

천수만 해역 세균 군집의 수리학적 분석

정현미 · 김명운 · 이건형* · 김상종

서울대학교 자연과학대학 미생물학과,
군산대학 생물학과*

Numerical Analysis of Bacterial Community in Cheonsu Bay

Chung, Hyenmi, Myeong Woon Kim, Keon Hyoung Lee*
and Sang-Jong Kim

Department of Microbiology, College of Natural Sciences,

Seoul National University, Seoul 151-743, Korea

Department of Biology, Kunsan University, Kunsan, Korea*

ABSTRACT : Bacteria isolated from Cheonsu Bay at 4 seasons were analyzed by numerical taxonomic method. Results of 48 morphological, physiological and biochemical tests showed different adaptability of bacteria to temperature in consequence with sampling season and isolated bacteria were able to survive at various environmental conditions. Identification results revealed that Enterobacteriaceae, *Aeromonas*, *Pseudomonas* and *Vibrio* were dominant genera in heterotrophic bacterial community. For each season, *Aeromonas* was most dominant in spring and autumn, *Pseudomonas* and Enterobacteriaceae in summer and winter, respectively. Cluster analysis was performed and all bacteria were clustered into 29 phenetic groups. Seasonal characteristics were distinct in each group. Different physiological characteristics and species compositions for each season contribute to the stability and diversity of environmental ecosystem.

KEY WORDS □ Bacterial population, Numerical taxonomy, Cluster analysis, Seasonal characteristics, Cheonsu Bay.

미생물 군집은 수중 생태계에서 탄소의 순환, 영양물질의 mineralization 등의 역할 이외에도 분해자로서 작용하며 이러한 분해자로서의 기능 및 역할에 관하여는 많은 연구가 진행되어 왔다(Sherr and Sherr, 1988 ; Scavia, 1988 ; Böltter, 1982 ; Larsson et al., 1988). 미생물 군집의 분포에 관한 접근의 방법으로는 미생물 개체수를 측정하는 법(Harvey, 1987), 특정 세균의 수 및 활성도를 측정하는 방법(Väätänen and Sundquist, 1977 ; Simon, 1988) 등 이외에 세균 종구성 및 각 세균 군집간의 유사도 등을 측정하는 방법이 널리 사용되어지고 있다(Austin et al., 1977 ; Bianchi and Bianchi, 1982 ; Gehlen et al., 1985 ; Rhee et al., 1985).

연안 생태계에는 다양한 미생물 군집이 존재하며 또한 같은 종일지라도 그들의 생리적 특성은 서로 다른 차이를 지닐 수 있으며, 이러한 다양성이 자연 생태계내에서 미생물에 의한 자정 작용을 더욱 촉진시킬 수 있다. 미생물 군집의 생리적 다

양성을 나타낼 수 있는 방법으로는, 그들의 형질적인 특성들을 조사하여 각 특성들에 동일한 비중을 두고 각 세균 간의 유사도를 비교하는 수리학적 분류법이 상대적으로 유리함이 알려져 있다(Sneath and Sokal, 1973). 이러한 수리학적 분류법으로부터의 특정 생태계의 미생물 군집의 분포 및 안정성에 관한 정보는 생태계의 자정능력 이해의 한 중요한 도구가 될 수 있을 것이다.

본 연구에서는 우리나라 서해안의 대표적 내만 지역인 천수만을 대상으로 6개의 채수 정점에서 4계절 동안 분리한 세균에 대한 수리학적 분류를 수행하였다.

재료 및 방법

조사지역 및 세균분리

황해 연안의 중부 지역에 위치한 천수만 해역의 6개 정점으로부터 1985년 10월부터 1988년 7월 사

이의 4계절(1월, 5월, 7월, 10월)에 걸쳐 총 294개의 균주를 순수 분리하였다(Fig. 1).

