

## 제주도 연안 해역의 오염지표세균의 분포

노형진 · 임윤진 · 김아란 · 김남은 · 김영재<sup>1</sup> · 박노백<sup>2</sup> · 황지연<sup>3</sup> · 권문경<sup>3</sup> · 김도형\*

부경대학교 수산생명의학과, <sup>1</sup>한국수산방역기술, <sup>2</sup>국립수산과학원 양식관리과, <sup>3</sup>국립수산과학원 방역과

## Distribution of Indicator Bacteria in Seawater off the Coast of Jeju Island

Heyong Jin Roh, Yun-Jin Lim, Ahran Kim, Nam Eun Kim, Youngjae Kim<sup>1</sup>, Noh Back Park<sup>2</sup>,  
Jee-Youn Hwang<sup>3</sup>, Mun-Gyeong Kwon<sup>3</sup> and Do-Hyung Kim\*

Department of Aquatic Life Medicine, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

<sup>1</sup>Korea Aquatic Biosecurity Technology (KABT), Busan 48564, Korea

<sup>2</sup>Aquaculture Management Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Korea

<sup>3</sup>Aquatic Life Disease Control Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Korea

We examined correlations of the density of fish farms with the distributions of indicator bacteria (*Escherichia coli*, fecal *streptococci*) and a bacterial fish pathogen (*Streptococcus parauberis*) off the coastline of Jeju Island. Seawater samples were collected at four coastal sites on the Island [Aewol (control), Gujwa, Pyoseon and Daejeong] in June, August and October 2016. The indicator bacteria were generally more frequently isolated from samples taken in August when water temperatures and human activities on nearby beaches were highest. Although fish farms were least common at Daejeong, the numbers of isolated fecal indicator bacteria were highest in the seawater and effluent water collected from this site. Hence, fish farms were not likely major contributors of indicator bacteria at Daejeong. We found discrepancies between the isolated bacterial counts and the predicted bacterial copy numbers deduced from our qPCR results, indicating that this pathogen may exist in a viable but non-culturable (VBNC) state in seawater. Thus, livestock wastewater and chemical fertilizer loading off Jeju Island may negatively impact seawater quality more than the effluent released from fish farms does.

Key words: Indicator bacteria, *Streptococcus parauberis*, Fish farm, Jeju Island, Seawater quality

## 서론

육상에서 유입되는 생활 및 축·수산 오폐수는 연안 해역의 주요한 오염원 중 하나이다(Park et al., 2013). 주로 해안가에 위치한 육상양식장으로부터 배출되는 사료찌꺼기와 수산생물의 배설물도 연안 환경의 오염에 영향을 미칠 것으로 예상되지만(Koh et al., 2013), 아직까지 양식장의 존재와 그 주변 해역의 오염 정도 간의 상관관계에 관한 연구는 매우 미미한 실정이다. 이전 연구는 대부분 대장균군, 분변계 대장균 및 비브리오 등을 검출하여 연안 해수의 세균학적 오염 정도를 분석하였으나 양식장의 분포와 연안해수의 오염과의 상관관계에 대한 연구는 많이 이루어지지 않았다(Son et al., 2005; Moon et al., 2006; Park et al., 2015). 양식장으로부터 배출되는 유기물질이 주변 해역의 오염에 미치는 영향과 양식생물의 감염성 질병의 발생

과 확산에 미칠 수 있는 영향에 대한 이해는 향후 역학적 측면과 수질 관리 측면에서 중요하다. 본 연구에서는 제주도의 넓치양식장 주변의 해수로부터 오염지표세균(대장균과 분변계 구균)과 분변계 구균에는 포함되지 않는 넓치 연쇄구균의 주 원인체인 *Streptococcus parauberis*를 분석하여 오염 정도를 파악하고 그것과 양식장 밀집도 간의 상관관계를 이해하고자 하였다.

