kim, T. 2011. Journal of the Korean geomorphological association. Vol. 18. No.4:79-96
- L. E. CASIDA, JR. 1982. *Ensifer adhaerens* gen. nov., sp. nov.: A Bacterial Predator of Bacteria in Soil. *Int J Syst Bacteriol.* July 1982 32:339-345
- Lee, S. D. and Lee, D. W. 2007. *Lapillicoccus jejuensis* gen. nov., sp. nov., a novel actinobacterium of the family Intrasporangiaceae, isolated from stone. *Int J Syst Evol Microbiol.* December 2007 57:2794-2798
- Lin, S.-Y., Shen, F.-T., Lai, W.-A., Zhu, Z.-L., Chen, W.-M., Chou, J.-H., Lin, Z.-Y. and Young, C.-C. 2011. *Sphingomonas formosensis* sp. nov., a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from agricultural soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* July 2012 2:1581-1586
- Liu, X. Y., Wang, B.-J., Jiang, C.-Y. and Liu, S.-J. 2007. *Micrococcus flavus* sp. nov., isolated from activated sludge in a bioreactor. *Int J Syst Evol*

Microbiol. January 2007 57:66–69

- Li, Q. Q., Wang, E. T., Chang, Y. L., Zhang, Y. Z., Zhang, Y. M., Sui, X. H., Chen, W. F. and Wen Xin Chen, W. X. 2011. *Ensifer sojae* sp. nov., isolated from root nodules of *Glycine max* grown in saline-alkaline soils. *Int J Syst Evol Microbiol.* August 2011 61:1981–1988
- Madhaiyan, M., Poonguzhali, S., Lee, J.-S., Senthilkumar, M., Lee, K. C. and Sundaram, S. 2010. *Leifsonia soli* sp. nov., a yellow-pigmented actinobacterium isolated from teak rhizosphere soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* June 2010 60:1322–1327
- Margesin, R., Schumann, P., Zhang, D.-C., Redzic, M., Zhou, Y.-G., Liu, H.-C. and Schinner, F. 2012. *Arthrobacter cryoconiti* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from alpine glacier cryoconite. *Int J Syst Evol Microbiol.* February 2012 62:397–402
- Margesin, R., Zhang, D.-C., and Busse, H.-J. 2012. *Sphingomonas alpina* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from alpine soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* July 2012 62:1558–1563
- Mitsch, W. J. and Gosselink, j. G. 1993. *Wetlands*, 2nd ed. John Wiley & Sons, Inc., New York.
- Miwa, H., Ahmed, I., Yoon, J., Yokota, A., andFujiwara, T. *Variovorax boronicumulans* sp. nov., a boron-accumulating bacterium isolated from soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* January 2008 58:286–289
- Park, J., Baek, G. S., Woo, S.-G., Lee, J., Yang, J. and Lee, J. 2012. *Luteolibacter*

yonseiensis sp. nov., isolated from activated sludge using algal metabolites.
Int J Syst Evol Microbiol. ijs.0.046664-0

Park, Y-D., Yi, H., Baik, K. S., Seong, C. N., Bae, K. S., Moon, E. Y. and Chun, J.
2006. *Pseudomonas segetis* sp. nov., isolated from soil *Int J Syst Evol
Microbiol.* November 2006 56:2593-2595

Pindi, P. K., Kishore, K. H., Reddy, G. S. N. and Shivaji, S. 2009. Description
of *Leifsonia kafniensis* sp. nov. and *Leifsonia antarctica* sp. nov. *Int J Syst
Evol Microbiol.* June 2009 59:1348-1352

Qiu, F., Huang, Y., Sun, L., Zhang, X., Liu, Z., and Song, W. 2007. *Leifsonia
ginsengi* sp. nov., isolated from ginseng root. *Int J Syst Evol Microbiol.*
February 2007 57:405-408

Reddy, G. S. N., Prabakaran, S. R. and Shivaji, S. 2008. *Leifsonia pindariensis* sp.
nov., isolated from the Pindari glacier of the Indian Himalayas, and emended
description of the genus *Leifsonia*. *Int J Syst Evol Microbiol.* September 2008
58:2229-2234

Reis, V. M., Estrada-de los Santos, P., Tenorio-Salgado, S., Vogel, J., Stoffels,
M., Guyon, S., Mavingui, P., Baldani, V. L. D., Schmid, M., Baldani,
J. I. J., Balandreau, Hartmann, A. and Caballero-Mellado, J. 2004.
Burkholderia tropica sp. nov., a novel nitrogen-fixing, plant-associated
bacterium. *Int J Syst Evol Microbiol.* 54, 2155-2162

Reddy, G. S., Aggarwal, R. K., Matsumoto, G. I. and Shivaji, S. 2000. *Arthrobacter
flavus* sp. nov., a psychrophilic bacterium isolated from a pond in McMurdo
Dry Valley, Antarctica. *Int J Syst Evol Microbiol.* July 2000 50:1553-61