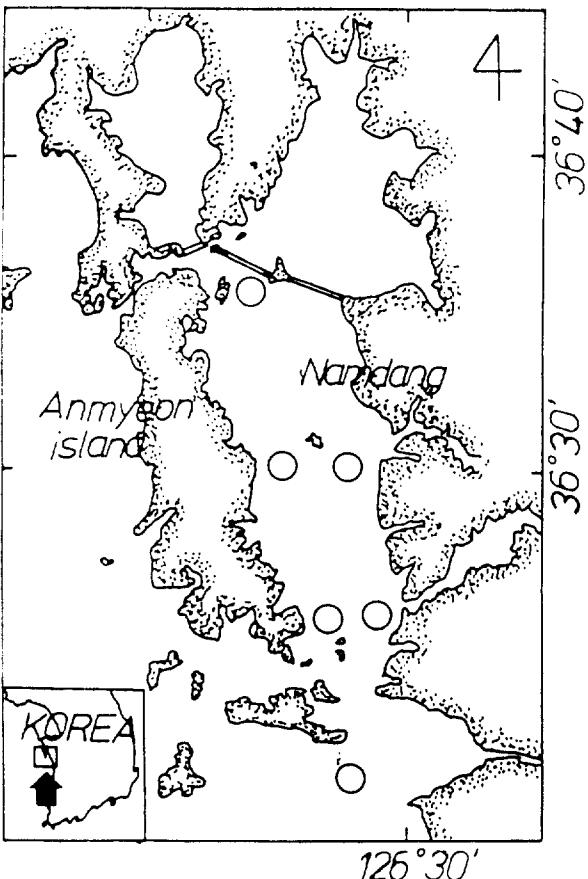


Fig. 1. Map of research area and sampling sites. Open circles are sampling sites.

천수만은 만 입구가 남쪽에 있고 남북 방향으로 뻗어 있는 만으로, 후빙기의 해수면 상승에 의해

침수되어 형성된 것으로 보여지는 전형적인 내만으로 (박, 1976) 남북 방향으로 길이가 약 30km, 동서 방향으로 폭이 4~5km이며, 만 입구의 폭은 약 2km 정도이다. 평균조차는 약 4.7m로 매우 크며, 대조시에는 9m 이상 되는 경우도 있다. 이러한 큰 수위변화를 지니는 조석이 외만에서 좁은 만 입구로 전파될 때 강한 조류가 발생하며, 이로 인하여 만내의 순환이 매우 활발하다.

동 정

순수 분리된 균주는 Table 1에 수록되어 있는 특성들을 분석하여 동정하였으며 모든 균주는 Shewan 등(1960)의 분류 체계와 Bergey's manual of systematic bacteriology(Krieg and Holt, 1984)를 참고하여 속(genus)까지 동정하였다. 각 실험에서 사용한 배지조성은 Manual of Methods for General Bacteriology(Gerhardt *et al.*, 1981)과 Biochemical Tests for the identification of medical bacteria(MacFaddin, 1980)을 참조하였다.

수리학적 분류

분리균주의 형태적, 생리적, 생화학적 실험 결과를 가지고 수리적인 분류(numerical taxonomy)를 수행하였다. 유사도는 simple matching coefficient (S_{sm})로 나타내었고(Sneath, 1957), cluster analysis는 균주 특성간의 평균유사도를 비교하는 average linkage clustering 방법을 이용하였다(Pielou, 1984 ; Sneath and Sokal, 1973). 또한, 각 계절별로 동정된 세균 군집의 비율로부터 Shannon's diversity index를 계산하였다(Atlas, 1984).

결 과

각 계절별로 분리된 세균은 봄 90종, 여름 48종, 가을 93종, 겨울 63종, 총 294종으로 각각 전체 세균의 30.6, 16.3, 31.6, 21.4%를 차지하였다. 종속 영양 세균 군집의 생태학적 특성과 다양성을 이해

Table 1. Tests used for the taxonomic study of isolated bacteria from Chunksu Bay

Micromorphology : colony shape, pigmentation, cell shape, motility

Growth characteristics : Growth at 4, 37, 44°C

Growth at pH 4, pH 10

Growth at 0%, 1.6%, 3.5%, 10% NaCl

and KCl equimolar to 1.6% NaCl

Biochemical characteristics : Aesculin hydrolysis, catalase production, citrate utilization, gas production, iodine, KCN resistance, MR, O/F of glucose, oxidase production, TSI, urease production, VP

Substrate utilization : Casein hydrolysis, gelatin liquefaction, lipase production, starch hydrolysis

Utilization of substrates as a sole C-source : malonate, carbohydrates fermentation(1% adonitol, arabinose, dulcitol, fructose, galactose, inositol, lactose, mannitol, raffinose, rhamnose, sorbitol, sucrose and 0.5% salicin).

