

## 통영 연안 해역에서의 미생물 분포

장지철 · 김말남\* · 이진환 · 김종만<sup>1</sup>

상명대학교 생물학과, <sup>1</sup>한국해양연구소

## Distribution of Microorganisms in the Marine Ranching Ground of Tongyong Coastal Waters

Jee-Chul Jang, Mal-Nam Kim\*, Jin-Hwan Lee and Jong-Man Kim<sup>1</sup>

Department of Biology, Sangmyung University, Seoul 110-743, Korea,

<sup>1</sup>Korea Ocean Research & Development, Ansan 425-170, Korea

**Abstract** - Surface and bottom water samples were collected from 10 stations located in the coastal area of Tongyong in April, August and October 2000. Distribution of heterotrophic bacteria, coliform bacteria and fungi in the sea water samples was investigated by measuring the corresponding viable cell number according to the plate counting method. Heterotrophic bacteria in the surface water counted  $3.1 \times 10^2 \sim 4.0 \times 10^3$  cfu ml<sup>-1</sup>,  $2.7 \times 10^3 \sim 1.2 \times 10^5$  cfu ml<sup>-1</sup> and  $1.3 \times 10^2 \sim 7.2 \times 10^2$  cfu ml<sup>-1</sup> in April, August and October, respectively. The cell number of coliform bacteria in the surface water amounted to  $0 \sim 1.5 \times 10^1$  cfu ml<sup>-1</sup>,  $3.5 \times 10^1 \sim 5.2 \times 10^3$  cfu ml<sup>-1</sup> and  $0 \sim 1.8 \times 10^2$  cfu ml<sup>-1</sup> in April, August and October, respectively. As for fungi, the cell number in the surface water was  $0 \sim 3.0 \times 10^1$  propagules ml<sup>-1</sup>,  $3.0 \times 10^1 \sim 8.0 \times 10^1$  propagules ml<sup>-1</sup> and  $0 \sim 2.2 \times 10^1$  propagules ml<sup>-1</sup> in April, August and October respectively. The surface water samples from the station 3 in August were added with feed stuffs for fish as much as 0.01 g l<sup>-1</sup>, 0.1 g l<sup>-1</sup> and 1 g l<sup>-1</sup> and cultured at 5°C, 15°C, 25°C and 35°C. Microbial cells were not isolated at all when the culturing temperature was 5°C. However, the microbial cell number increased significantly in all the surface water samples containing 1 g l<sup>-1</sup> of the feed stuffs when cultured at 15°C, 25°C and 35°C.

**Key words** : Heterotrophic bacteria, Coliform bacteria, Fungi, Tongyong

### 서 론

미생물은 해양 생태계에서 생물활성에 중요한 역할을 한다. 미생물은 유기물의 분해를 통해 중요한 무기영양 물질을 물질순환계로 순환시킴으로써 무기질화된 최종

생산물은 해양생물의 동화작용과 이화작용에 이용되고 있다. 한편 해양환경의 생명체는 이와 같은 무기 필수 영양물질의 끊임없는 새로운 공급에 의해 그 존재가 영향을 받게 되므로, 해양 생태계에서 분해자로서의 미생물의 역할은 매우 중요하며, 이런 미생물의 분해자로서의 기능 및 역할에 관하여는 많은 연구가 진행되어 왔다 (Bolter 1982; Sherr and Sherr 1988; 김과 이 1998).

해양미생물의 성장과 증식은 여러 물리·화학적인 환경요인에 의해 영향을 받는다. 이와 같은 환경요인들은

본 연구는 2000년 해양수산부 R & D사업으로 수행되었음.

