

군산 내만의 해양수에서 분리되는 세균의 분포

최민순[†] · 심현빈 · 정경민*

군산대학교 해양과학대학 해양생명의학과, *국립 수산물검사소 통영지소

군산내만 해역의 해양생태계에 관한 기초자료를 얻기 위하여 금강 하구로부터 외항까지 5개의 정점을 선정하여 종속영양 세균상의 분포를 조사하였다. 조사지역으로부터 123개의 집락을 분리-동정한 결과 *Vibrio* spp.(44주, 35.7%), 및 *Pseudomonas* spp.(42주, 34.1%), 균종이 비교적 높게 출현하였고 *Aeromonas* spp.(11주, 8.9%), *Moraxella* spp.(9주, 7.3%), *Escherichia coli*(6주, 4.8%), *Bordetella* spp.(3주, 2.4%), *Alkaligenesis* spp.(3주, 2.4%), *Flavobacterium* spp.(2주, 1.6%), and *Staphylococcus* spp.(3주, 2.4%)등은 낮은 출현율을 나타냈다. 한편, 각 총 정점의 생균수는 $5 \times 10^3 \sim 1 \times 10^5$ CFU/ml이었으며, 생활 하수가 많이 유입되는 지역(정점 2.3)이 강 하구 및 외항지역보다 높은 검출율을 보였다. 이러한 결과는 도시의 생활 오·하수 및 산업 부산물 등의 유입으로 내만의 수질 악화가 지속적으로 진행되고 있는 것으로 추정된다. 따라서 양식사업에 있어서 문제시 되고 있는 어류의 세균성 질병의 발생이 증가될 것으로 사료되어진다.

Key words : Kunsan bay, Total heterotrophic bacteria, Dominant species, Bacterial flora

서해 연안은 간석지가 넓을 뿐만 아니라 조수간만의 차가 크기 때문에 천해어장으로서 커다란 장점을 가지고 있다. 그렇지만 최근 새만금 간척사업 등으로 인해 조류 유통의 변화에 따른 해양생태계의 변화가 빠르게 진행되어 천해 어장의 황폐화 및 노후화를 가속화 시킬 가능성이 매우 높기 때문에 해양생태계의 환경 변화에 관한 관심이 고조되고 있다.

특히 군산내만은 충청 내륙을 지나는 금강과 접하므로 하구 생태계와 마찬가지로 생활 및 축산 오폐수등의 유기물을 함유한 담수 및 해수가 자유로이 교차되는 기수환경으로 생물학적 생산성이 높은 곳이다. 최근 군장국가공단이 활성화되어집에 따라 인구의 증가와 산업의 발달로 각종 오염원의 유입이 증가되어 내만 유역의 부영양화 및 다양한 오염 현상뿐만 아니라 환경위생에 심각한 문제로 대두될 가능성이 높다.

한편, 해양생태계에서 미생물은 유기물의 분해 및 재합성을 수행하여 물질순환에 관여할 뿐만 아니라 용존된 영양물질을 생체내에 흡수하여 고등 생물들에게 에너지를 공급하는 중요한 역할을 담당한다(Reinheimer, 1985). 그렇지만, 미생물의 종

류, 군집의 크기 및 분포등은 다양한 물리·화학적 환경에 영향을 받기 때문에 해양 미생물총에 대한 연구의 중요성이 강조되고 있다(Wimpenny et al., 1983; Novitsky, 1983).

따라서 이 해역에 분포하고 있는 세균의 분포상을 조사 하는 것은 해양 생태계의 기본적인 생물학적 환경의 변화상태를 예측 할 수 있을 뿐만 아니라 향후 양식어류의 세균성 질병의 예방대책에 중요한 기초자료가 될 것으로 사료된다. 이에 본 조사에서는 고군산 지역으로 유입되는 군산 앞 인근 해역의 종속영양세균총을 조사하였던 바 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

조사지역 및 채수

본 조사는 군산 내만(Fig. 1)의 하구로부터 외항 까지의 5개 조사점을 선정하여 1999년 9월 중순경에 실시하였다. 채수는 멀균한 시료병에 기급적 무균적으로 채수하였으며, 시료는 냉장상태로 신속히 실험실로 운반하여 처리하였다.