## 재료 및 방법

이 연구에서는 양식장 밀집지역인 구좌읍, 표선면, 대정읍과 양식장이 없는 애월읍을 대조구로 선정하여 주변 해역에서 해수를 채취하였다. 대조구인 애월읍의 경우 연안에서 1 m, 100 m, 200 m 떨어진 지점에서, 양식장 밀집지역인 구좌읍, 표선면,

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0450>



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

Korean J Fish Aquat Sci 51(4) 450-455, August 2018

Received 18 May 2018; Revised 11 June 2018; Accepted 10 July 2018

\*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5945 Fax: +82. 51. 629. 5938

E-mail address: dhkim@pknu.ac.kr

대정읍의 경우 양식장에서 나오는 배출수(effluents)와 양식장에서 100 m, 200 m 떨어진 지점에서 시료를 채취했다. 각 지역별 샘플링 지점의 위치와 개수에 관한 정보는 Fig. 1에 나타내었다. 해수는 4.2 L 용량의 아크릴 채수기(WCO, USA)를 이용하였으며, 시료는 4L 일회용 무균 채수병에 담은 뒤 4℃에 보관하여 실험실까지 운반하였다. 해수의 수온과 용존산소량(DO, dissolved oxygen)은 휴대용 DO미터(Oxyguard, MYUNG-SUN Co. Ltd., Korea)를 이용하여 측정하였으며, 매년 같은 장소(GPS 좌표 활용)에서 총 3회(6, 8, 10월)에서 샘플링을 수행하였다(Fig. 1).

해수 중에 존재할 수 있는 오염지표세균과 *S. parauberis*를 검출하기 위해 3 L의 해수를 기존 방법(Oh et al., 2000; Jee et al., 2013; Kim et al., 2015)에 따라 농축시켰다. 간략히 설명하면, 70 µm의 plankton net으로 부유물질을 제거한 뒤 GF/C glass microfiber filter (pore size-1.2µm; Whatman plc, Buckinghamshire, UK)에 걸러진 미생물을 elution하기 위해 필터를 PBS (phosphate buffed saline; pH 7.2-7.4)에 3분 간 방치한 후 피펫팅으로 현탁한 후 4℃에서 원심분리(3,000 rpm, 20분)하였다. 이후, 상층액을 제거한 뒤, 1 mL의 PBS로 펠릿을 부유시켰다. 해수에 존재하는 분변계 구균과 연쇄구균을 정량하기 위해 각각 m-Enterococcus agar (ME) 및 de Man, Rogosa and

Sharpe (MRS) 배지에 현탁액을 100 µL를 도말 한 후 28℃에서 24-48 시간 동안 배양하였다. MRS에 자란 세균은 *S. parauberis* 특이 primer (Forward: 5'-TTT CGT CTG AGG CAA TGT TG-3'; Reverse: 5'-GCT TCA TAT ATC GCT ATA CT-3') (Mata et al., 2004)를 이용하여 종을 확인하였다. *Escherichia coli*의 선택적 배양을 위해 *E. coli*/ coliform count plate (3M petrifilm, 3M company, Minnesota, USA)를 제조사의 권장법에 따라 도말 한 후 35℃에서 24-48시간 동안 배양하였다. 농축된 해수(200 µL)에서 AccuPrep® Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer, Daejeong, Korea)를 이용하여 DNA를 추출하였다. *S. parauberis*의 정량은 Nguyen et al. (2016)가 제시한 방법에 따라 2 µL의 DNA와 forward primer (gyrB 25: 5'-GGG CTC CAT GGT GTT GGA TC-3')와 reverse primer (gyrB 182: 5'-GTT GTT CCT GTT AAA TCC GTT TCT C-3') 및 TaqMan probe (FAM/- AGA TGT TCG TGT CTT CAA AAA TGG TAG CA-/3-IWABL/)를 이용하여 *S. parauberis*의 copy number를 구하였다.