\* Corresponding author: Mal-Nam Kim, Tel. 02-2287-5150, Fax. 02-395-1895, E-mail. mnkim@pine.sangmyung.ac.kr

미생물집단의 크기와 구성요소 뿐만 아니라 미생물 세포의 형태적, 생리적인 면에도 영향을 미친다. 성장에 적절한 수치보다 높거나 낮은 온도, pH 및 염류의 농도 등은 대사과정과 세포의 형태, 증식에 지대한 영향을 미쳐서 간균이 구균 또는 사상형으로 변형되거나, 비정상적인 세포분열이 이루어지며, 혹은 가지를 형성하기도 하고, 효소 생산의 변화 등으로 물질 분해능력이 증가되거나 저해되기도 한다. 여러 환경요인은 모두 생물체에 영향을 미치나, 특히 pH, 온도(Kirchman and Rich 1997), 유기물의 종류와 농도(Carlson and Ducklow 1996), 무기 영양물질(Thingstad *et al.* 1997), 바이러스 감염(Proctor and Fuhrman 1990) 및 미량원소(Hutchlins *et al.* 1999)가 중요한 역할을 하며 특정 환경에서 생명체의 존재 가능성까지 제한하기도 한다.

해양 환경에서 가장 중요한 물리적 환경요인 중의 하나인 수온은 해양의 밀도, 염분 및 용존기체의 농도에 영향을 줄 뿐만 아니라 해양생물의 대사율과 생식주기에 영향을 주어 해양생물의 분포를 제한한다. 대부분의 미생물은 적정 온도 범위에서만 성장할 수 있으므로 해양의 온도는 해양미생물의 성장률, 영양물질의 요구도 혹은 세포내 효소 구성과 그 화학적 성분에도 영향을 준다(김과 이 1998). 미생물의 성장과 증식은 배지의 pH에 의해 많은 영향을 받지만, 해수의 pH는 7.5~8.4로 매우 안정적이므로(김과 이 1998), 해양미생물 조성의 변화에 대한 pH의 영향은 적다.

수계의 탁도 또한 해양생태계에서 미생물의 생활에 중요한 영향을 미친다. 탁도는 수계에 존재하는 생물 혹은 무생물 형태의 부유물질을 총칭하는 seston에 의해 결정된다. Seston은 미생물에게 기질로서 중요한 역할을 하는데 직접 먹이로 제공되는 유기물의 표면에는 많은 세균과 균류가 분포되어 있다(김 등 1989). 물에 용존 또는 부유하는 유기물은 종속영양미생물의 영양원과 탄소원으로서 중요하며, 수계 생태계에서 세균과 균류 군집의 크기 및 종의 구성은 유기물의 농도와 성분에 의해 좌우된다(Keller 1989; Riemann *et al.* 2000). 해양생태계의 물리·화학적 환경요인의 변화는 총 세균수, 세균 체적, 세균 생물량 등과 같은 미생물학적 요인과 높은 상관관계를 보이므로(김과 이 1998) 해양생태계를 보다 잘 이해하기 위해서는 미생물 군집의 분포를 측정 조사할 필요가 있다.

본 연구에서는 통영 연안 해역의 10개 정점 표층수와 저층수에서 봄부터 가을까지 계절별로 종속영양세균, 대장균군세균, 균류의 개체수를 측정하여 해양생태계에서 계절에 따른 분해자의 변동 추이를 비교·분석하였다. 또한 해양미생물 군집에 어류 먹이사료를 첨가하고 배

양하였을 때 유기물인 먹이사료의 농도와 배양온도에 따른 미생물 군집의 변화를 조사하여 물리·화학적 환경요인과 미생물 군집 변화의 상관관계를 조사하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 조사 시기 및 연구 대상 지역

본 연구는 통영 연안 해역의 10개 정점(Fig. 1)을 대상으로 표층과 저층에서 2000년 4월, 8월 및 10월, 총 3회에 걸쳐 채수하여 실험하였다.

