

파로호 수중생태계에서의 미생물 분포 및 활성도

안태석·이동훈*

강원대학교 자연과학대학 환경학과

* 강원대학교 자연과학대학 생물학과

Distributions and heterotrophic activities of bacteria in Lake Paro

Ahn, Tae Seok and Dong Hun Lee*

Dept. of Environmental Science, Kangweon Nat'l University

*Dept. of Biology, Kangweon Nat'l University

ABSTRACT: The distributions of bacterial numbers and activities were studied bimonthly in 1987, at 3 sites in Lake Paro for elucidating the changes by disturbance of aquatic ecosystem.

The total bacterial number was 0.3×10^5 - 13.1×10^5 cells/ml. The heterotrophic bacterial number had the variance from 1.9×10^3 CFUs/ml to 3.1×10^4 CFUs/ml and the variation trend was similar to that of the total bacterial number.

The proportions of alpha-glucosidase or beta-glucosidase releasing bacteria showed temporal changes rather than spatial changes. The proportions of phosphatase releasing bacteria had the maximum values, 22.7-83.0%, in July.

The electron transport system activity revealed the variation from $480 \mu\text{gO}_2/\text{l/day}$ to $1696 \mu\text{gO}_2/\text{l/day}$ and higher values at upper stream and in summer. The degradation fraction by phosphatase was 0.4-9.1%/h and increased with temperature. The maximum value of heterotrophic activity was 8.2%/h in summer.

Eventhough the distributions of total bacteria and heterotrophic bacteria were affected by the water disturbance but microbial activities and proportions of the specific enzyme releasing bacteria were not affected.

KEY WORDS □ bacterial distribution, heterotrophic activity, Lake Paro.

수중 생태계에서 미생물은 유기물의 분해 및 동화에 관여하여 물질순환에 기여하고, 다른 생물들에게 필수적인 성장인자를 제공하거나 (Morita *et al.*, 1973), 다른 생물의 먹이로서도 중요한 위치를 차지한다 (Wright, 1978; Rheinheimer, 1985; Rimes *et al.*, 1986). 또 미생물은 생태계에서 생산자의 기능을 담당하기도 하나 가장 중요한 기능은 분해자의 역할이며 생물사체나 기타 고분자 물질, 오염 물질과 같은 유기물을 분해하여 무기물화하는 mineralization 과정을 수행한다. 또한 미

생물의 분포와 생리적 활성도는 민감하게 변화하므로, 간접적으로 주위 환경의 상태를 나타내는 지표로 볼 수 있다. 한편 생태계의 구조와 기능을 파악하기 위하여는 개체군 크기, 생체량, 성장율, 물질순환율 등과 같은 정량적인 자료가 제시되어야 한다 (Atlas and Bartha, 1986).

최근 분석방법의 발달로 생태계에서 종속영양 세균의 수와 생체량을 측정하는 외에 여러 미생물 활성도를 측정할 수 있게 되었다 (Gocke, 1977; Wright and Hobbie, 1985). 생태계에서 세균의

활성도를 직접 측정하게 되면, 평판계수법이나 배양된 세균으로 생화학적 혹은 광물학적 변환 능력을 조사하는 방법보다 생태계의 구조와 기능을 이해하는데 더 많은 직접적인 지식을 얻을 수 있다 (Wright, 1978). 본 연구에서는 북한강 수계의 파로호에서 총 세균과 종속영양 세균의 분포 및 활성도에 관하여 조사하였으며 단순한 자료보다는 좀더 생태학적 기능을 갖고 있는 지표물 제시하기 위하여 미생물 개체군의 크기, 활성도에 관하여 중점연구하였다.

본 연구의 조사대상인 파로호는 한강수계의 최북단에 위치한 인공호로 건설된지 40년이 넘는 상태의 호수이며, 유역면적 3,901 KM², 만수면적 38.15 KM², 유효저수량은 7억5천만톤이다(한국수자원개발공사, 1970). 현재 수중생태계는 극상에 도달한 상태로 볼 수 있으며, 최근 평화의 댐 건설에 따라 1986년말부터 다량의 물을 급격히 방류하여 수심이 30m나 낮아지고, 이에 따른 탁도의 증가, 유기인산염의 증가 등이 수반되는 지역으로서(조 등, 1988b) 주위환경이 급격한 변화를 보여주었다. 이러한 변화는 미생물 생태계에 매우 큰 영향을 끼쳤을 것으로 사료되며, 이러한 변화에 미생물의 생태학적 조사지표중 어느 항목이 가장 크게 변화하는가를 살펴보았다.