생균수 측정

생균수의 측정은 Taga(1968) 및 Buck and

*Corresponding author

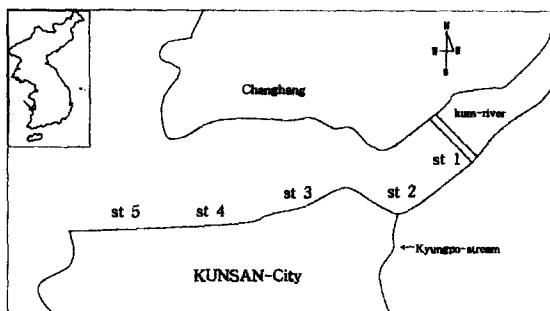


Fig. 1. Location of the sampling stations (Kunsan bay)

Table 1. Composition of PPES-II medium

Polypeptone	2.0 g
Proteose-peptone No. 3	1.0 g
Bacto-soytone	1.0 g
Bacto-yeast extract	1.0 g
Ferric citrate	1.0 g
Agar	15.0 g
Sea water	1.0 l
pH	7.6~7.8

Cleverdon(1960)의 방법에 준하였다. 즉 PPES-II 배지(Table 1)에 평판 도말법으로 접종하여 나타난 집락을 CFU(colony forming unit)로 계산하였다. 이때 PPES-II 배지에 사용한 각 시약들은 Difco사 제품이며, 해수는 청정해역에서 채수한 것을 $0.45 \mu\text{m}$ Milipore filter로 여과한 후 사용하였다.

세균의 분리 및 동정

PPES-II 평판배지로부터 분리한 균들 중 *Pseudomonas* spp., 및 *Flavobacterium-Cytophaga*는 Shewan(1971), *Enterobacteriaceae*는 Krieg and Holt(1984), *Moraxella*와 *Acinetobacter*는 Baumann *et al.*(1968)방법에 준하였고, *Vibrio* spp.는 TCBS(Thiosulphate citrate bile salt sucrose agar, Difco)배지를 이용한 Davis and Sizemore(1982)의 방법에 따랐다. 즉, Gram 염색 후, gas 및 유화수소 생성능은 TSIA(Triple sugar iron agar, Difco)배지로, 운동성 및 Indole생성능은 SIM(Sulfite Indole Motility)배지를 이용하여 조사하였다. 한편, Hugh-Leifson배지를 이용하여 glucose 발효능을 검사하였으며, 상법에 따라서 oxidase 및 catalase test를 실시하였다.

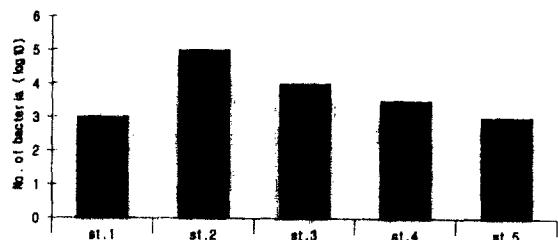


Fig. 2. The stational changes of total bacteria isolated (CFU/ml) in Kunsan bay.

