

금강 하구 퇴적토에서의 종속영양 세균의 분포에 미치는 환경요인과 계절적 우점속에 관하여

이 건 형
군산대학 생물학과

Environmental Factors Affecting Seasonal Distribution of Heterotrophic Bacteria in Kūm River Estuarine Sediments

Lee, Geon-Hyung
Dept. of Biology, Kunsan National University

ABSTRACT: Dominant genera of heterotrophic bacteria were investigated seasonally in Kūm River estuarine sediments. Numerical taxonomy on the isolated heterotrophic bacteria were carried out according to their morphological, physiological, nutritional and biochemical characters. Heterotrophic bacteria in the depths of 0 to 10 cm of sampled sediments were almost facultative anaerobes, and 77.9% to 86.9% of them were Gram negative rods. Dominant genera among the isolates were *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Enterobacteria* and *Vibrio* during sampling periods. According to their character analyses by similarity index(S), the isolates were clustered in fourteen groups at clay type sediments(Site 1) and four groups at sand type sediments(Site 2).

KEY WORDS □ Taxonomy, heterotrophic bacteria, Kum River Sediments.

퇴적토 환경은 담수 및 연안지역과 같이 수층이 낮은 지역에서 수계생태계에 미치는 생태학적 영향이 지대하며 특히 이러한 지역에서 미생물의 활동은 이 지역 영양물질 순환에 중요한 역할을 담당한다. 종속영양 세균은 수계환경에 존재하는 세균 중 극히 일부분에 해당되지만 오염지표로서 중요하다. 특히 기수지역이나 퇴적토 환경에서는 종속영양 세균의 활성도는 대단히 높은 편이다(Rheinheimer, 1980). 이러한 종속영양 세균의 형태학적, 생리학적 및 생화학적 특성을 밝히는 것은 종속영양 세균의 분류에서 뿐만 아니라 종속영양세균 군집의 생태학적 특성과 다양성을 밝히는데도 중요하다(Kaneko *et al.*, 1978). 이러한 연구는 국내에서는 Hong 등(1985)과 Kim 등(1985)에

의해서 낙동강 하구의 퇴적토를 대상으로 연구된 적이 있으며, 외국의 경우 Jones(1982)가 호수의 퇴적토에서, Battersby와 Brown(1982)이 유기물이 풍부한 해양 퇴적토에서 연구한 적이 있다. 또한 저자 등은 이미 금강 하구의 퇴적토 지역을 대상으로 퇴적토 입자크기가 서로 상이한 지역에서의 종속영양 세균의 분포를 조사한 적이 있다(Lee *et al.*, 1986). 따라서 본 연구에서는 이들의 계절적 분포에 따른 종속영양 세균의 형태학적, 생리학적 및 생화학적 특성을 조사하였으며 이를 바탕으로 Numerical Taxonomy를 시도하였고, 또한 분리된 세균 중에서 계절에 따른 우점속의 변화와 환경요인이 우점속에 미치는 영향을 알아보았다.

*이 논문은 1986년도 문교부 학술연구 조성비에 의하여 연구되었음.

재료 및 방법

연구대상 지역 및 채집 방법

본 연구는 전북 옥구군 성산면 성덕리에 위치한 금강하구 독 부근의 퇴적토를 대상으로 실시하였으며 시료는 Parkes(1978)가 고안한 방법을 이용하여 채집하였다. 연구대상 지역의 상세한 특징과 채집방법 및 종속영양 세균의 분포와 퇴적토의 이화학적 특성에 대해서는 이미 발표한 바가 있다 (Lee *et al.*, 1986).

종속영양 세균의 분리 동정

종속영양 세균의 순수분리는 분포조사에서 얻은 평판배지에서 퇴적토의 표층에서 10 cm까지의 시료를 대상으로 약 100개 정도의 균을 분리하였으며, 동정에 사용된 key는 Cowan(1974)과 Macfaddin(1980)의 방법을 적용하였다.