Table 2. Features of selected characteristics in bacterial population isolated from Chunsu Bay relative to season.

SEASON	SPRING	SUMMER	AUTUMN	WINTER
No. of isolates	90	48	93	63
Character				
Gram stain	--	--	--	--
cell morphology	R	RR	RR	RR
mobility	++	++	+	++
pigment	-	--	-	d
OF test	f	f	f	o
oxidase	++	+	+	d
catalase	++	++	++	++
Degradation of starch	--	--	-	d
Tween-80	--	--	-	--
gelatin	d	-	-	-
Growth at/in				
4°C	++	d	d	+
44°C	--	++	++	d
pH 4	++	-	++	++
pH 10	++	++	++	++
NaCl 0%	++	+	+	++
NaCl 7%	++	+	d	++
KCl	+	+	d	++

++ : >80%, + : 60-80%, d : 40-60%, - : 20-40%, -- : <20%, R : rod-shaped

하기 위하여 세균의 형태적, 생리학적, 생화학적 특성을 조사하였으며 천수만에서 분리된 균주의 특성은 Table 2와 같다. 천수만의 종속영양세균 군집은 분리된 균주의 특성이 대부분 Gram 음성의 간형으로 운동성을 가지나 색소를 지니지 않는 형태적 특성을 나타내었고, 생리적으로는 fermentative metabolism을 수행하고 catalase와 oxidase를 지녔다. 환경변화에 대한 적응력은 매우 뛰어나 대부분이 pH 4 - pH 10의 범위에서 생존력을 보였고 다양한 염분도의 변화에서도 생존하였다.

온도의 변화에 대하여 여름, 가을에 분리된 세균은 섭씨 4도의 낮은 온도에 대한 생존율이 낮은 반면, 봄과 겨울에 분리된 세균은 80% 이상의 높은 생존율을 보였고, 섭씨 44도의 고온에서는 그 반대의 현상을 나타내어 수온에 대한 뚜렷한 내성 관계를 지니고 있음이 관찰되었다.

본 조사지역의 세균을 동정한 결과 Enterobacteriaceae, Aeromonas, Pseudomonas, Vibrio, Flavobacterium 및 Achromobacter가 분류 균주의 88.0%를 차지하여 우점종으로 나타났으며 그 밖에 Zymomonas, Aerococcus, Neisseria, Branhamella, Acinetobacter, Bacillus, Micrococcus, Lucibacterium 등이 출현하였다.

계절에 따른 조성의 변화는 Fig. 2에서와 같이 봄, 가을철에는 Aeromonas가, 여름에는 Pseudomon-

as 가, 그리고 겨울에는 Enterobacteriaceae가 각각 제1우점종을 차지하였다. 또한 Enterobacteriaceae 가 봄, 여름, 가을철에 제2우점종으로 나타나 계절에 상관없이 Enterobacteriaceae가 높은 비율로 존재함을 보여주었다. 우점종으로 나타난 6개의 Genus 중에서 운동성이 없는 Achromobacter와 Flavobacterium은 여름과 겨울철에만 출현하였다. 계절에

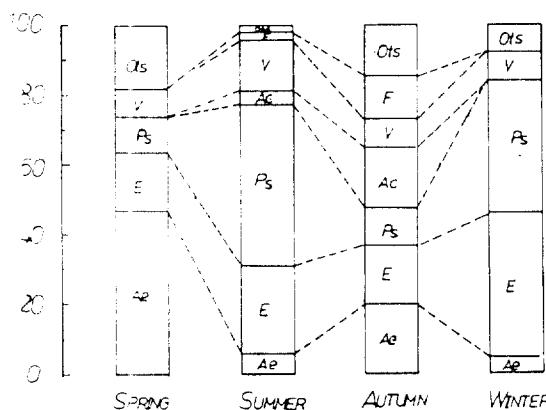


Fig. 2. Percent distribution of dominant bacteria isolated from Cheonsu Bay (Ac, Achromobacter; Ae, Aeromonas; E, Enterobacteriaceae; Fl, Flavobacterium; Ps, Pseudomonas; V, Vibrio; Ots, Others).