재료 및 방법

조사일정 및 채수

1987년 1월부터 11월까지 격월로 3개 지점에서(표층) 총 6회의 현장조사를 하였다. 정점 1은 북한강 유입수로서 가장 변화가 심한 지역이며 조사기간중 계속 혼탁을 띠고 있었으며, 정점 2는 양구쪽 지류와 합쳐지는 지역이며, 정점 3은 댐앞의 가장 수심이 깊은 지역이었다(Fig. 1). 총 세균수 측정을 위한 시료는 현장에서 100 ml dark bottle에 담아 acidic lugol solution으로(Pomroy, 1984) 고정하였으며 다른 시료는 냉장보관하여 실험실로 운반, 분석하였다.

총 세균수(Total bacterial number)

총 세균수는 고정된 시료 1 ml를 DAPI(4, 6-diamidino-2-phenylindole)로 염색, 여과한 후에 형광현미경으로 검경하여 측정하는 Porter와

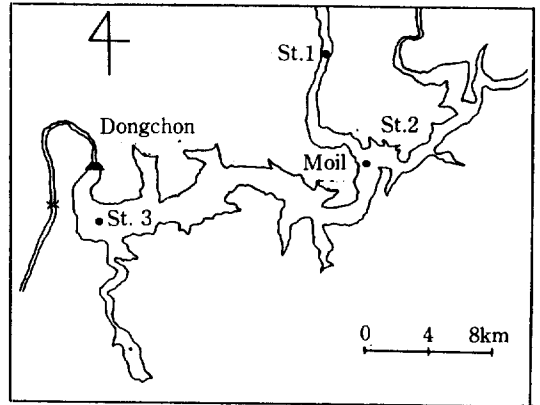


Fig. 1. Map showing the sampling sites in Lake Paro.

Feig(1980)의 방법을 이용하였다.

종속영양세균(Heterotrophic bacterial number)

1/10으로 희석한 영양배지에서 plate count법으로 20°C에서 7일간 배양하여 나타난 colony를 계수하였다.

효소 분비 세균의 출현 빈도

Alpha 및 beta-glucosidase와 phosphatase를 분비하는 세균의 출현 빈도를 조사하기 위하여, MUF(Methylumbelliferyl)-alpha-glucoside, MUF-beta-glucoside 및 MUF-phosphate를 기질로 하여 365 nm에서 형광을 내는 colony를 계수하여 종속영양세균과의 비율을 구하였다(Kim and Hoppe, 1985).

유기인산염의 분해율 측정

시료 10 ml에 MUF-substrate를 1 μM/l가 되게 넣은 후에 in situ 온도에서 한시간 동안 반응시킨 후, Tris buffer(pH 8.3)를 10 ml 넣어 형광분광광도계를(Ex: 364 nm, Em: 445 nm) 이용하여 정량분석하였다(Hoppe, 1983).

ETS(Electron transport system) 활성도 측정

시료 10 ml에 NADH(0.88 mM) 0.25 ml, NADPH(0.25 mM) 0.25 ml, Nalidixic acid(0.2%) 0.1 ml, Succinate(0.4 M) 0.5 ml와 INT(p-iodo-nitrotetrazolium violet: 0.2%)를 1 ml 첨가하고 24시간 후에 시료내에 생성된 INT-formazan의 농도를 분광광도계(480 nm)를 이용, 탁도보정하여 정량측정하였다(Ruger, 1984; Burton and Lanza, 1986).

생리적 활성도(Heterotrophic activity) 측정

중속영양세균의 유기물 이용도를 알아보기 위하여, 시료 50ml에 [1-C¹⁴] acetate (56mCi/mM)를 기질로 1시간 동안 배양한 후 즉시, membrane filter(0.2um)로 여과한 후에 Liquid scintillation counter를 이용하여 생체고정량을 측정하여, 전환율을 계산하였다(Gocke, 1977).