결과 및 고찰

본 연구에서는 GF/C filter을 이용하여 많은 양의 해수를 농축

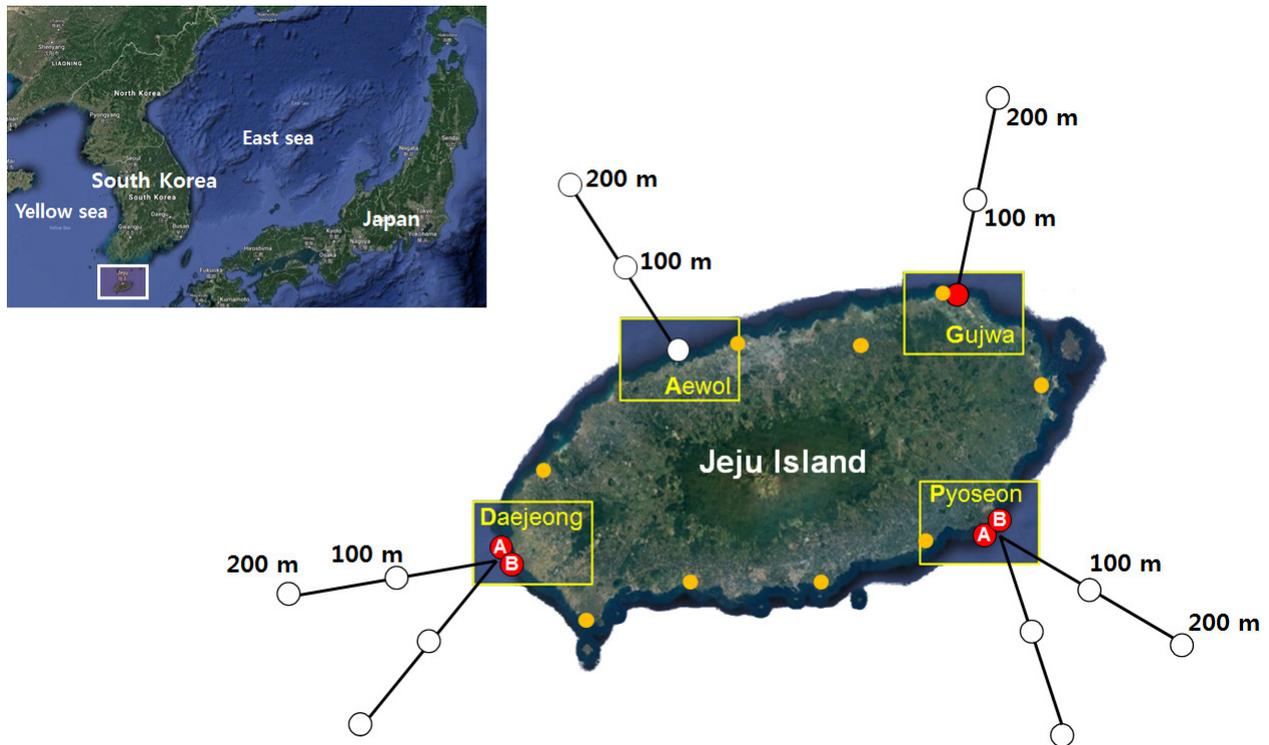


Fig. 1. Sampling locations (white and red circles) used in this study. Note that six and three locations for Daejeong and Pyoseon and for Gujwa and Aewol (control), respectively. Red circles indicate the effluent sample released from a land based olive flounder farm. Orange circles indicate the location of the sewage treatment plant in Jeju Island.

하여 여러 종류의 세균분포를 확인하는 방법을 사용하였다. 하지만 본 연구에서 사용한 GF/C filter의 경우 particle attached bacteria를 농축하기에는 적합한 방법이지만 해수 내에 free living bacteria까지 농축을 하는데 있어서는 한계가 있는 방법으로 알려져 있다(Moeseneder et al., 2001). 이 때문에 본 연구에서 제시하는 결과가 실제 해수의 세균 농도를 정확하게 반영하지 않을 수 있다는 단점이 있지만 제주지역의 전체적인 오염지표세균의 경향과 농도, 세균 DNA를 추출하기에는 매우 용이한 방법이라 판단되어 본 연구에서는 GF/C filter를 이용한 방법으로 세균을 농축하여 실험을 진행하였다.

이번 연구에서 채취한 샘플의 수질 측정 결과는 Table 1에 나타내었다. 6월말과 10월말에 샘플링 되었던 해수의 수온 범위는 19-22℃였으며, 8월말에는 그 범위가 21-28℃로 가장 높았다. 용존산소량은 6월에 채취한 해수에서 가장 높게 나타났으며, 8월에 채취된 애월지역의 해수 용존산소량은 타 지역대비 평균 약 2 ppm이 낮았다.

일반적으로 오염도를 평가하는데 있어서 병원성미생물을 개별적으로 검사하는 것은 기술적인 한계가 존재하기 때문에 병원성미생물과 공존가능성이 높고 검출이 쉬우며 구별이 용이한 지표미생물을 검사함으로써 식품 및 환경의 위생 안전성을 판단한다(Kim et al., 2008; 2009; Hong et al., 2012). 본 연구에서 분변계 대장균(*E. coli*)의 농도는 대조구인 애월의 해수(0-17 CFU 100 mL<sup>-1</sup>)에 비해 대정, 구좌 및 표선의 해수에서 더 높았다. 분변계 구균은 대정의 해수에서 가장 많이 분리되었으며 연안에서 멀어질수록 그 수가 감소하는 것을 확인할 수 있다. 본 연구에서 확인된 *E. coli*의 수를 정착성 수산동식물 생산해역