결과 및 고찰

조사 정점별 총생균수의 분포

각 정점별 총균수는 Fig. 2에 나타낸 바와 같다. 즉 station 2(경포천 수문, 10^5 cfu/ml)에서 고빈도, station 3(어판장, 10^4 cfu/ml) 및 station 4(공단지역, 5×10^3 cfu/ml)에서는 중등도, 그리고 station 1(하구둑, 10^3 cfu/ml)과 station 5(외항 10^3 cfu/ml)는 저빈도의 생균수가 검출되었다. 일반적으로 만이나 간조 수역은 외해보다 종속영양 세균의 수가 많을 뿐만 아니라, 활성도 또한 높은 것으로 알려지고 있다(Stevenson and Erkenbrechen, 1976). 본 조사에서도 정점별 총균수의 분포는 도시의 하수 및 산업 폐수가 직접 유입되는 내만 쪽에서 현저하게 높았고, 외해쪽으로 이동할수록 낮아지는 경향을 보였다. 이러한 결과는 또한 여수 연안해역 및 북신만에서 종속영양세균이 각각 1×10^3 - 3.0×10^4 cfu/ml, 및 1.5×10^3 - 3.6×10^6 cfu/ml로 검출되었다는 보고(최, 1995; 신 및 정, 1996)와 일치되었다. 그러나 원문만 해역 및 진해만 수계에서 각각 10^3 - 10^7 cfu/ml 및 10^4 - 10^8 cfu/ml의 균이 검출되었다는 타 보고(박 등, 1991; 이 등, 1986)의 결과에 비해 낮게 나타났다. 이러한 차이점은, 금강하구둑(정점 1) 지점이 도시 생활오수 및 산업폐수가 유입되는 정점들(2-4)에 비해서 총균수가 비교적 낮게 나타난 결과(Fig. 2)로 미루어 본 조사 해역이 지정학적으로 도시 하수 및 산업오수 등 폐수의 부영양화 물질의 유입 뿐만 아니라 비교적 빈 영양상태인 내륙수(금강)의 유입에 따른 것으로 추정된다.

군산내만에서 분리된 세균의 특성 및 출현 비율

본 조사에서 분리된 123주 중 세균별 분리 비율을 보면, *Vibrio* spp.(44주, 35.7%), *Pseudomonas*

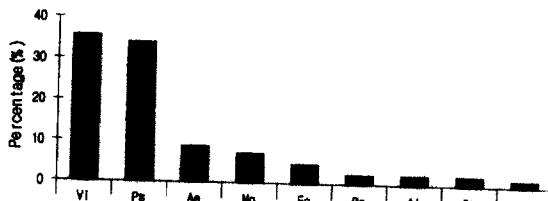


Fig. 3. Appearance rate of bacteria in Kunsan bay.
Abbreviation: Vi-Vibrio spp., Ps-Pseudomonas spp., Ae-Aeromonas spp., Mo-Moraxella spp., Ec-Escherichia coli., Bo-Bordetella spp., Al-Alkaligenes spp., St-Staphylococcus., Fl-Flavobacterium spp.

spp.(42주, 34.1%), *Aeromonas* spp.(11주, 8.9%), *Moraxella* spp.(9주, 7.3%), *Escherichia coli*(6주, 4.8%), *Bordetella* spp.(3주, 2.4%), *Alcaligenes* spp.(3주, 2.4%), *Staphylococcus* spp.(3주, 2.4%) 및 *Flavobacterium* spp.(2주, 1.6%) 순으로 나타났으며(Fig. 3), 우점종은 *Vibrio* spp. 및 *Pseudomonas* spp.이었다. 이러한 결과는 인도양, 태평양 해역에서 분리한 종속영양세균의 분류 조사에서 이들 균 종이 해양고유의 우점종이라는 타 보고(Johnson et al., 1968; Sieburth, 1971)와 일치한다. 그렇지만 군산 연안해역의 해수 및 퇴적토 등에서 분리된 균주중 간균이 55.9% 및 82%이었으며, 이때 *Pseudomonas* spp., *Flavobacterium* spp., *Micrococcus* spp. 및 *Citrobacter* spp. 우점종 이었다는 일련의 보고(이, 1987; 이 등, 1991) 및 중국해에서 분리한 74균주 중 *Pseudomonas* spp.(40주, 54%), *Vibrio* spp.(10주, 14%), *Enterobacteriaceae*(10주, 14%) 및 *Flavobacterium-cytophaga*(6주, 8%)순으로 나타난 보고(신 및 정, 1996)와 차이를 보였다. 한편, 분리된 모든 균주는 통상적으로 양식장 사육수에서 검출되는 균종에 속하였다(Austin and Austin, 1989). 즉 해산어 사육수 유래균은 *Vibrio* spp. 담수어 사육수 유래균은 *Aeromonas* spp., *Moraxella* spp., *Alcaligenes* spp. 및 *Bordetella* spp., 해산어 및 담수어 사육수의 공통 검출 균은 *Pseudomonas* spp., *Escherichia coli*., *Staphylococcus* spp. 및 *Flavobacterium* spp.이었다. 한편 분리균주 중 *Vibrio* spp.(44주, 35.7%) 및 *Pseudomonas* spp.(42주, 34.1%) 가 우점종으로 출현하여 전체의 69.8%(86주)로 나타난 결과로 미루어 해산어 및 담수어의 양식장에서 *Vibrio* 및 *Pseudomonas*종이