- Saitou, N. & Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4:406-425
- Saxena, A., Anand, S., Dua, A., Sangwan, N., han, F., and Lal. R. 2012. *Novosphingobium lindaniclasticum* sp. nov., a hexachlorocyclohexane (HCH) -degrading bacterium isolated from HCH Dumpsite. *Int J Syst Evol Microbiol.* ijs.0.045443-0
- Shin, Y. M., Y. M., Kim, T.-U., Choi, A., Chun, J., Lee, S., Kim, H., Yi, H., Jo, J. H., Cho, J.-C., Jahng, K., Kim, K., Joh, K., Chun, J., Lee H. H. and Kim, S. B. 2011. Species Diversity of *Betaproteobacteria* in the Sumunmulbengdui Wetland Area of Jeju Island and Distribution of Novel Taxa. *Korean J. Environ. Biol.* 29 (3) : 154~161 (2011)
- Sohn, J. H., Kwon, K. K., Kang, J.-H., Jung, H.-B., and Kim, S.-J. 2004. *Novosphingobium pentaromativorans* sp. nov., a high-molecular-mass polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading bacterium isolated from estuarine sediment. *Int J Syst Evol Microbiol.* September 2004 54:1483-1487
- Song, J. and Cho, J.-C. 2007. *Methylibium aquaticum* sp. nov., a betaproteobacterium isolated from a eutrophic freshwater pond. *Int J Syst Evol Microbiol.* September 2007 57:2125-2128
- Torsvik, V. and Øvreå, L. (2002). Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Curr Opin Microbiol* 5, 240-245.
- Wartiainen, I., Hestnes, A. G., McDonald, I. R., and Mette M. S. 2006. *Methylocystis rosea* sp. nov., a novel methanotrophic bacterium from Arctic wetland soil,

- Svalbard, Norway (78° N). *Int J Syst Evol Microbiol.* March 2006 56:541-547
- Weisse, T. (1992). The microbial food web and its sensitivity to eutrophication and contaminant enrichment; a cross-system overview. *Int Revue ges Hydrobiol* 76, 327-337.
- Woo, S.-G., Srinivasan, S., Yang, J., Jung, Y.-A., Kim, M. K. and Lee, M. 2012. *Nocardioides daejeonensis* sp. nov., a denitrifying bacterium isolated from sludge in a sewage-disposal plant. *Int J Syst Evol Microbiol.* May 2012 62:1199-1203
- Yoon, M.-H., Leonid N. T., Im, W.-T. and Lee, S.-T. 2007. *Methylibium fulvum* sp. nov., a member of the Betaproteobacteria isolated from ginseng field soil, and emended description of the genus *Methylibium*. *Int J Syst Evol Microbiol.* September 2007 57:2062-2066
- Yoon, J.-H., Kang, S.-J., Lee, J.-S., Oh, H. W. and Oh, T.-K. 2007. *Brevundimonas lenta* sp. nov., isolated from soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* October 2007 57:2236-2240
- Yoon, J.-H., Kang, S.-J. and Oh, T.-K. 2006. *Variovorax dokdonensis* sp. nov., isolated from soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* April 2006 56:811-814
- Zhang, J., Ma, Y. and Yu, H. 2012. *Arthrobacter cupressi* sp. nov., an actinomycete isolated from the rhizosphere soil of Cupressus sempervirens. *Int J Syst Evol Microbiol.* November 2012 62:2731-2736
- Zhang, J.-Y., Liu, X.-Y. and Liu, S.-J. 2010. *Sphingomonas changbaiensis* sp. nov., isolated from forest soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* April 2010

60:790-795

Zhang, Y. M., Li, Y., Chen, W. F., Wang, E. T., Sui, X. H., Li, Q. Q., Zhang, Y. Z., Zhou, Y. G. and Chen, W. X. 2012. *Bradyrhizobium huanghuaihaiense* sp. nov., an effective symbiotic bacterium isolated from soybean (*Glycine max* L.) nodules. *Int J Syst Evol Microbiol.* August 2012 62:1951-1957

감사의 글

긴 대학원 생활을 거치며 부족하나마 이 논문을 완성하게 되었습니다. 지난 4년여의 대학원 생활하는 동안 다양한 경험과 그 동안 접해보지 못하였던 새로운 것을 배울 수 있는 시기였으며, 앞으로 제 인생에 많은 도움을 주리라 생각을 해봅니다. 이러한 대학원 생활은 주위의 많은 분들이 도와주셨기에 가능하였습니다. 그러하기에 일일이 찾아뵈어 감사의 인사를 전하지 못하는 대신 지면으로나마 감사하다는 말씀을 올리고 싶습니다.