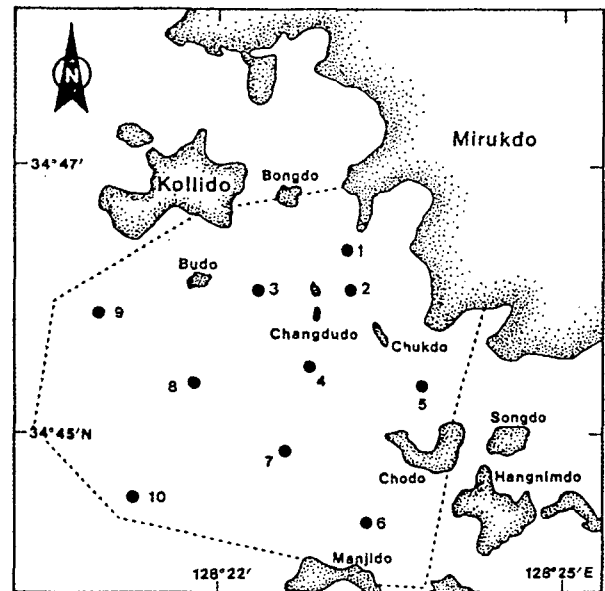


Fig. 1. A map showing the sampling stations in the marine ranching ground of Tongyeong coastal waters.

### 2. 시료 채취

해수 시료의 채수에는 van Don water sampler를 이용하였으며, 표층수 시료는 표층 수심 1m 사이에서, 저층수 시료는 저층 1m 상층에서 채수하였다. 각각 채수된 시료는 멸균된 conical tube에 담아 4°C를 유지하면서 실험실로 운반하여 즉시 실험을 실시하였다.

### 3. 종속영양세균, 대장균군세균, 균류의 분리 및 균체수 측정

각 정점의 표층수 및 저층수에 분포하는 종속영양세균, 대장균군세균, 균류의 생균수를 측정하기 위해 준비된 모든 선택배지와 희석용액은 고압멸균기(Hirayama, HA 300 MII)에서 121°C, 15분간 멸균하여 사용하였다.

**Table 1.** Selective media for isolation of marine microorganisms

Selective media	Isolated microorganism
Seawater nutrient agar (Kim and Lee 1998)	Heterotrophic bacteria
Bacto MacConkey agar (Difco)	Coliform bacteria
Czapek yeast extract agar (Difco)	Fungi

해수 시료는 김과 이(1998)의 방법에 따라 제조한 희석 용액(해수무기염용액)으로 희석한 후 해양미생물의 분리·배양을 실시하였다. 희석된 해수 시료를 각 미생물군의 선택배지(Table 1)에 0.1 ml씩 접종하고 15±2°C에서 세균은 약 2일간, 균류는 약 3~4일간 배양한 후 나타난 균체수를 평판계수법(Cappuccino 1987)에 따라 계수하였다.

4. 어류의 먹이사료 농도에 따른 미생물 분포

8월에 조사정점 3(Fig.1)의 표층수를 멸균된 삼각 플라스크에 100 ml씩 분주한 후 0.01 g<sup>-1</sup>, 0.1 g<sup>-1</sup> 및 1 g<sup>-1</sup>의 농도로 어류의 먹이사료를 첨가하였다. 먹이사료를 첨가하지 않은 것을 control로 하였다. 배양온도의 영향을 조사하기 위하여 각각 5°C, 15°C, 25°C 및 35°C의 진탕배양기(Jeiotech, SI-900R)에서 24시간 동안 배양하였다. 배양액을 10단계씩 희석해 가면서 희석된 배양액 0.1 ml 씩을 각 선택배지(Table 1)에 접종한 후 진탕배양되었던 온도에서 2~3일간 정지배양시켰다. 배양 후 나타난 균체수를 계수하였다.