Numerical Taxonomy

위에서 순수분리된 세균은 형태학적, 생리학적 및 생화학적 특징을 바탕으로 38종의 특징을 조사하여 수치 분류를 시도하였다. 이때 사용된 Similarity index는 다음과 같다.

$$\frac{N_s}{N_s + N_d} \times 100 = S (\%)$$

(Ns: Number of characters shared by two strains, Nd: Number of characters differing between two strains)

한편 clustering 방법은 simple linkage clustering (Sokal and Sneath, 1963)에 따랐으며 모든 세균의 group간 유사도는 $S \geq 70\%$ 로 하였다.

세균의 형태학적, 생리학적 및 생화학적 특성

종속영양 세균은 수계환경에 존재하는 세균중 극히 일부분에 해당되지만 오염지표로서 중요하다. 특히 기수지역이나 퇴적토 환경에서는 종속영양 세균의 활성도는 대단히 높은 편이다. 이러한 종속영양 세균의 형태학적, 생리학적 및 생화학적 특성을 밝히는 것은 종속영양 세균의 분류에서 뿐만 아니라 종속영양세균 군집의 생태학적 특성과 다양성을 밝히는 데도 중요하다 (Kaneko *et al.*, 1978).

종속영양 세균의 형태학적, 생리학적 및 생화학

Table 1. Characteristics of heterotrophic bacterial populations isolated from the Küm river estuarine sediments (% of population).

	SITE 1	SITE 2
MORPHOLOGICAL		
Rod shaped	86.3	90.2
Coccus shaped	13.7	9.8
Gram negative	77.9	86.9
Motility	61.1	76.1
PHYSIOLOGICAL		
Growth in air	98.9	100
Growth anaerobically	68.4	84.8
Growth at 37°C	76.8	92.3
Growth at 42°C	31.6	37.9
Growth on NA medium	98.0	100
Growth on SS medium	11.6	0
Growth on MacConkey medium	30.0	3.0
Growth-0% NaCl	94.7	97.0
Growth-6% NaCl	45.3	51.5
BIOCHEMICAL		
Catalase activity	93.7	100
Oxidase activity	67.3	93.9
Starch hydrolysis	44.2	4.5
Casein hydrolysis	44.2	65.2
Arginine hydrolysis	41.1	36.4
Acid from Glucose	82.1	95.5
Acid from Lactose	23.2	13.6
Acid from Sucrose	43.2	36.4
Acid from Maltose	65.3	77.3
Acid from Xylose	63.2	59.1
Acid from Mannitol	81.1	78.8
Acid from Salicin	56.8	36.4
Citrate utilization	41.1	54.5
NO ₃ ⁻ reduction	49.5	22.7
H ₂ S production	17.9	4.5
Gelatin liquefaction	73.7	66.7
Indole test	12.6	3.0
Urease	14.7	36.4
Phenylalanine	67.4	97.0
VP		10.6

적 특성을 밝히기 위해서 numerical clustering을 수행하였으며 그 결과 Table 1에서 보는 바와 같다. 분리된 균은 지역에 관계없이 그람 음성균이 77.9%~86.9%를 차지하여 Simidu와 Aiso (1962)가 Komagara탄에서 얻은 결과와 Ezura

등(1974)이 Akkeshi 만에서 80%의 그람 음성균이 분포되어 있다는 보고와 일치하였으며, Baltic 해에서 Bölter(1977)가 얻은 결과와도 일치하였다.

세균형태로 볼 때에는 구균보다는 간균이 전체의 86.3%~90.2%로 우세하였다. 또한 운동성은 점토 지역에서 분리된 세균보다는 사토 지역의 퇴적토에서 분리한 세균이 더 높았다.

생리적인 특성으로는 분리된 세균의 대부분은 호기성(aerobic)이지만 혐기성(anaerobic) 상태에서도 68.4%~84.8%가 자랄 수 있어 통성혐기성(facultative anaerobic) 세균도 상당수 차지하고 있음을 알 수 있다. 또한 금강하구 지역에서 분리한 균의 45.3%~51.5%가 염분에 대한 내성을 나타내어 origin이 해양성 세균임을 알 수 있으며, 전정점에서 선택배지에서의 성장은 대체로 저조하였다.