결과 및 고찰

총 세균수의 변화를 보면, 0.3×10^5 - 13.1×10^5 cells/ml의 범위에서 측정되어 비교적 낮은 값이 관찰되었다(Fig. 2). 지역적으로는 유입수쪽인 정점 1에서 낮은 상태의 값을 보여주고 있다. 계절적 변화를 보면 3월에 급격히 증가하여 10.7×10^5 - 13.1×10^5 cells/ml의 값으로 여름보다 훨씬 큰 값을 나타내었다. 이는 파로호의 물을 급속히 방류하는 과정에서 저질층이 상층으로 올라오면서 나타나는 현상으로 파악된다. 소양호에서는 수온이 비슷한 4월에 4.86×10^5 cells/ml의 값을(안 등, 1988) 보여 댐의 방류가 큰 변화를 주었음을 보여준다. 일반적으로 빈 영양호에서 총 세균수는 0.51×10^5 - 3.4×10^5 cells/ml, 중영양호에서는 4.5×10^5 - 1.4×10^6 cells/ml, 부영양호에서는 2.2×10^6 - 1.23×10^7 cells/ml의 범위로 측정된다는 보고에 의하면(Rheinheimer, 1985), 파로호는 빈영양상태에서 중영양상태로 전환되는 과정에 있다고 볼 수 있다.

중속영양세균은 1.9×10^3 - 3.1×10^4 CFUs/ml의 값을 보여주어 그 변화 폭이 크게 나타나고(Fig.

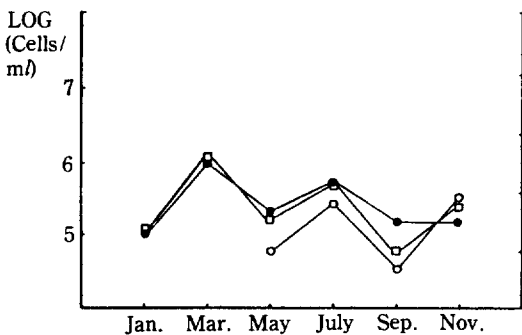


Fig. 2. Seasonal changes of the total bacteria at 3 sites in Lake Paro, 1987. (○: site 1, ●: site 2, □: site 3)

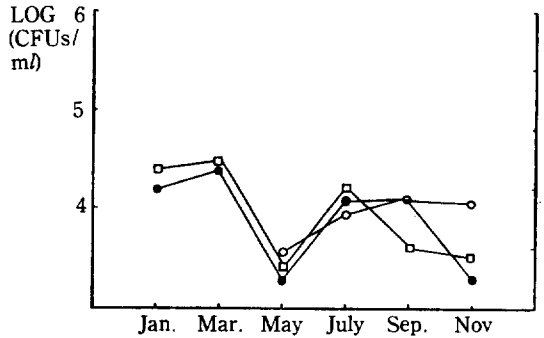


Fig. 3. Seasonal changes of the heterotrophic bacteria at 3 sites in Lake Paro, 1987. (○: site 1, ●: site 2, □: site 3)

3) 소양호의 1.06×10^3 CFUs/ml보다(안 등, 1988) 높은 값을 보여주었다. 지역적, 계절적인 변화를 살펴보면 정점 1을 제외하고는 총 세균수의 변화와 유사하여 1월과 3월에는 1.5×10^4 - 3.1×10^4 CFUs/ml의 높은 값을 보이다가 5월에 줄어들고 다시 7월에 증가하는 현상을 보여, 댐의 방류에 의한 영향을 크게 받았음을 알 수 있었다. 정점 1에서는 9월과 11월에 가장 큰 값을 보여주었다.