따른 출현 속의 종류는 여름철이 가장 적고, 봄철과 가을철에 다양하게 출현하였으며 각 계절마다 Enterobactericeae, Aeromonas, Pseudomonas의 우점종이 차지하는 비율은 가을철이 48%로 가장 낮고, 겨울철이 84%로 가장 높게 관찰되었다.

Shannon의 diversity index는 여름철에 가장 낮고 가을철에 가장 높은 지수를 나타내었으며 1.367에서 2.020의 값을 보였다(Fig. 3).

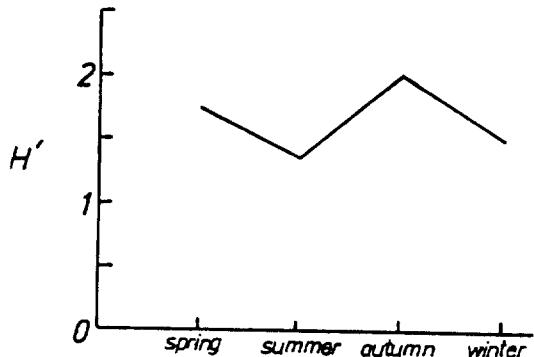


Fig. 3. Shannon's diversity indices by the identification tests result.

분리된 균주들의 생리적, 형태적, 생리학적 48 가지 특성 간의 유사도를 가지고 cluster analysis를 행한 결과 천수만의 세균 군집은 75%의 통계학적 유사도 수준에서 총 29개의 phenetic group으로 나뉘어졌다.

계절적으로는 75%의 동일한 유사도 수준에서 봄철에는 14개, 여름철에는 10개, 가을철에는 12개, 겨울철에는 17개의 group으로 나뉘어져, 출현 세균의 다양성이 여름에 적고 겨울에 크게 나타났다. 이들중 1~3개의 균주로 이루어진 소 group을 제외하면 크게 15개의 phenetic group으로 분리되었다(Fig. 4). 주요 group별 형질 특성은 Table 3에 있다. 제1group인 cluster 6는 49%가 *Aeromonas*로서 봄철에 분류된 세균이 67%를 이루며 65%가 gelatinase를 분비하였다. 제2group인 cluster 7은 *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio*가 주종을 이루며, 가을에 분리된 세균 군집이 전체의 77%를 차지하였다. Cluster 7의 세균들은 7%의 KCl의 존재에 대한 생존율이 10%에 불과하였고, 0%의 NaCl에서는 불과 29% 만이, 7% NaCl에는 49%가 생존하여, 염분도의 변화에 매우 민감하였다. 또한 cluster 8, 9, 15는 각각 가을, 겨울, 여름에 분리된 세균이 주를 이루었으며 특히 cluster 15는 대부분이

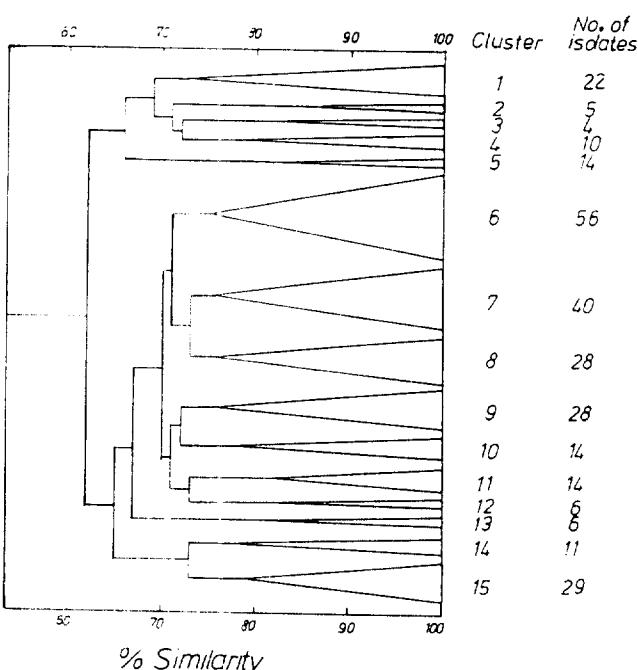


Fig. 4. Dendrogram of percent similarity for bacterial isolates from cheonsu Bay.