생화학적 특성을 살펴보면 점토형 퇴적토인 정점 1에서 보다 사토형 퇴적토인 정점 2에서 분리된 세균이 더 높은 oxidase 양성을 보였다.

전분 분해능은 점토 지역이 사토 지역보다 다소 높았지만 casein 분해능은 사토 지역이 더 높은편이었다. 탄수화물의 이용을 살펴보면 전정점에서 분리한 균의 82.1%~95.5%가 glucose를, 65.3%~77.3%가 maltose를, 78.8%~81.1%가 mannitol를 이용하였으나, lactose, sucrose 등

의 이용율은 비교적 낮은편이었다.

일반적으로 유기물이 풍부한 퇴적토에서는 통성 혐기성 세균이나 편성혐기성(strick anaerobic) 세균에 의해서 질산염의 환원 활동이 높게 관찰되는 반면 유기물이 적은 퇴적토에서는 질산염의 환원 활동이 낮게 나타났다(Cole, 1978; Dunn *et al.*, 1978; Herbert *et al.*, 1980). Sørensen(1978)에 의하면 북 덴마크의 Limfjorden의 퇴적토에서 ¹⁵N-nitrate가 암모니아로 환원되는 양이 0.12~0.75 μmol N cm⁻³ day⁻¹였으며, Koike와 Hattori(1978)도 일본의 Mangoku-Ura 만과 Simoda 만 및 Tokyo 만에서 유사한 결과를 얻은 바 있다. Nitrate reduction의 생태학적인 중요성은 기체상의 산물(N₂O와 N₂ gas)로 생태계로 방출하므로서 생물학적으로 이용 가능하기 때문이다. 조사정점에서는 정점 1이 49.5%로 정점 2의 22.7%보다 2배 이상의 높은 환원율을 나타냈다.

분리된 세균간의 통계학적 유사도 분석

생태계를 구성하는 종속영양 세균들을 분류하는데 있어서 형태학적, 생태학적 및 생화학적 특성들의 관계를 분석하여 얻어지는 유사도 분석은 자연환경 내에서 세균의 역할을 이해하는데 도움을 준다(Colwell and Liston, 1961; Bölter, 1977).

본 연구에서는 조사정점 1, 2로 부터 분리된 균주들을 Table 1의 실험을 통해 그 특성을 알아보

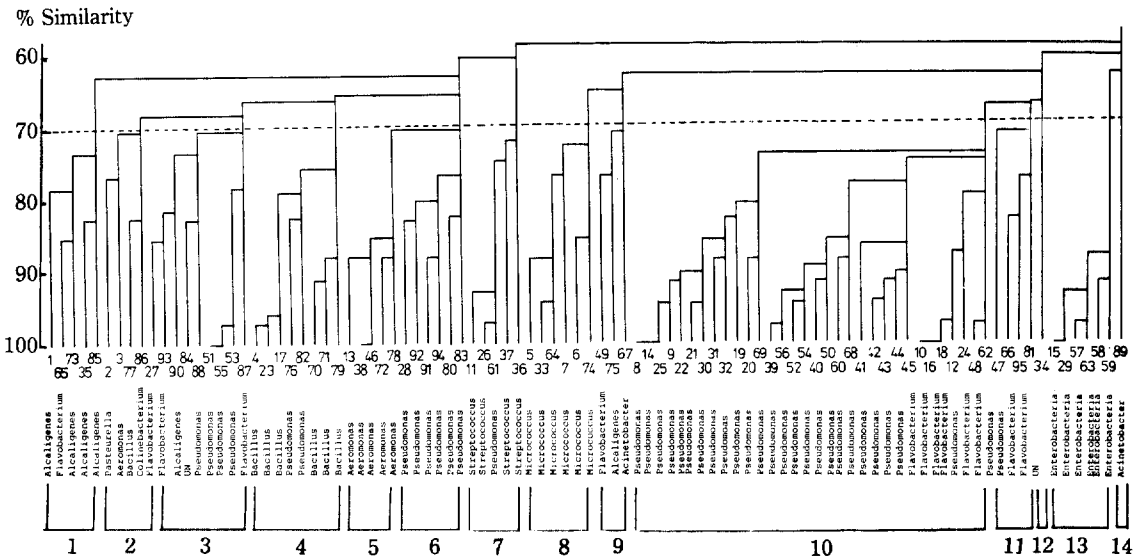


Fig. 1. Dendrogram of heterotrophic bacterial characters isolated from sediment of Site 1.