의 등급 설정 기준(해양수산부고시 제 2013-154호)에 적용해 보면, 애월 지역에서 채취된 모든 해수 샘플은 샘플링 시기와 관계없이 “청정해역” (분변계 대장균 수의 최확수 중앙값 또는 기하학적 평균치가 14 CFU 100 mL<sup>-1</sup>이며 43 CFU 100 mL<sup>-1</sup>를 초과하는 시료가 10% 미만인 해역)으로 분류되었다. 반면 대정지역에서 8월과 10월에 채취된 해수 샘플은 각각 “관리해역” [준청정해역의 기준을 초과하고 분변계 대장균 수의 최확수 (MPN, most probable number) 중앙값 또는 기하학적 평균치가 88 CFU 100 mL<sup>-1</sup>를 초과하지 않아야 하며 260 CFU 100 mL<sup>-1</sup>을 초과하는 시료의 수가 10% 미만인 해역]과 “준청정해역” [분변계 대장균 수의 최확수(MPN) 중앙값 또는 기하학적 평균치가 14 CFU 100 mL<sup>-1</sup>이며 43 CFU 100 mL<sup>-1</sup>를 초과하는 시료가 15% 미만인 해역]으로 분류되었다. 그러나 구좌지역에서 10월에 채취된 해수는 준청정해역에 속하였고, 표선지역의 해수는 8월(준청정해역으로 분류)을 제외한 모든 해수 샘플은 청정해역으로 분류되는 것으로 나타났다(Fig. 2).

이번 연구 결과에서 도출된 오염지표세균의 분포가 제주도에 존재하는 하수종말처리장의 위치와의 연관성이 있는지 분석하고자 하였다. 그러나 거의 모든 시설이 해안에 인접한 지역에 비교적 고르게 분포하고 있어 단순히 처리장의 존재 유무나 그 수에 의한 차이에 따른 해수의 오염도를 추정하는 것은 적절하지 못하다고 판단하였다(Fig. 1.). 또한 각 하수처리장 마다 일일 처리량이 상이 할 수 있으며 인근의 인구밀도와 축산 시설 등의 오염원 배출 시설의 밀집도 등이 오염 정도를 좌우할 가능성이 크므로 향후 이에 관한 조사가 이뤄져야 할 것으로 사료된다. 따라서 오염지표세균의 양에 영향을 미칠 수 있다고 생각되는

Table 1. Sampling locations, water depth, water temperature and dissolved oxygen (DO) level in sea water

		1 <sup>st</sup> sampling (6/21-7/06)			2 <sup>nd</sup> sampling (8/29-9/01)			3 <sup>rd</sup> sampling (10/25-10/26)		
Aewol (Control)	Distance (M)	1	100	200	1	100	200	1	100	200
	Depth (M)	~1	3.9/5.9	10.4/14.8	~1	3.9/5.9	10.4/14.8	~1	8.3	14.8
	Temperature (°C)	21	20	20	26	26	26	21	22	22
	DO (ppm)	8.7	9.2	9.6	6.3	6.5	7.2	8.1	8.5	8.4
Gujwa	Distance (M)	Effluents	100	200	Effluents	100	200	Effluents	100	200
	Depth (M)	NA	3.3/5	3.2/4.4	NA	3.3/5	3.2/4.4	NA	2.4	3.8
	Temperature (°C)	19	20	19	21	22	24	19	20	21
	DO (ppm)	7.9	8.9	10.5	8.1	8.4	8.5	8	8.8	8.2
Pyoseon	Distance (M)	Effluents	100	200	Effluents	100	200	Effluents	100	200
	Depth (M)	NA	3.0/4.5	6.0/8.0	NA	3.0/4.5	6.0/8.0	NA	1.6	3.5
	Temperature (°C)	21	20	19	21	28	27	20	20	21
	DO (ppm)	10.2	10.6	10.7	8.2	8.4	7.9	8.3	7.7	8.4
Daejeong	Distance (M)	Effluents	100	200	Effluents	100	200	Effluents	100	200
	Depth (M)	NA	6.4/9.4	16.2/22.4	NA	6.4/9.4	16.2/22.4	NA	4.1	7.8
	Temperature (°C)	22	21	21	21	22	22	22	21	21
	DO (ppm)	10.1	8.5	8.7	8.6	8.3	8.2	8	8.3	8.4

NA, not applicable.