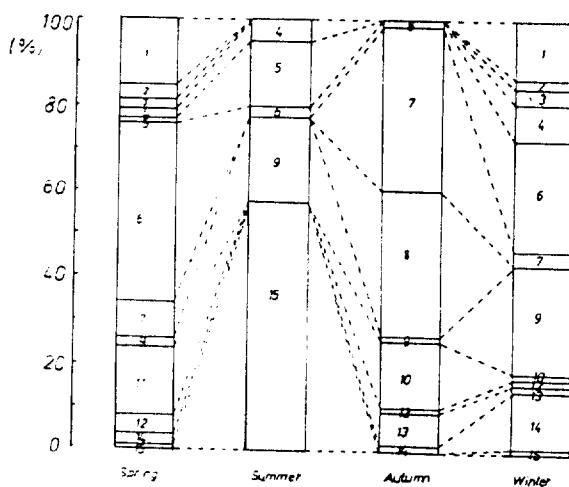


Fig. 5. Seasonal variation of the 15 phenetic groups of bacterial isolates from Cheonsu Bay.

oxidative metabolism을 행하고, 산성 및 낮은 염분도에 대하여 매우 민감하였다.

따라서 각 cluster들 간에는 분리세균의 계절별 편중현상이 뚜렷하며, 계절에 따라 세균군집의 종조성이 크게 변화함을 나타내어 주었다. 주요

Table 3. Features of selected characteristics in bacterial population isolated from Chunsu Bay relative to some clusters.

Cluster	6	7	8	9	15
No. of isolates	54 (37,7,7,75)*	40 (7,0,31,2)*	28 (0,0,28,0)*	25 (2,8,1,14)*	25 (1,23,0,1)*
Character					
Gram stain	++	++	++	++	++
cell morphology	++	++	++	++	++
motility	++	+	+	++	++
pigment	-	-	-	--	--
oxidase	+	++	+	+	+
catalase	++	++	++	++	++
Degradation of					
starch	--	--	-	d	--
Tween-80	--	--	d	-	--
gelatin	+	--	--	+	d
Growth at/in					
4°C	+	d	d	-	+
44°C	++	+	++	++	+
pH 4	++	++	++	++	--
pH 10	++	+	++	++	++
NaCl 0%	++	-	++	++	-
NaCl 7%	+	d	+	++	++
KCl	++	--	++	++	+

++ : >80%, + : 60-80%, d : 40-60%,

- : 20-40%, -- : <20%

* Number of isolates from spring, summer, autumn and winter, respectively.

phenetic group간의 계절별 변화 양상은 Fig. 5에서 보듯이 매우 크게 변화하여 봄에는 cluster 6이, 여름에는 cluster 15가, 가을에는 cluster 7과 8, 겨울에는 6과 9가 각기 주류를 이루며 출현하였다.

고 찰

수중 생태계의 미생물 군집의 다양성을 보다 정확히 이해하기 위하여는 우선 수리학적 분류를 위한 각 세균 특성에 관한 조사(test의 종류)가 다양하여야 하며 이러한 통계적 유의 수준의 증가를 배경으로 하여 세균 군집의 분석이 수행되어져야 한다(Pielou, 1984). 본 연구에서는 총 48가지의 형태학적, 생리적, 생화학적 실험을 수행하여 통계적 유의수준을 높였으며 이로부터 동일한 비중이 주어진 각 형질에 의한 세균 사이의 평균 유사도를 비교하는 unweighted average clustering 방법을 사용하여 taxonomy를 실행하였다.

분리된 세균의 특성 분석 결과로부터(Table 2) 계절에 따라 천수만에 분포하는 세균 군집의 특성을 이해할 수 있다. 즉 세균의 분리 시기에 따라 각 세균들의 온도 적응 범위가 상이한 결과는, 물리적 환경 요인의 변화가 자연 생태계 내의 특정 세균 군집에 대하여 선택적으로 작용(selective for-

ce) 하였음을 시사하여 준다.

종 조성을 조사하는 것은 연안 해역 생태계의 구조적 특성을 이해하기 위한 필수적인 작업이다.

Simidu 등(1962)은 일본의 Kamogawa Bay에서 *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*를 우점종으로, Murchelano(1967)는 미국의 Narragansett Bay에서 *Flavobacterium*, *Pseudomonas*를 우점종으로 보고하였다. 국내에서는 *Aeromonas*, *Vibrio*, *Pseudomonas* 등이 확인되었다(Kwon, 1987).