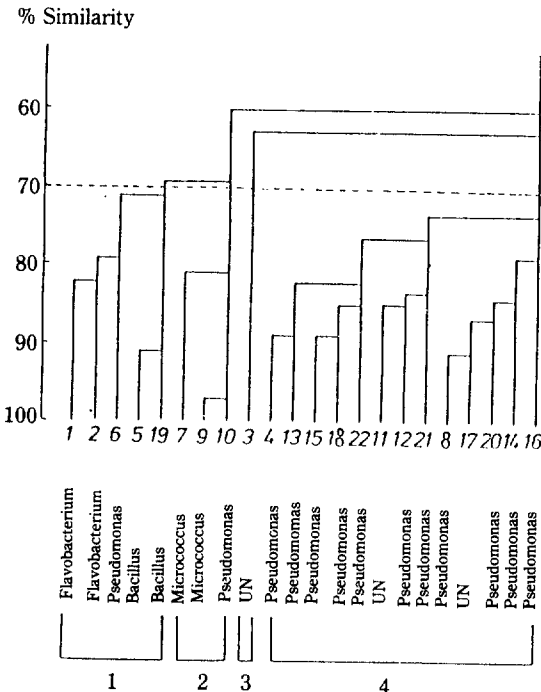


Fig. 2. Dendrogram of heterotrophic bacterial characters isolated from sediment of Site 2. (UN; Unknown).

았다. 분리된 균주의 80% 이상은 표층에서 10 cm 까지의 깊이에서 분리된 것이며 이와같이 분리된 균주들을 grouping하고 상호간의 유사도를 Fig. 1, 2에서 보는 바와 같이 각각 정점별로 dendrogram으로 나타내었다. 유사도 70% 이상을 기준으로 할때 정점 1로부터 분리된 균주들은 14종류의 group으로 나눌 수 있었으며, 정점 2는 4종의 group으로 분포 하였다.

정점 1의 14 group중 group 6, 10는 그람음성 세균인 *Pseudomonas* 균주들로 구성되며, group 13은 또다른 그람음성 세균인 Enterobacteria를 포함하였다. 그람양성 세균의 경우 *Bacillus*가 group 4를 구성하며, 그람양성, 구형 세균인 *Streptococcus*, *Micrococcus*는 group 7, 8를 구성하고 group 3과 11은 *Pseudomonas*와 *Flavobacterium*으로 구성되나 두 group간의 유사도는 매우 낮았다. *Bacillus*와 *Flavobacterium*의 3종으로 구성된 group 2는 group 4의 *Bacillus*와 66%의 유사도를 보여주었다. group 1은 *Alcaligenes*, *Flavobacterium*의 두 종류 그람음성 세균으로 구성되었다. 이와 같이 정점 1은

매우 다양한 특성을 지니는 균주들이 존재하며 이러한 형질의 차이는 외부 환경에 대한 적응도나 특별한 기질에 대한 선호도에 기인된 것으로 생각된다.

조사 정점 2의 분포 결과에서는 그람 양성 균주인 *Bacillus*, *Micrococcus*는 모두 group 1, 2에 속하였으며 특히 *Micrococcus*는 독립된 group 2를 구성하였다. group 1은 *Bacillus*와 두 종류의 그람음성 세균으로 구성되었으나 72%의 유사도로 볼 때 그람양성과 그람음성 세균이 각각 subgroup으로 나뉘었다. 정점 2에서도 대부분의 분리 동정된 세균들은 *Pseudomonas*였으며 group 4에 분포하였고, group 3은 미동정균으로 group 4와 63%의 유사도를 나타내었다. *Flavobacterium*의 분포는 group 1의 그람 음성 subgroup에 존재하나, 실험결과로 볼 때 서로 상이한 생리적 특성을 지니는 균주들로 생각되었다.