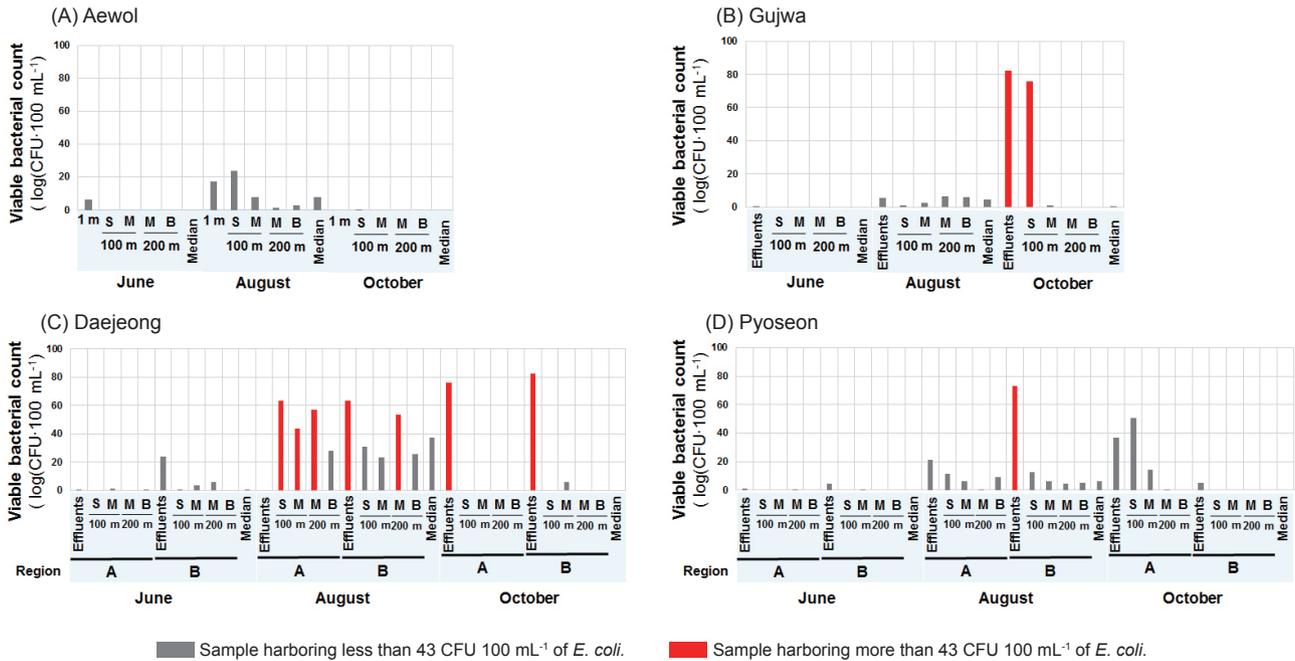


Fig. 2. *Escherichia coli* counts and their median values in seawater sampled in Aewol (A), Gujwa (B), Daejeong (C) and Pyoseon (D). S, M and B indicate surface, middle and bottom water, respectively. Red bars indicate samples harboring more than 43 CFU 100 mL<sup>-1</sup> of *E. coli* and grey bars indicate samples harboring less than 43 CFU 100 mL<sup>-1</sup>.

수산생물 양식장의 분포와 크기를 2016년 제주도에서 조사한 양식어업 현황(<https://www.jeju.go.kr/open/open/iopenboard.htm?category=1113>) 자료를 이용하여 육상 넙치양식장의 수면적을 도출하고자 하였다. Table 2에 나타난 것과 같이 애월 지역은 취수 지역 주변에는 양식장이 존재하지 않는 것을 확인하였으며, 구좌와 표선의 경우 배출수 채수 지역으로부터 반경 5 km 이내에 존재하는 양식장의 수면적이 약 277,456과 343,276 m<sup>2</sup> 이었으며, 대정의 경우 98,765 m<sup>2</sup>으로 확인되어 구좌와 표선의 양식장 수면적은 대정지역 보다 각각 2.8배와 3.5배 더 넓은 것으로 나타났다. 그럼에도 불구하고 8월 대정 지역에서 채취한 해수가 다른 지역에 비해 미생물학적 오염이 더 심한 것은 양식장의 배출수가 주 오염원이 아닐 수 있음을 시사한다. Oh et al. (2006)은 제주도내의 115개의 지하수의 질산성 질소를 조사했을 때, 오염원이 적은 고산지대에서는 그 농도가 아주 낮은 반면에 대정지역의 농도는 매우 높음을 확인할 수 있었다. 또한 Oh et al. (2006)은 대정 지역의 오염 원인이 축산폐수, 화학비료 그리고 사람의 분뇨라고 주장하였다. 이는 2016년 제주특별자치도 보건환경연구원 조사한 결과(Jeju Specific Self-Governing Province Institute of Environment Research, 2016)와도 일치한다. 그 보고서에 따르면 농경지 면적이 넓고 축산폐수 배출시설이 많은 제주 서부 지역의 지하수에서 전반적으로 높은 질산성 질소가 검출되었다.