빈발하였을 것으로 추정 되나 본 조사만으로서는 명확히 구명할 수 없었다.

각 정점별 출현균주의 비율 및 특성

각 station별 검출균의 특성은 Fig. 4에 나타내었다. 내륙수, 도시 및 산업 오폐수가 유입되는 내만지역(1-4 station)의 경우에는 *Vibrio* spp. 및 *Pseudomonas* spp. 가 우점종으로 출현하였고 출현빈도가 낮기는 하지만 담수 및 도시의 생활오수에서 주로 검출되어지는 *Aeromonas* spp. 및 *E. coli*가 분리된 결과로 미루어, 이 지역이 내륙수 및 도시오수의 영향을 지속적으로 받는 것으로 추정되었다. 한편, 신 및 정(1996)은 여수 연안해수에서 분리한 100균주중 *Enterobacteriaceae*가 60주, *Vibrio* spp. 20주, *Pseudomonas* spp. 12주 순으로 검출되어, *E. coli*가 우점종으로 나타난 원인은 채수 전일의 강우량 때문인 것으로 추정한 보고로 미루어 내만에 분포하는 어병세균총 및 종속영양세균총의 분포는 내만으로 유입되는 유기물의 함량 뿐만 아니라 기상조건 등의 다양한 환경요인에 의하여 변화될 것으로 추정되어지는 바, 향후 양식어류의 질병대책을 수립하기 위해서는 역학조사가 지속적으로 수행되어야 할 것으로 사료된다. 한편, 외해지역인 제 5 station에서는 *Pseudomonas* spp.와 *Moraxella* spp.등이 전체의 68.2%로 우점종이었고, *Vibrio* spp.는 낮은빈도(3주, 15.7%)로 검출 되었으며 장내세균은 검출 되지 않았다. 부영양화가 진행중인 동경내만의 해수에는 *Vibrio* spp. 출현율이 극히 저하되지만 *Acinetobacter* spp. 및 *Moraxella* spp.의 세균총이 우점종이라는 보고등(Shimidu et al., 1977; 清水, 1980; Shiba and Taga, 1980)과, 적조가 지속적으로 발생되는 국내의 부영양화 해역에서 *Acinetobacter* spp., *Pseudomonas* spp. 및 *Vibrio* spp. 등이 우점종으로 출현 되었다는 일련의 보고(이 등, 1986; 박 등, 1991; 최, 1995)등으로 미루어 볼 때, 외해지역의 경우 아직은 청정해역으로 사료되어지지만, 향후 도시화 및 산업화가 빠르게 진행될 경우에는 각종 생활하수 및 산업 폐기물등의 유입이 증가되어 부영양화 및 적조현상이 빈번히 나타나게 되면, 양식산업에 있어서 질병의 예방문제가 심각하게 대두되어질 것으로 사료된다.