중속영양세균중 Alpha-glucosidase를 분비하는 세균은 지역적으로는 큰 차이를 보여주고 있지 않으나, 계절적으로는 큰 변화가 있었다. 즉 3월에는 4.8-6.4%, 5월에는 10.7-12.4%의 비율을 보이고 7월에는 가장 높은 비율을 보여 26.3-75.0%의 값을 나타내었다. 이후 9월, 11월에 그 값이

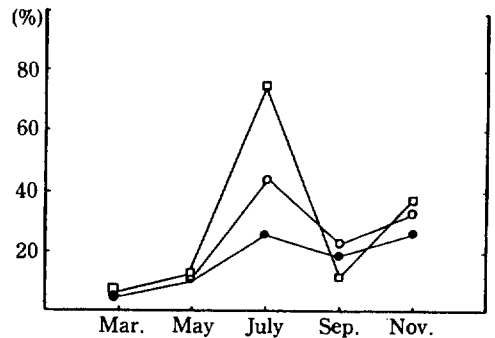


Fig. 4. Seasonal changes of the proportions of alpha-glucosidase releasing bacteria at 3 sites in Lake Paro, 1987. (○: site 1, ●: site 2, □: site 3)

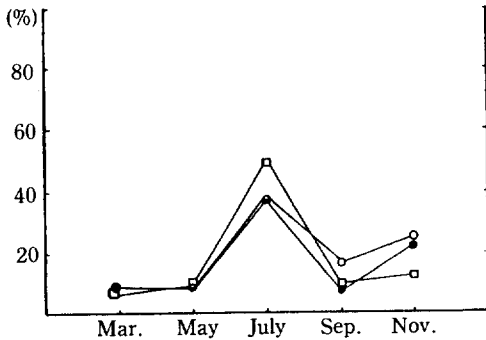


Fig. 5. Seasonal changes of the proportions of beta-glucosidase releasing bacteria at 3 sites in Lake Paro., 1987.

(○: site 1, ●: site 2, □: site 3)

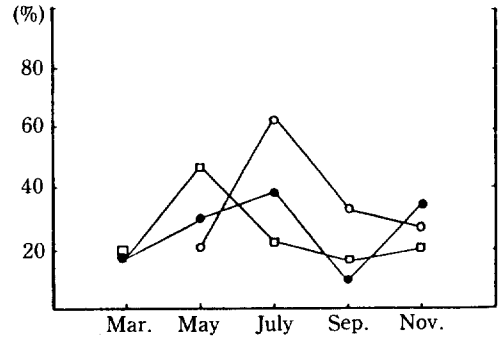


Fig. 6. Seasonal changes of the proportions of phosphatase releasing bacteria at 3 sites in Lake Paro, 1987.

(○: site 1, ●: site 2, □: site 3)

떨어져 11월에는 26.7-37.5%의 범위였다(Fig. 4). Beta-glucosidase를 분비하는 세균도 alpha-glucosidase와 비슷한 변화양상을 갖고 있으나, 전체적으로 그 비율이 작다(Fig. 5). 특히 비교적 안정된 지역인 정점 3에서는 7월에 alpha-glucosidase를 분비하는 세균보다 25% 높았다. 또 두 효소의 출현 비율은 phosphatase의 출현 비율과 달리 각 정점별로 큰 차이없이 일정한 경향을 보이고 있었다. 이러한 이유는 조사기간중 식물성 플랑크톤은 녹조류가 우점하고 있었으며(조 등, 1988b), 이 녹조류의 저장물질인 starch와 세포벽의 구성물질인 cellulose의 분해와 관계가 있는 두 효소의 출현 비율은 식물성 플랑크톤의 소장과 깊은 관계가 있음을 시사하여 준다.

Phosphatase는 유기인산에서 무기인산염을 용탈시키는 효소로서 인이 부영양화의 제한요소인 육수생태계에서는 매우 중요한 효소이다(Chrost, 1987; Wynne, 1977). 이러한 효소중 alkaline-phosphatase의 출현빈도는 3월에 17.5%, 5월에 20.6-47.1%, 7월에 22.7-63.0%, 9월에 9.5-32.8%, 11월에 20.6-34.8%의 범위를 보여주며, 7월에 가장 높은 분포 비율을 보여준다(Fig. 6). 그러나 대암이며 수심이 가장 깊은 정점 3의 경우에는 5월에 47.1%, 7월에 22.7%로 그 비율이 줄어드는 경향을 나타내고 있다. Phosphatase는 유도 효소이며 무기인이 성장 제한요인일 때 세균들이 분비한다(Wynne, 1981). 따라서 정점 3에서는 식물성플랑크톤의 급격한 성장에 의하여 5월에

인산염이 부족하였음을 간접적으로 시사하여 주며, 정점 1에서는 7월에 인산염의 부족이 있었음을 보여준다. 또한 이러한 결과는 정점 3에서 일차생산력이 5월에 최고치를 나타내었다는 결과(조 등, 1988b)와도 부합된다.