이번 연구에서 또 다른 오염 지표종으로 사용한 분변계 연쇄

구균의 경우 대정 지역의 해수에서 가장 높게 검출되어 이곳의 오염도가 다른 지역에 비해 심한 것을 확인할 수 있었다. 세계보건기구(WHO, 2003)는 *E. coli*가 본질적으로 담수에서 더 잘 생존하는 특성 때문에 해수의 오염 지표로 사용하기에는 한계가 있다고 하였다. 총대장균군 또한 분변 이외의 여러 가지 요인에 의해 유입될 수 있는 특성 때문에 분변에 의한 해수의 오염 정도를 잘 반영하지 못할 수 있다고 하였다. 그러나 분변유래의 연쇄구균은 해수에 오래 생존하는 특성 때문에 해수의 오염 지표종으로 적절할 것이라 하였다(WHO, 2003). 세계보건기구에서 공표하고 있는 분변계 연쇄구균의 수를 이용한 수질 등급 분류 가이드라인에 따르면 95<sup>th</sup> percentile value of fecal streptococci 100 mL<sup>-1</sup>이 40 이하이면 A등급으로 분류하고 있다. 이 기준을 적용하면 이번 연구에서 채취한 모든 해수 샘플은 A등급에 속하는 것으로 나타났다(Fig. 3).

이번 연구에서는 해수의 오염 정도를 측정하기 위해 이용되는 대장균과 분변계 구균 이외에 넙치 연쇄구균병의 원인균인 *S. parauberis*의 분포 조사를 통해 양식장과의 관계를 알아보고자 하였다. 배양 된 *S. parauberis*의 수와 해수 농축액으로부터 추출한 DNA를 이용하여 qPCR로 정량한 결과 제주의 서쪽에 위치한 구좌읍 양식장 배출수에서 각각 4 CFU 100 mL<sup>-1</sup>가 배양되었고 4 × 10<sup>7</sup> copies 100 mL<sup>-1</sup>로 추정되는 결과가 나타났다. 6월에 채취한 표선의 한 양식장의 배출수와 100 m 지점에서는 각각 2와 7 CFU 100 mL<sup>-1</sup>의 *S. parauberis*가 배양되었고 qPCR