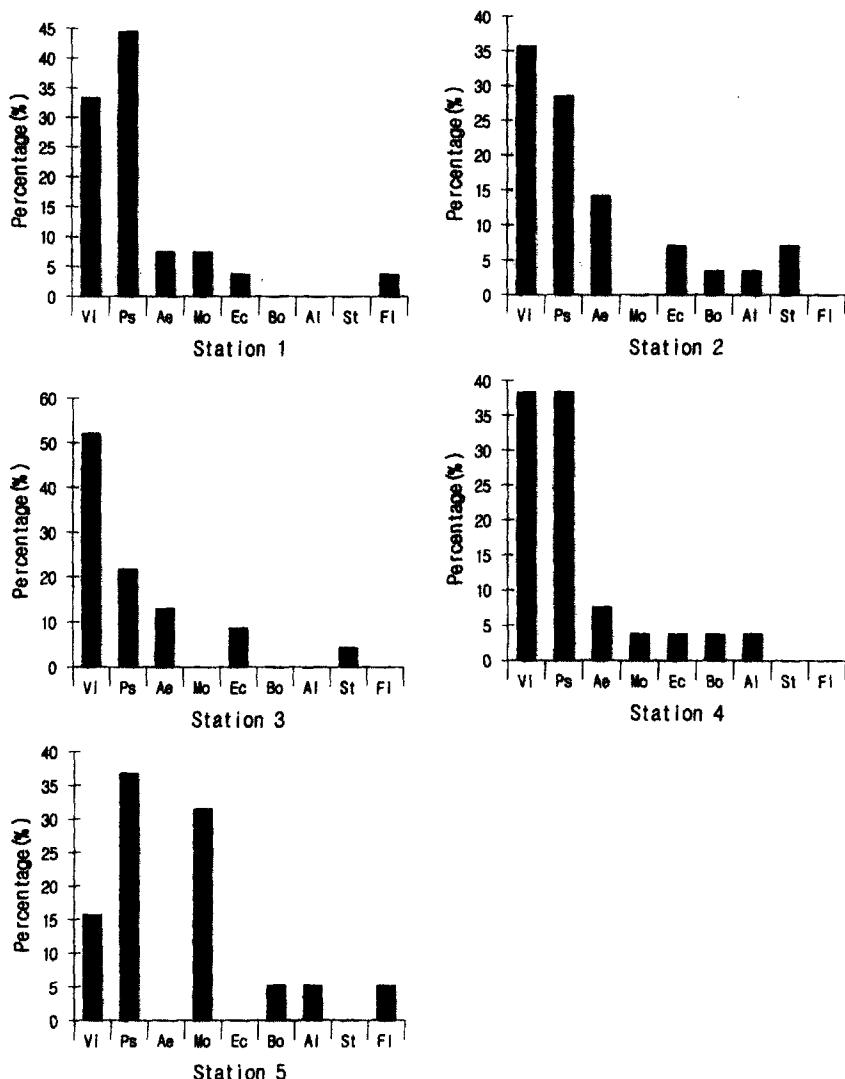


Fig. 4. The bacterial flora of each station in Kunsan bay. Abbreviation : See Fig. 3.

각 정점별 비브리오균의 분포

한편, 본 조사에서 비브리오의 검출율은 내륙수 및 도시의 하수 및 산업폐수가 유입되는 내만지역(1-4 station)에서 약 9-12(33.3-52.1%)주로 비교적 균등하였고, 외해에서는 3(15.7%)주로 낮게 나타났다(Fig. 5). 또한 분리된 Vibrio spp. 종은 *V. alginolyticus*(24주, 54.5%), *V. vulnificus*(14주, 31.8%) 및 *V. parahaemolyticus*(6주, 13.6%)순으로 높은 출현율을 보였다(Fig. 6). 이러한 결과는 여수 연안에서 분리한 Vibrio 127균주중 *V. alginolyticus*가 54(42%)주, *V. parahaemolyticus* 21(16.7%)주, *V. fluvialis* 및 *V. halisae*가 각각

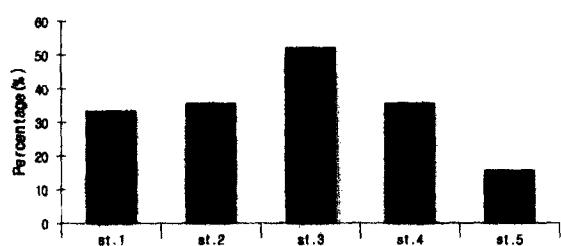


Fig. 5. The appearance rate of the Vibrio strains in 5 sampling stations located in Kunsan bay