본 조사해역에서는 분리한 세균들의 형태적, 생리학적, 생화학적 특성을 조사한 결과 전형적인 해양 세균의 특성인 Gram 음성의 간형과, 운동성을 보여 토양성 세균과는 좋은 대조를 보여 주었다(Rheinheimer, 1980).

염분도에 따른 성장 여부를 조사해 본 결과 3.5% NaCl에서 모든 균주가 성장 가능하나 NaCl이 없는 상태에서는 74%만이 자라 halotolerant 특성을 보였다. 또한 NaCl 대신에 KCl을 넣어 주었을 때 성장 가능한 균주가 크게 감소하여 해양 세균의 성장에 있어서 NaCl은 필수적이며, 단순히 osmotic pressure를 유지하기 위해서 뿐 아니라 세포가 생장하는 데에도 필요하다는 사실을 확인할 수 있었다.

Shannon에 의한 diversity index(Fig. 3)를 보면

가을에 최고값을, 그리고 여름에 최저값을 나타내었는데 이는 Fig. 2의 종조성과 연관하여 볼 때 가을에 세균 종의 다양함과 고른 분포로 인한 결과임을 알 수 있다. 즉, Shannon index는 종의 수에 비례하기 때문에 이로 인하여 가을의 값이, 봄, 겨울에 비하여 높게 나타남과 동시에, 같은 수의 종을 가진 여름의 index값이 *Pseudomonas*와 *Enterobacteriaceae*의 우점종(35 strain; 72.9%)에 의하여 크게 감소되었기 때문으로 사료되어진다(Atlas, 1984). 계절에 따라 다른 종조성은 또한 수온 등의 환경 요인에 의한 영향이 그 주된 원인으로 보이며, 이는 여름철에는 비교적 높은 수온에서 특히 성장속도가 빠른 일부 미생물군집이 주종을 이루나 수온이 점차 떨어지는 가을철에는 미생물군집 간의 경쟁이 다시 활성화되면서 다양한 세균들이 출현하는 양상으로부터도 알 수 있다.

세균 군집의 종 조성의 특성을 수리학적 분석에 의하여 조사하였으나, 75%의 유사도 수준에서 크게 15개의 집단으로 구분되었다. 이들 중 대 집단인 집단 6은 봄에 분리된 균주가 50% 이상을 차지하였고, 집단 7과 8은 가을에 분리된 균주가, 집단 15는 여름에, 집단 9는 겨울에 분리된 균주가 대부분을 차지하여 계절의 변화에 따라 연안 해역에 존재하는 미생물 군집의 우점종이 각각 다르게 존재하며 동일한 계절에 출현하는 미생물 군집 사이에는 유사한 생리적 특성이 있음이 관찰되었다.

이상의 결과로부터 천수만 내역 생태계에 분포하는 세균 군집은 계절에 따라 상이하게 구성되어 다양한 생리적 상태로서 존재하며 이러한 세균 군집의 작용이 생태계의 안정적 유지에 기여할 수 있음을 시사하여 준다.

적  요

서해안의 대표적 내만인 천수만 해역에서 4계절간 분리한 세균들을 대상으로 수리학적 분류를 실시하였다. 총 48가지의 형태학적, 생리적, 생화학적 실험 결과 분리된 계절에 따라 온도에 대한 서로 다른 적응 양상을 보여 주었으며, 전체적으로 다양한 환경변화에 높은 생존 능력을 보여주었다. 각 세균을 동정한 결과 *Enterobacteriaceae*, *Aeromonas*, *Pseudomonas*, *Vibrio* 등이 우점종으로 나타났으며, 계절별로는 봄, 가을에 *Aeromonas*가, 여름 및 겨울에는 각각 *Pseudomonas*과 *Enterobacteriaceae*가 제1우점종임이 발견되었다. Cluster analysis 결과 전체 세균 군집은 75%의 유사도 수준에서 총 29개의 phenetic group으로 나뉘어졌으며 각 group별로 계절적 구분이 뚜렷하였다. 전제적으로 계절에 따른 서로 다른 생리적 특성과 종 구성이 전반적인 생태계에의 다양성과 안정성을 높여주는 것으로 나타났다.

사  사

본 연구는 1987년도 문교부 기초 과학 연구비 지원에 의하여 수행되었음.