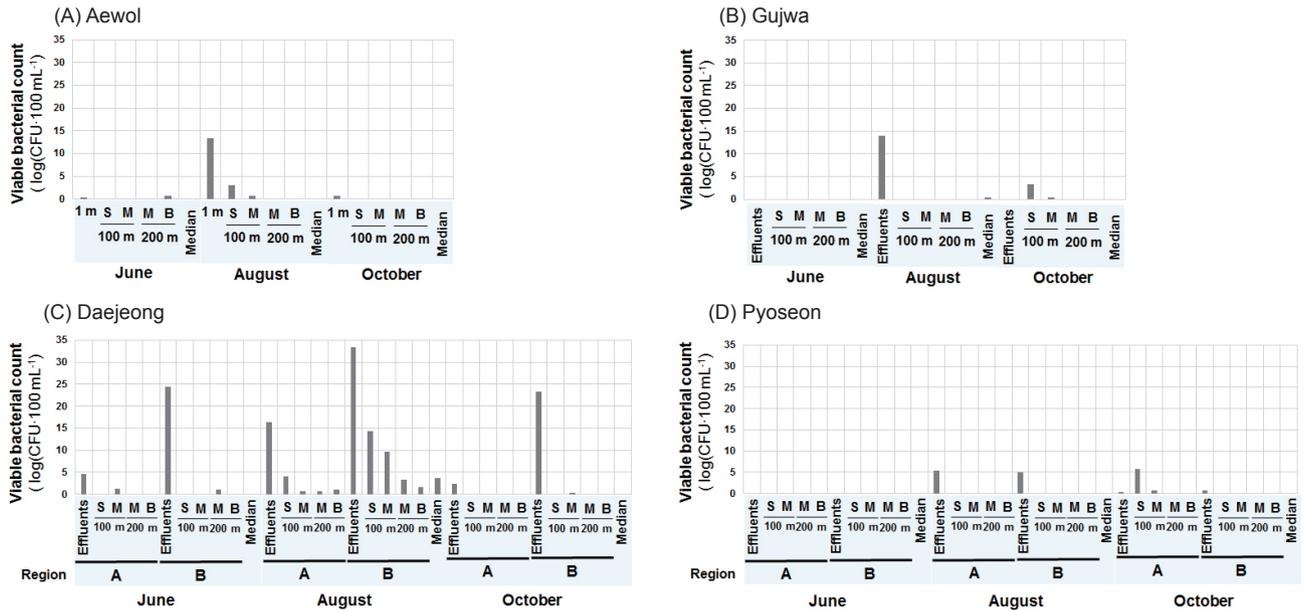


Fig. 3. Fecal *streptococci* counts and their median values in seawater sampled in Aewol (A), Gujwa (B), Daejeong (C) and Pyoseon (D). S, M and B indicate surface, middle and bottom water, respectively.

결과  $2 \times 10^7$ 과  $10^7$  copies  $100 \text{ mL}^{-1}$ 로 추정되는 결과를 확인 할 수 있었다. 이 결과에서 알 수 있듯이 qPCR에 의한 추정 세균의 수는 배양된 colony 수에 비해 매우 높음을 알 수 있다. Currás et al. (2002)은 *S. parauberis*가 해수에 유입되어 약 2-3주 후가 되면 생존은 하고 있으나 배양이 되지 않는 상태(VBNC, viable but non-culturable)로 분화하여 180일 이상 그 상태를 유지한다고 하였다. 그 연구(Currás et al., 2002)에서 현미경으로 관찰되는 세균 수는 약  $10^6$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  이상인 반면 배양되는 세균은 36일째부터는 검출한계 이하로 떨어졌다. 본 연구에서 분석에 사용한 해수에서 *S. parauberis*가 매우 적은 수로 분리 배양되었으나 qPCR에서 높은 copy수가 나온 것은 이 세균이 우리나라 해수에서 VBNC 상태로 존재할 가능성을 시사한다. 특히 구좌와 표선 주변 해역에서만 *S. parauberis*가 검출되었는데 이는 이곳의 높은 양식장 밀집도와 관련이 있을 수도 있을 것으로 판단된다. 향후 VBNC 상태의 *S. parauberis*에 의한 감염과 피해에 대한 면밀한 조사가 필요해 보인다.

본 연구를 통해 제주도 연안 해수의 미생물학적 오염 정도를 분석한 결과 지역과 샘플링 시기별로 상이하다는 것을 확인할 수 있었다. 특히 수온의 상승과 인간 여가활동의 증가는 분변계 대장균과 분변계 연쇄균의 증가와 연관성이 높음을 확인할 수 있었다. 그러나 다른 지역에 비해 밀집도가 약 3배 낮은 대정 지역의 해수가 크게 시기와 상관없이 미생물학적 오염 정도가 매우 심하였는데 이는 제주 서부지역에 밀집해 있는 축산 농가로부터 배출되는 오폐수와 연관성이 높은 것으로 사료된다. 그러므로 넓지 양식장이 매우 많이 분포해 있는 제주의 연안 해수

오염은 수산양식장 보다는 축산업에 의한 영향이 유의적으로 크다는 것을 알 수 있다.

## 사 사

이 논문은 부경대학교 자율창의기술연구비(2016년)에 의하여 연구되었습니다.

## References

- Currás M, Magarinos B, Toranzo A and Romalde J. 2002. Dormancy as a survival strategy of the fish pathogen *Streptococcus parauberis* in the marine environment. *Dis Aquat Org* 52, 129-136.
- Hong CK, Seo YH, Choi CM, Hwang IS and Kim MS. 2012. Microbial quality of fresh vegetables and fruits in Seoul, Korea. *J Food Hyg Saf* 27, 24-29. <http://doi.org/10.13103/JFHS.2012.27.1.024>.
- Jee BY, Kim KI, Lee SJ, Kim KH, Jin JW and Jeong HD. 2013. Detection of Fish Pathogenic Viruses in Seawater Using Negatively Charged Membranes. *Korean J Fish Aquat Sci* 46, 46-52. <https://doi.org/10.5657/kfas.2013.0046>.
- Jeju Specific Self-Governing Province Institute of Environment Research. 2016. Report of underground water quality monitoring results in 2016 [Internet]. Retrieved from [http://he.jeju.go.kr/contents/index.php?job=detail&ebcf\\_id=inquiry2&page=2&mid=0202&board\\_id=eri\\_inquiry2&write\\_](http://he.jeju.go.kr/contents/index.php?job=detail&ebcf_id=inquiry2&page=2&mid=0202&board_id=eri_inquiry2&write_)