20(15.2%)주가 검출되었다는 보고(신 및 정, 1996) 및 가막만에서 분리된 균종 *V. parahaemolyticus*

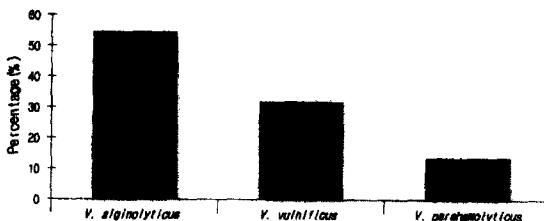


Fig. 6. The distribution of three *Vibrio* strain that are important in clinical aspects among the *Vibrio* spp. isolated in Kunsan bay

(16주), *V. alginolyticus*(4주) 및 *V. fluvialis*(3주)가 우점종이었다는 결과(Shin et al., 1992)에서 우점종의 출현율은 비슷한 경향을 보였으나 다양한 균종이 출현한 결과와는 차이가 인정되었다. 한편, 여수 연안에서 검출된 비브리오균 127주중 *V. vulnificus*의 검출이 1% 미만(1/127주)이었던 결과(정 및 신, 1996)에 비해 본 해역에서는 약 31.8%(14주)가 검출되어진 점으로 보아 *V. vulnificus*에 의해 심하게 오염된 것을 알 수 있으며, 본 조사에서 분리된 비브리오균 중 해산 양식어의 비브리오증을 유발시키는 *V. alginolyticus* 및 *V. vulnificus*가 86.3%(38주)를 차지한 점으로 미루어 볼 때 비브리오증에 대한 예방대책이 필요하리라 사료된다.

사사

이 논문은 2000년도 군산대학교 수산과학연구소에서 출현한 학술연구비에 의하여 연구되었음.