전자전달계 활성도(ETSA)는 분해, 호흡량을 측정하는 간접법으로서, 호흡전자 전달계로부터 생성되는 INT formazan의 농도로 ETSA를 구하며 이 ETSA는 산소 소모량, 즉 호흡량과도 일치하고 있다(Packard and Williams, 1981). 파로호에서의 ETSA는 480-1696 $\mu\text{gO}_2/\text{l/day}$ 의 범위였다(Fig. 7). 지역적으로는 유입수인 정점 1이 다른 지역보다 높게 나타나 912-1696 $\mu\text{gO}_2/\text{day}$ 의 활성도를 보였고, 정점 2, 정점 3의 순으로 감소로 갈수록 낮아지는 경향을 보였다. 계절적으로는 식물

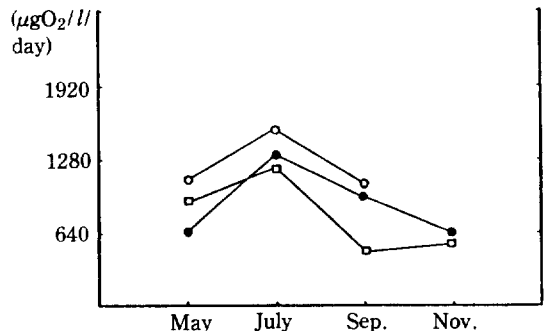


Fig. 7. Seasonal changes of electron transport system activities (ETSA) at 3 sites in Lake Paro, 1987.

(○: site 1, ●: site 2, □: site 3)

성플랑크톤의 활동이 왕성한 7월에 가장 높은 값을 보여주고 있다. 또 대서양의 바다에서는 14-951 $\mu\text{gO}_2/\text{l/day}$ 의 값이 측정되었으나 (Packard and Williams, 1984). 이 지역의 엽록소 a 함량과 기초생산력은 파로호 지역보다 1-1/100 수준으로 낮은 상태 (조 등, 1988a)였음을 보면, ETSA는 식물성플랑크톤의 증식과 큰 관계가 있음을 보여주었다.

Phosphatase에 의한 분해율은 0.4-9.1%/h로 나타났다. 3월에는 0.4%/h로 정점간 차이를 보여주지 않았으나 5월과 7월에는 담양인 정점 3이 유입수인 정점 1보다 높은 분해율을 보였으며, 9월에는 정점 2에서 9.1%/h의 값으로 가장 높았다 (Table 1). 북한강 수계의 소양호와 팔당호에서의 결과와 비교하면 (안 등, 1988) 낮은 분해율을 보이는데, 이는 저질토에서 부상한 인산염의 농도가 높기 때문으로 사료된다. 또한 기질의 분해율 결과와 각 효소 분비세균의 출현 비율을 비교해보면 전반적으로 유사한 변화를 나타내어 각 계절과 지역에 따른 효소의 활성도 및 총량은 그 효소를 분비하는 세균의 분포와 밀접한 관계가 있음을 알 수 있다.

유기물을 기질로 주었을 때 수계환경내에서의 분해에 관한 생리적 활성도는 주위환경의 변화에 매우 민감하게 변하므로 생태계 변화의 좋은 지표가 된다 (Kato, 1985). Acetate를 기질로 주었을 때의 전환율은 유기인산염의 분해율과 달리 7월에 정점 2에서 8.2%/h로 가장 높은 값을 보여, 낙동강 하구의 30%/h (안, 1987)보다 훨씬 낮은 값을 나타내었다. 일반적으로 식물성플랑크톤이 증식하면서 용존유기물질 (DOM)이 많아짐으로 미생물의 활성도가 커지고, 이에 따라 유기물질의 전환율도 높아진다 (Gocke, 1977). 이러한 현상은 파로호에서도 측정되었으며, 유입수인 정점 1에서 1월과 5월에 높게 나타난 것은 식물성플랑크톤의 증가보

Table 1. The fractions of MUF- PO_4 degradation and turnover rate for acetate in Lake paro.