퇴적토에서 세균 속조성의 계절적 변화

조사정점에서 세균의 속조성의 변화를 알아보기 위하여 각정점에서 세균을 분리 동정한 결과 출현 속은 *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Streptococcus*, Enterobacteria, *Acinetobacter*,

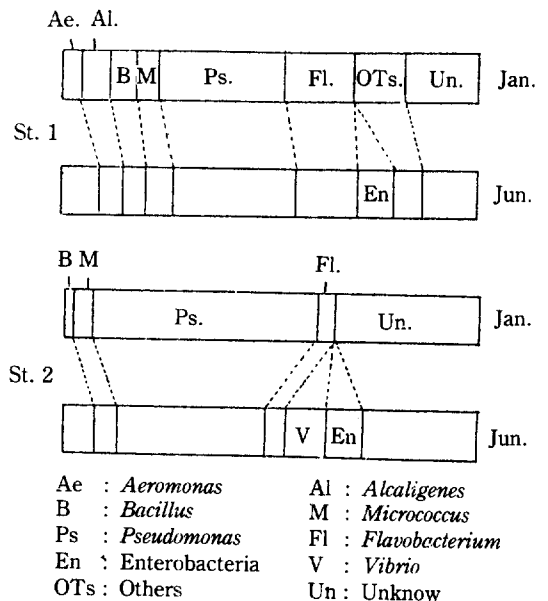


Fig. 3. Percent distribution of dominant bacteria at each sampling site on January and June, 1985. (Jan.; January, Jun; June).

Corynebacterium, *Vibrio* 등이었다. 정점 1은 1월에 *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium* 등이 출현하였는데 이중 *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Alcaligenes* 등이 우점속으로 나타났으며, 6월에는 1월에 나타난 우점속 이외에 *Enterobacteria*가 우점속으로 출현한 점이 특이하다 (Fig.3). 대개 장내 세균은 자연체에 유입되면 높은 염도, 중금속, 침전효과, 응집, 섭식 및 phage 등에 의한 lysis, toxin 및 태양광선과 같은 환경요인 때문에 생존도가 낮다(Chamberlin, 1978). 그러나 6월에 많이 출현한 이유는 1월에 비해 수온의 증가와 강우량의 증가에 의하여 희석율이 높아졌기 때문에 사멸율이 낮아진 것으로 생각된다. 정점 2에서도 출현속은 정점 1과 유사하였으나 정점 1보다 *Pseudomonas*의 분포가 높은 편이었으며, 정점 1과 다른 점은 6월에 *Enterobacteria* 이외에 *Vibrio*가 출현한 점이다.

전반적으로 볼 때 금강하구 지역의 우점속의 조성은 Hong 등(1985)이 보고한 낙동강 하구 퇴적토에서의 속조성과 유사하였다.

또한 조사정점인 금강하구 기수지역의 점토와 사토에서 공통적으로 우점속으로 나타난 세균은 *Pseudomonas*였는데 해양의 경우 Bölter (1977)가 Baltic Sea에서 분리한 세균중 30%가 *Pseudomonas*였다고 보고하였으며, 연안의 경우도 Kwon (1983)에 의해서 우리나라 진해만의 저층에서 봄·여름·가을에 *Pseudomonas*가 우점속의 하나임을 보고한 적이 있다.

이상에서 살펴 본 바와 같이 금강하구 퇴적토의 특성에 따라 종속영양 세균은 계절에 따라 우점속의 변화가 다양하였다. 이와같은 다양성은 환경요인의 변화와 밀접한 관계가 있었다. 이러한 관계를 동일지역에서 조사된 (Lee et al., 1986) 퇴적토의 물리·화학적 환경요인 등과 같은 비생물학적 요인과의 상관관계를 구하여 이를 도표로 나타낸 결과 Fig.4, 5에서 보는 바와 같았다. 정점 1의 경우 종속영양 세균에 영향을 주는 환경요인은 주로 산화환원전위였으며, 정점 2에서는 아질산염질소와 산화환원전위 등이었다.