먼저 못난 자식을 위해 항상 믿어주시고, 챙겨주시는 부모님께 잘 못해드려 죄송하다는 마음과 감사의 마음을 전하고 싶습니다. 그리고 많이 부족한 저를 지도하시어 지금까지 이끌어 주신 오덕철 교수님께 존경과 감사의 마음을 표하며, 항상 건강하시길 바랍니다. 또한 항상 많은 지식과 가르침을 주시고 바쁜 시간을 쪼개어 미흡한 논문을 지적해주시고 다듬어 주신 고석착 교수님과 이선령 교수님께도 감사의 인사를 올립니다. 학부생 때부터 지금까지 학문을 지도해주시며 과학의 길로 인도해주신 퇴임하신 오문유 교수님, 이용필 교수님, 김원택 교수님과 현직에 계신 김문홍 교수님, 이화자 교수님, 김세재 교수님, 김명숙 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

저에게 관심과 조언으로 많은 도움을 주시며 이끌어 주신 이동헌 선생님과 윤병준 선생님께 감사의 마음을 전합니다. 그리고 뒤에서 항상 챙겨주시는 지영이 누나에게 감사의 말을 전합니다. 같은 곳에 같이 들어와서 같이 나가게 되는 한수에게 고맙고 고생했다 라는 말을 전하고 싶습니다. 실험실에서 많이 도와 준 웅이, 아라, 주혜, 나래, 동환이, 가영이, 지현이 에게도 고맙다는 말을 전합니다.

생물학과에서 있으면서 항상 도움을 주신 생태학실험실의 송관필 박사님, 문명옥 선생님, 현화자 선생님, 송국만 형님, 창훈이형, 은영이, 이제 없어진 우리 실험실 옆 방의 형식이형, 경식이형, 성운이형, 가은이, 생화학실험실에 오순자 선생님, 송순영 누님, 세영이, 분자생물학실험실에 정형복 형님, 성일이형, 준호형, 혜선이, 해산식물분류실험실의 강정찬 형님, 형우형, 은규를 비롯하여, 생물학과에서 학부를 같이 다니며 챙겨주신 98학번의 창하형, 상혁이형, 정진이형, 혁용이형, 재용이형, 철훈이형, 민수형, 봉근이형, 경환이형, 요셉이형, 99학번의 경수형, 선우형, 재용이형, 형건이형, 창엽이형, 철호형 그리고 항상 믿고 도와주는 병현이, 현재, 용균이, 영환이, 양석, 철호, 동언이, 현민이, 재영이,

태혁이, 재성이, 종현이와 아이들과, 지혜, 미래, 슬아, 그리고 승익이, 근혁이, 민석이, 우철이, 명석이, 동환이, 진송이, 심숙이 등 00학번 동기와 졸업 동기에게도 감사의 뜻을 전하며 이외에도 지면 관계상 다 열거하지 못하였지만 많은 선배님과 후배에게 감사의 마음을 전합니다.

제주 바이오산업의 발전을 위해 불철주야 뛰어다니며 노력하시는 제주테크노파크 바이오융합센터 김성규 센터장님과, 김기옥 단장님, 김병호 단장님, 윤성식 부장님과 산학협력부의 김영주 박사님, 박지권 박사님, 한종현 선생님, 저를 항상 밤낮으로 이끌어 주시는 민철이형, 현지영 선생님, 석영이, 종석이, 제품개발부에 김봉석 선생님, 전남근 선생님, 강동조 선생님, 박세철 선생님, 오종국 선생님, 광효형, 상훈이형, 효준이와 코스메틱클러스터 사업단의 고광희 박사님, 강충희 선생님, 형중이형, 사돈이 될 호경이형, 경훈이, 용암해수사업단의 나오수 팀장님, 기주형, 이 논문을 위해 많은 도움을 준 원형이형, 진석이형, 희곤이형, 이현정 선생님에게도 감사의 마음을 전하며, 연구소로 떠난 경후형께 깊은 감사의 마음을 전합니다. 또한 종다양성연구소에서 소장님으로 계시며, 항상 바쁘지만 시간을 쪼개어 후배들을 걱정하시며 챙겨 주시는 정용한 소장님께도 감사의 마음을 전합니다.

논문 준비와 일이라는 핑계로 자주 만나지도 못했던 친구들 우찬이, 승익이, 근혁이, 창근이, 강진이, 진우, 원혁이, 현수, 제환이형, 영관이, 종훈이, 용주, 상협이, 봉규, 승협이, 승만이, 경림이, 혜영이, 지연이에게 고맙다는 말을 전합니다.

이제 곧 평생 반려자가 될 사랑하는 명지에게 고맙다는 말과 사랑한다는 말을 전하고 싶습니다. 그리고 명지의 부모님과 언니, 형부에게도 항상 고맙다는 말을 전합니다.

감사의 글에 다 표현 못한 분들이 많습니다. 지면상 다 나열하지 못하여 죄송한 마음이 듭니다. 이 글을 쓰며 많은 분들에게 직·간접적으로 도움을 받고 있다고 느낄 수 있었습니다. 항상 감사하며, 저는 더욱 더 노력하여 많은 사람의 본보기가 될 수 있도록 노력하겠습니다.

항상 감사드립니다. 건강하시고 행복하시길 바랍니다.

변후돈 올림