Month	Site	PA(%/h)	HA(%/h)
87.1	1	—	—
	2	—	1.1
	3	—	1.8
87.3	1	—	—
	2	0.4	1.9
	3	0.4	1.1
87.5	1	1.0	3.2
	2	1.5	1.4
	3	2.4	1.9
87.7	1	1.2	—
	2	1.7	0.2
	3	1.6	2.2
87.9	1	4.0	0.3
	2	9.1	0.1
	3	2.2	0.2
87.11	1	2.4	ND
	2	0.6	ND
	3	0.8	ND

*PA: Alkaline phosphatase activity.
 HA: Heterotrophic activity for acetate.
 ND: Not detected.

다는 상류지역에서 내려온 토사 및 저질토의 영향이 더 큰 것으로 사료된다. 또, 낙동강 하구보다 적은 값을 나타내는 것은 하구 지역보다 종속영양세균의 분포가 훨씬 적고, 유기물질인 BOD도 훨씬 적기 때문이다.

이상의 미생물 개체수의 변화와 활성도의 변화를 살펴보면 저질토의 부상에 따라 3월에 총 개체수와 종속영양세균의 개체수는 급격히 증가하였으나, 활성도 및 특정효소 분비 세균의 비율은 증가하지 않았으며, 오히려 이들 값은 식물성플랑크톤의 성장 및 기초생산력의 증가와 더 깊은 관계를 보여주었다.

적 요

최근 평화의 댐 건설에 따른 영향으로 다량의 물을 방류하여 미생물 생태계의 큰 변화가 예상되는 파로호에서 미생물 분포 및 활성도에 관하여 1987년 1월부터 11월까지 격월로 조사, 연구하였다.

총 세균수는 0.3×10^6 - 13.1×10^6 cells/m³의 비교적 낮은 값을 나타내었으며 3월에 급격한 증가를 보여 10.7×10^6 - 13.1×10^6 cells/m³의 최고치를 나타내었다. 종속영양세균은 1.9×10^3 - 3.1×10^4 CFUs/m³의 변화를 갖으며 총 세균수의 변화와 유사

한 경향을 나타내었다.

Alpha- 및 beta-glucosidase를 분비하는 세균의 비율은 지역적인 차이보다는 계절적인 변화가 우세하였으며 Phosphatase를 분비하는 세균의 비율은 22.7-63.0%로 최고치를 나타내었다.

전자전달계 활성도는 $480-1696 \mu\text{gO}_2/\text{l/day}$ 의 변화를 갖으며 지역적으로 유입수에서, 계절적으로 여름에 높았다. 유기인산염의 분해율은 0.4-9.1%/h로 다른 담보다 낮았으며, 수온이 상승함에 따라 분해율이 커졌으며 Phosphatase를 분비하는 세균의 비율변화와 관계가 있음을 알 수 있었다. 종속영양세균의 생리적 활성도는 여름의 최고치가 8.2%/h로 계절적으로 DOM 증가에 따른 활성도의 증가가 관찰되었다.

파로호의 급격한 변화는 세균류의 개체수 변화에 큰 영향을 미쳤으나, 활성도 및 특정효소 분비세균비율에는 영향을 주지 못하였다. 활성도 및 특정효소 분비비율은 계절적 소장이 뚜렷하여, 식물성플라크톤의 증식과 일차 생산력과의 밀접한 관계를 보였다.

사 사

본 논문은 1986년 문교부 대학부설연구소 지원 학술연구조성비의 일부로 수행되었으며, 본 연구를 도와주신 강원대학교 조규송, 김범철 교수님과 실험을 도와준 환경학과 박호완군에게 감사드립니다.