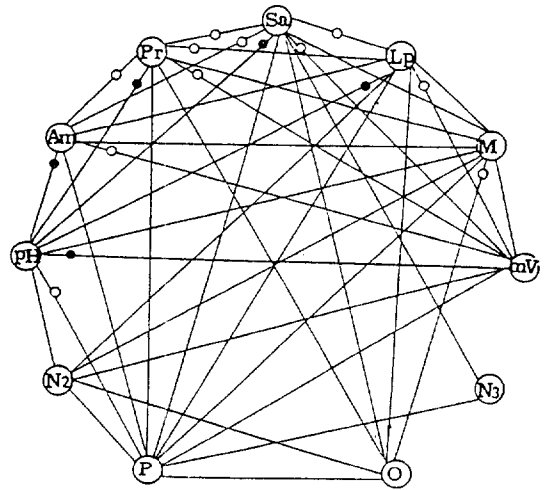


Fig. 4. Diagram of relationships between variables in the sediment of Site 1. Sa: total bacteria, Pr: proteolytic bacteria, Lp: lipolytic bacteria, Am: amylolytic bacteria, M: moisture content, mV: redox potential, N₂: nitrite-N, N₃: nitrate-N, P: phosphorus-P, O: organic content.
 —●—: Negative correlation, 95% significance,
 —○—: Positive correlation, 95% significance.

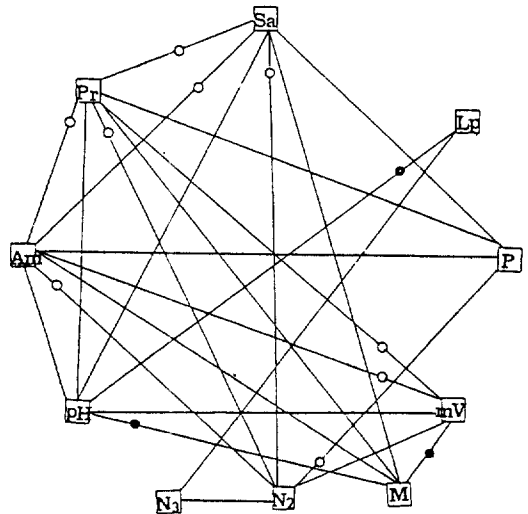


Fig. 5. Diagram of relationships between variables in the sediment of Site 2. Abbreviations as in Fig. 4.
 —●—: Negative correlation, 95% significance,
 —○—: Positive correlation, 95% significance.

적 요

금강하구 감소구역의 퇴적토를 대상으로 토양의 입자크기에 따른 종속영양 세균의 계절적 우점종의 변화 및 수리분류와 환경요인이 종속영양 세균의 분포에 미치는 영향에 대하여 조사했다.

조사지역 퇴적토에서 분리된 종속영양 세균중 77.9%-86.9%가 그람음성균으로 통성혐기성 세균이었으며 간균이 86.3%-90.2%를 차지하였다.

조사기간중 이 지역의 우점종은 *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Micrococcus*, *Enterobacteria*와 *Vibrio* 등이었다.

분리된 세균의 각 특성을 Similarity index를 이용하여 군주별 연관성을 분석한 결과 점토형 퇴적토(정점 1)에서는 14개 그룹으로, 사토형 퇴적토(정점 2)에서는 4개 그룹으로 나뉘어졌으며 전자의 경우 종 다양성이 큰 것을 확인 할 수 있었다.