- method=common&eb\_seq=140 on May 10, 2018.
- Kim HK, Lee HT, Kim JH and Lee SS. 2008. Analysis of microbiological contamination in ready-to-eat foods. *J Food Hyg Saf* 23, 285-290.
- Kim MS, Lee YM, Kim SK, Seo JH, Ji KH, Oh JY, Ko KD and Ko GP. 2009. Investigation of microbial contamination of public bath in Jongno-gu, Seoul. *Kor J Env Hlth* 35, 162-168. <https://doi.org/10.5668/jehs.2009.35.3.162>.
- Kim SJ, Kim JO, Kim WS and Oh MJ. 2015. Use of a two-step ultrafiltration procedure to concentrate viral hemorrhagic septicemia virus (VHSV) in seawater. *J Virol Methods* 224, 30-34. <https://doi.org/10.1016/j.jviromet.2015.08.006>.
- Koh HJ, Park SE, Cha HK, Chang DS and Koo JH. 2013. Coastal eutrophication caused by effluent from aquaculture ponds in Jeju. *J Korean Soc Mar Environ Saf* 19, 315-326. <https://doi.org/10.7837/kosomes.2013.19.4.315>.
- Mata AI, Gibello A, Casamayor A, Blanco MM, Dominguez L and Fernandez-Garayzabal JF. 2004. Multiplex PCR assay for detection of bacterial pathogens associated with warm-water Streptococcosis in fish. *Appl Environ Microbiol* 70, 3183-3187. <https://doi.org/10.1128/aem.70.5.3183-3187.2004>.
- Moeseneder MM, Winter C and Herndl GJ. 2001. Horizontal and vertical complexity of attached and free-living bacteria of the eastern Mediterranean Sea, determined by 16S rDNA and 16S rRNA fingerprints. *Limnol Oceanogr* 46, 95-107. <https://doi.org/10.4319/lo.2001.46.1.0095>.
- Moon YG, Kim MC, Lee JB, Song CB, Yeo IK, Kim JM, Park GT, Son HJ, Choi WB and Heo MS. 2006. Distribution of microorganisms and physico-chemical characteristics in the Chagwi-Do coastal waters, Jeju Island. *J Environ Sci Int* 15, 271-278. <https://doi.org/10.5322/jes.2006.15.3.271>.
- Nguyen TL, Lim YJ, Kim DH and Austin B. 2016. Development of real-time PCR for detection and quantitation of *Streptococcus parauberis*. *J Fish Dis* 39, 31-39. <https://doi.org/10.1111/jfd.12322>.
- Oh MJ, Kim SR, Jung SJ, Kim HR, Kim HY and Yeo IK. 2000. A Simple Method for the Concentration of Fish Pathogenic Virus in Sea Water. *J Fish pathol* 13, 61-66.
- Oh TG, Kim SR, Kim YJ and Kim SR. 2006. Nitrate and chloride characteristics in the groundwater in Jeju area. *J Environ Res* 3, 1-14.
- Park KBW, Park JY, Jo MR, Yu HS, Lee HJ, Kim JH, Oh EG, Shin SB, Kim YK and Lee TS. 2013. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli* isolated from the shellfish farms in the southern coast of Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 46, 528-533. <https://doi.org/10.5657/kfas.2013.0528>.
- Park YM, Yoon HJ, Ham IT, Yoo HJ and Choi J. 2015. Evaluation of the Microbiological Safety for the Seawater in a Part of the South Coast, Korea. *J Food Hyg Saf* 30, 350-358. <https://doi.org/10.13103/jfhs.2015.30.4.350>.
- Son KT, Oh EG, Lee TS, Lee HJ, Kim PH and Kim JH. 2005. Survey of sanitary indicative bacteria and pathogenic bacteria in fish farms on the Southern Coast of Korea. *Korean J Fish Aquat Sci* 38, 359-364. <https://doi.org/10.5657/kfas.2005.38.6.359>.
- WHO (World Health Organization). 2003. Guidelines for safe recreational water environments: Coastal and fresh waters. World Health Organization [Internet]. Retrieved from <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42591/9241545801.pdf?sequence=1> on May 15, 2018.