참고문헌

- 안태석, 이동훈, 변명섭, 김범철, 조규송. 1988. 한강상류 인공호에서의 미생물의 분포와 활성도에 관하여. 한국 육수학회지. **21**: 인쇄중.
- 안태영. 1987. 낙동강 하구에서 미생물의 Heterotrophic activity의 계절적 변화와 염분의 영향에 관한 연구. 서울대학교 박사학위논문.
- 조규송, 김범철, 안태석. 1988a. 수자원관리를 위한 인공호의 부영양화에 관한 비교 연구. 한국 육수학회지. **21**: 인쇄중.
- 조규송, 김범철, 안태석, 전상호, 이종범. 1988b. 금강산댐 건설에 따른 북한강 상류 수역의 환경 모니터링에 관한 연구. 한국 육수학회지. **21**: 33-46.
- 한국 수자원개발공사. 1970. 한국의 물자원. 한국 수자원개발공사.
- Atlas, R.M. and R. Bartha. 1986. Microbial ecology 2nd Ed. The Benjamin cummings Pub. Co. Menlo Park. 350-352.
- Burton, G.A. and G.R. Lanza. 1986. Variables affecting two electron transport system assays. *Appl. Environ. Microbiol.* **51**: 931-937.
- Chrost, K. and J. Overbeck. 1987. Kinetics of alkaline phosphatase activity and phosphorus availability for phytoplankton and bacterioplankton in Lake PluBsee. *Microb. Ecol.* **13**: 229-248.
- Gocke, K. 1977. Heterotrophic activity in microbial ecology of a brackish water environment. Ed. by G. Rheinheimer. Springer-Verlag. NY. 198-222.
- Hoppe, H.G. 1983. Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water: measurements by means of methylumbelliferyl-substrate. *Mar. Ecol.* **11**: 299-308.
- Kato, K. 1985. Seasonal observations of heterotrophic activity and active bacterial number in Lake Constance. *Arch. Hydrobiol. Suppl.* **66**: 309-319.
- Kim, S.J. and H.G. Hoppe. 1985. Microbial extracellular enzyme detection on agar plates by means of fluoregenic methylumbelliferyl-substrate. *Prog. 2nd. Int. Coll. Mar. Bacteriol.* 175-183.
- Morita, R.Y., L.P. Jones, R.P. Griffiths, and T.S. Staley, 1973. Salinity and temperature interactions and their relationship to the microbiology of the estuarine environment. In *Estuarine Microbial Ecology*. L.H. Stevenson and R.R. Colwell ed. 221-232. Univ. South Carol. Press.
- Packard, T.T. and P.J. Williams. 1981. Rates of respiratory oxygen consumption and electron transport in surface seawater from the northwest Atlantic. *Oceanological Acta.* **4**:

- 351-358.
15. Pomroy, A.J. 1984. Direct counting of bacteria preserved with Lugol iodine solution. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**: 1191-1192.
 16. Porter, K.G. and Y.S. Feig. 1980. The use of DAPI for identifying and counting aquatic microflora. *Limnol. Oceanogr.* **25**: 943-948.
 17. Rheinheimer, G. 1985. Aquatic microbiology. 3rd ed. John Wiley and Sons. Chichester. 158-159.
 18. Rimes, C.A. and R. Goulder 1986. Suspended bacteria in calcareous and acid headstreams: abundance, heterotrophic activity and downstream change. *Freshwater biology.* **16**: 633-651.
 19. Ruger, H.J. 1984. Temperature effects on respiratory electron transport system(ETS) in psychrophilic and mesophilic marine bacteria. *Veroff. Inst. Meeresforsch. Bremerh.* **20**: 29-40.
 20. Wright, R.T. 1978. Measurement and significance of specific activity in the heterotrophic bacteria of natural waters. *Appl. Environ. Microbiol.* **36**(2): 297-305.
 21. Wright, R.T. and J.E. Hobbie. 1985. The uptake of organic solutes in lake water. *Limnol. Oceanogr.* **10**: 22-28.
 22. Wynne, D. 1977. Alterations in activity of phosphatases during the Peridinium bloom in lake Kinneret. *Physiol. Plant.* **40**: 219-224.
 23. Wynne, D. 1981. The role of phosphatases in the metabolism of Peridinium iucintum, from lake Kinneret. *Hydrobiologia.* **83**: 93-99.
 24. Wynne, D. 1981. Phosphorus, phosphatases and the Peridinium bloom in lake Kinneret. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **21**: 523-527.

(Received June 13, 1988)