REFERENCES

1. Battersby, N.S., and C.M. Brown. 1982. Microbial activity in organically enriched marine sediments. In: *Sediment Microbiology*. Eds. by D.B. Nedwell and C.M. Brown. Society for General Microbiology. London, New York.
2. Bølter, M. 1977. Numerical taxonomy and character analysis of saprophytic bacteria isolated from the Kiel Fjord and Kiel Bight. In: *Microbial ecology of a brackish water* Ed. by G. Rheinheimer. Springer-Verlag. Berlin.
3. Chamberin, C.E. 1978. A decay model for enteric bacteria in natural waters. p.325-348. In: R. Mitchell (ed.), *Water Pollution Microbiology*. Vol. III. John Wiley & Sons. New York.
4. Cole, J.A. 1978. The rapid accumulation of large quantities of ammonia during nitrate reduction by *E. coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* 4:327-329.
5. Colwell, R.R. and J. Liston. 1961. Taxonomic relationships among the pseudomonads. *J. Bacteriol.* 82: 1-14.
6. Cowan, S.T. 1974. Manual for the identification of medical bacteria. Cambridge University Press.
7. Dunn, G.M., Helbert, R.A. and Brown, C.M. 1978. Physiology of denitrifying bacteria from tidal mudflats in the river Tay. In: *Physiology and behavior of marine organisms*. Eds. by D.S. McLusky and A.J. Berry. pp. 135-140. Pergamon Press, Oxford.
8. Ezura, Y. et al. 1974. Seasonal differences in bacterial counts and heterotrophic bacterial flora in Akkeshi Bay. In: *Effect of the ocean*. 112-123. Eds. by Colwell, R.R., Morita, R.Y. Baltimore, London, Tokyo, University Park Press.
9. Herbert, R.A., Dunn, G.M. and Brown, C.M. 1980. The physiology of nitrate dissimilatory bacteria from the Tay estuary. *Proc. of Royal Society of Edinburgh* 78B. 79-87.
10. Hong, S.W., S.J. Kim, Y. Rhie and S.C. Choi. 1985. Vertical composition and character analysis of saprophytic bacteria isolated from mudflat of Nakdong River Estuary. *Kor. Jour. Microbiol.* 23: 157-166.
11. Jones, J.G. 1982. Activities of aerobic and anaerobic bacteria in lake sediments and their effect on the water column. In: *Sediment Microbiology*. Eds. by D.B. Nedwell and C.M. Brown. Society for General Microbiology. London, New York.
12. Kaneko, T., J. Hauxhurst, M. Krichevsky and R.M. Atlas. 1978. Numerical taxonomic studies of bacteria isolated from Arctic and Subarctic marine environments. In: *Microbial Ecology*. Eds. by Loutit, M.W. and J.A.R. Miles. p.26-30. Springer-Verlag. Berlin, Heidelberg.
13. Kim, S.J., S.W. Hong, Y. Rhie and S.C. Choi. 1985. Distribution and activity of heterotrophic bacteria in the mudflat of Nakdong River Estuary. *Kor. Jour. Microbiol.* 23: 215-222.
14. Koike, I. and A. Hattori. 1978. Denitrification and ammonia formation in anaerobic coastal sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* 35: 278-282.
15. Kwon, O.S. 1983. Isolation, identification and

- variation pattern of general bacteria in Jinhae Bay. M.S. Thesis. Seoul Natl. Univ..
16. Lee, G.H., Y.C. Hah, S.W. Hong. 1986. Distribution of heterotrophic bacteria and physicochemical characteristics of sediments in Kúm River Estuary. *Kor. Jour. Microbiol.* **24**: 308-316.
 17. Macfaddin, J.F. 1980. *Biochemical tests for identification of medical bacteria*. Williams & Wilkins, Baltimore/London.
 18. Parkes, R.J., Bryder, M.J., Madden, R.H., and N.J. Poole. 1978. "Techniques for investigating the role of anaerobic bacteria in estuarine sediments," Methodology for biomass determination and microbial activities in sediments, ASTM STP 673. Eds. by C.D. Lichfield and P.L. Seyfried. American Society for Testing and Materials.
 19. Rheinheimer, G. 1980. *Aquatic Microbiology*. 2nd ed. p. 21-41. Wiley & Sons. Chichester, New York.
 20. Simidu, U. and Aiso, K. 1962. Occurrence and distribution of heterotrophic bacteria in sea water from Gomagara Bay. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **28**: 1133-1141.
 21. Sokal, R.R. and Sneath, P.H.A.. 1963. Principles of numerical taxonomy. San Francisco, Freeman.
 22. Srensen, J. 1978. Capacity for denitrification and reduction of nitrate to ammonia in a coastal marine sediment. *Appl. Environ. Microbiol.* **35**: 301-305.

(Received Apr. 28, 1987)