REFERENCES

1. 박동원, 1976. 원격탐사에 의한 서해안 천수만 간석지 지형연구, 과학기술처, R-76-72, p. 83.
2. Atlas, R.M. 1984. Diversity of microbial communities. In : K.C. Marshall ed. *Advances in microbial ecology*. Plenum Press. New York and London.
3. Austin, B., J.J. Calomiris, J.D. Walker and R.R. Colwell. 1977. Numerical taxonomy and ecology of petroleum-degrading bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 34 : 60~68.
4. Bianchi, M.A.G. and A.J.M. Bianchi. 1982. Statistical sampling of bacterial strains and its use in bacterial diversity measurement. *Microb. Ecol.* 8 : 61~69.
5. Böltter, M. 1982. Submodels of a brackish water environment : II. Remineralization rates of carbohydrate and oxygen consumption by pelagic microheterotrophs. *Mar. Ecol.* 3 : 233~241.
6. Gehlen, M., H.J. Trampisch and W. Dott. 1985. Physiological characterization of heterotrophic bacterial communities from selected aquatic environments. *Microb. Ecol.* 11 : 205~219.
7. Gerhardt, P., R.G.E. Murray, R.N. Costilow, E.W. Nester, W.A. Wood, N.R. Krieg and G.B. Phillips. Manual of Methods for general bacteriology. ASM. Washington, DC.
8. Harvey, R.W. 1987. A fluorochrome-staining technique for counting bacteria in saline, organically enriched, alkaline lakes. *Limnol. Oceanogr.* 32 : 993~995.
9. Krieg, N.R. and J.G. Holt. 1984. Bergey's manual of systematic bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland.
10. Kwon, O.S. 1987. Analysis of environmental factors and characterization of heterotrophic bacterial communities in Nakdong Estuary. Ph. D. thesis, Seoul National University, Seoul.
11. Larsson, P., L. Okla and L. Tranvik. 1988. Microbial degradation of xenobiotic, aromatic pollutants in humic water. *Appl. Environ. Microbiol.* 54 : 1,864~1,867.
12. MacFaddin, J.F. 1980. Biochemical tests for identification of medical bacteria. 2nd ed. Williams and Wilkins. Baltimore, Maryland.

13. **Murchelanno, R.A.** 1967. Heterotrophic bacteria in Narragansett Bay and their ability to regenerate phosphate from *Skeletonema costatum*. Ph. D. thesis. University of Rhode Island, Kingston.
14. **Pielou, E.C.** 1984. The interpretation of ecological data. Wiley & Sons, New York.
15. **Rheinheimer, G.** 1980. Aquatic microbiology, 2nd ed. John Wiley & Sons, London.
16. **Rhie, Y., S.-J. Kim, Y.-C. Hah and S.-W. Hong.** 1985. Potentiality of bacterial degradation of oil in coastal water. *J. Kor. Wat. Pollut. Res. Contr.* **1**: 1~8.
17. **Scavia, D.** 1988. On the role of bacteria in secondary production. *Limnol. Oceanogr.* **33**: 1,220~1,224.
18. **Sherr, E. and B. Sherr.** 1988. Role of microbes in pelagic food webs : A revised concept. *Limnol. Oceanogr.* **33**: 1,225~1,227.
19. **Shewan, J.M., G. Hobbs and W. Hodgkiss.** 1960. A determinitive scheme for the identification of certain genera of Gram-negative bacteria, with special reference to the Pseudomonadaceae. *J. Appl. Bacteriol.* **23**: 379~390.
20. **Simidu, U. and K. Asio.** 1962. Occurrence and distribution of heterotrophic bacteria in seawater from the Kamogawa Bay. *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.* **23**: 1, 133~1,141.
21. **Simon, M.** 1988. Growth characteristics of small and large free-living and attached bacteria in Lake Constance. *Microb. Ecol.* **15**: 151~163.
22. **Sneath, P.H.** 1957. The application of computers to taxonomy. *J. Gen Microbiol.* **17**: 201~226.
23. **Sneath, P.H. and R.R. Sokal.** 1973. Numerical taxonomy. Freeman, San Francisco.
24. **Väätänen, P. and J. Sundquist.** 1977. Microbial cellulolytic activity of the brackish water in the Tvärminne area, northern Baltic Sea. *Int. Revue. ges. Hydrobiol.* **62**: 797~804.

Received Aug. 24, 1989.