참고문헌

- 박영태, 이원재, 박주석, 이필영, 김학균: 원문만의 해양 세균분포와 산소소모량에 관한연구. 한수지, 24(5): 303-314, 1991.
 신석우, 정규진: 여수연안 및 동중국해의 세균상. 2. 분리 균의 수평분포. 한수지, 29(1): 17-25, 1996.
 이건형: 금강하구 퇴적토에서의 종속영양세균의 분포에 미치는 환경요인과 우점속에 관하여. 미생물학회지, 25: 137-143, 1987.
 이건형, 이영옥, 이규준: 만경강하류 생태계에서의 종속 영양세균의 계절적 분포와 이화학적 특성. 한국육수 학회지, 24(1): 27-35, 1991.
 이원재, 정희동, 강창근, 박희열: 부영양화 해역의 해양 세균의 분리 및 분리균의 생리적 성질에 관하여. I. 부영양화 해역의 환경 및 세균상. 한수지, 19(6): 585-592, 1986.
 정규진, 신상우: 여수연안 및 동중국해의 세균상. 1. 일 반세균, *Vibrio* spp., 대장균 균수에 따른 수평 분포. 한수지, 29(1): 9-16, 1996.
 최종덕: 북신만의 대장균군 및 해양세균의 분포. 한수지, 28(2): 202-208, 1995.
 Austin, B., Austin D.A: Bacterial fish pathogens: Disease in farmed and wild fish. Ellis Horwood, 30p, 1987.
 Baumann, P., Doucleroff, M. and Stanier, R. Y.: Study of the *Moraxella* Group. II oxidase negative Species (Genus *Acinetobacter*). J. Bacteriol., 95 -: 1520-1541, 1968.
 Buck, J. D. and Cleverdon, R. C.: The spread plate as a method for enumeration of marine bacteria. Limnol. Oceanogr., 5: 75-80, 1960.
 Davis, J. W. and Sizemore, R. K.: Incidence of *Vibrio* species associated with Blue crab (*Callinectes sapidus*) collected from Galveston bay. Texas. Appl. Environ. Microbiol. 45(3): 1092-1097, 1982.
 Johnson, R. M., Schwent R. M. and Press, W.: The characteristics and distribution of marine bacteria isolated from the Indian ocean. Limnol. Oceanogr., 13: 656-664, 1968.
 Novitsky, J. A.: Starvation-survival of heterotrophs in the marine environments. Adv. Microb. Ecol., 6: 171-198, 1983.
 Krieg, N. R. and Holt, J. G.: Bergey's manual for systematic bacteriology. Williams and Wilkins. Baltimore, London, pp. 140-219, 1984.
 Reinheimer, G.: Aquatic Microbiology. 3nd ed., pp. 158-159. Wiley and Sons, 1985.
 Shewan, L. M.: The microbiology of fish and fishery products a progress report. J. Appl. Bact., 34: 299-315, 1971.
 Shiba, T. and Taga, N.: Heterotrophic bacteria attached to seaweeds. J. Exp. Mar. Biol., 47: 251-258, 1980.
 Sieburth, J. M.: Distribution and activity of oceanic bacteria. Deep-sea Res., 18: 1111-1121, 1971.
 Shimizu, U., Kaneko, E. and Taga, N.: Microbiological studies of Tokyo Bay. Microbial Ecol., 3: 173-191, 1977.
 Shin, S. U., Cho, K. O., Kang, H. I. and Kang, S. K.: Studies on seasonal variation of the bacterial flora in sea water of Kamak Bay. 3. On the distribution of bacterial flora. Bull. Mar. Sci. Inst., Yosu Natl. Fish. Univ., 1: 47-53, 1992.
 Stevenson, L. H. and Erkenbrecher, E.: Activity of bacteria in the estuarine environment. In Estuarine process. Vol. 1. ed., by Willy, M., Academic Press, pp. 381-394, 1976.
 Taga, N.: Some ecological aspects of marine bacteria in the Kuroshio current. Bull. Miasaki Mar. Biol. Inst. Kyoto Univ., 12: 65-76, 1968.
 Wimpenny, J. W. T., Robert W. L. and Philip. C.: Labo-

ratory model systems for the investigation of specialty and temporally organized microbial ecosystems. In *Microbes in their natural environments*, pp. 67-117, Cambridge Univ. Press, 1983.

清水潮 · 多賀信夫. 東京灣でその隣接海域の海洋環境の微生物的調査. 沿岸海洋研究ノート, 17(2): 108-113, 1980.

The Distribution of Bacterial Flora in Kunsan bay

Min-Soon Choi, Hyun-Bin Shim and Kyung-Min Joung*

Dept. of Marine Biomedical Sciences, Kunsan national University, Chunbuk 573-400, Korea

*National Fisheries Product Inspection Station Tongyong Branch

This study was carried out to elucidate the preliminary ecosystem of the heterotrophic bacterial flora in Kunsan Bay located in western costal area of Korea. Samples were collected at 5 sampling stations. Among 123 bacterial isolates, 9 genera of bacteria were appeared as follows; *Vibrio* spp.(44 isolates/35.7%), *Pseudomonas* spp.(42 isolates/34.1%), *Aeromonas* spp.(11 isolates/8.9%), *Moraxella* spp.(9 isolates/7.3%), *Enterobacteri*a spp.(6 isolates/4.8%), *Bordetella* spp.(3 isolates/2.4%), *Alkaligenesis* spp.(3 isolates/2.4%), *Flavobacterium* spp.(2 isolates/1.6%), and *Staphylococcus* spp.(3 isolates/2.4%) respectively. Total viable heterotrophic bacteria was ranged from 5×10^3 to 1×10^5 CFU/ml and the most abundant viable counts of bacterial population were showed at the stations 2 and 3. This result indicates that the coastal area around Kunsan bay is getting to contaminate far more by municipal wastewaters and industrial byproducts. and so the outbreak of the bacterial diseases will be increased in fish farms.

Key words : Kunsan bay, Total heterotrophic bacteria, Dominant species, Bacterial flora