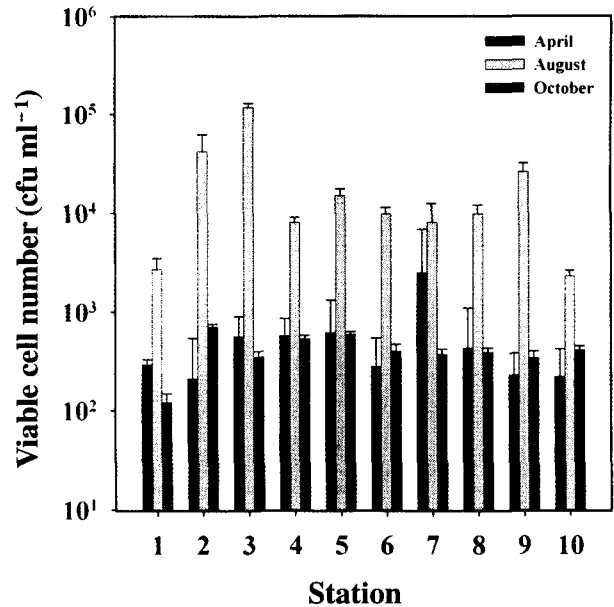
결과 및 고찰

1. 미생물 군집의 분포

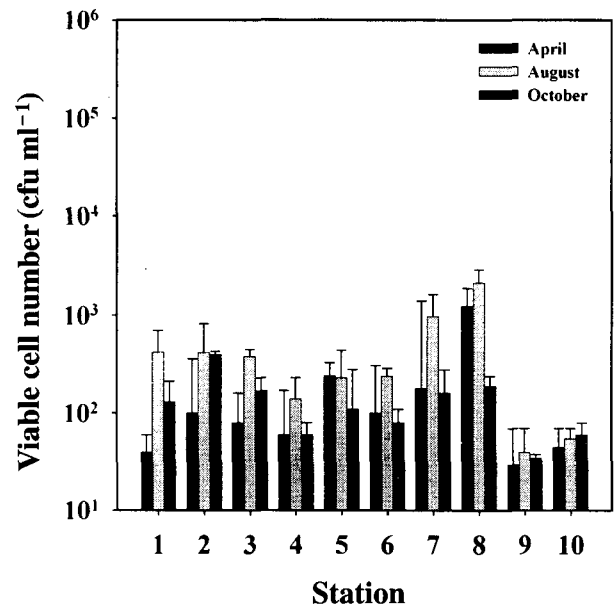
미생물 군집의 구성집단을 밝히는 방법으로는 미생물 개체수와 생체량을 측정하는 법(Harvey 1987), 특정 세균의 수 및 활성도를 측정하는 방법(Vaatanen and Sundquist 1977), 세균 종 구성 및 각 세균 군집 간의 유사도를 측정하는 방법(Bianchi and Bianchi 1982) 등이 널리 사용되고 있다. 해양에서는 두 정점간의 거리가 가까운 곳에서도 미생물 군집 크기가 큰 차이를 보일 수 있다(김과 이 1998).

1) 종속영양세균

Fig. 2와 3은 정점별 표층수와 저층수를 15°C에서 배양한 종속영양세균의 생균수를 나타낸 것이다. 4월의 경우 정점 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9 및 10에서는 표층수와 저층수



**Fig. 2.** Number of heterotrophic bacteria isolated from marine surface water of Tongyong.



**Fig. 3.** Number of heterotrophic bacteria isolated from marine bottom water of Tongyong.

의 해수 시료로부터 각각 3.1×10<sup>2</sup>~8.8×10<sup>2</sup> cfu ml<sup>-1</sup> 및 4.0×10<sup>1</sup>~2.9×10<sup>2</sup> cfu ml<sup>-1</sup>가 검출되었으며, 정점 7의 표층수에서는 4.0×10<sup>3</sup> cfu ml<sup>-1</sup>, 저층수에서는 8.5×10<sup>2</sup> cfu ml<sup>-1</sup>가 검출되었고, 정점 8은 표층수에서 6.6×10<sup>2</sup> cfu ml<sup>-1</sup>, 저층수에서는 1.5×10<sup>3</sup> cfu ml<sup>-1</sup>의 종속영양세균이 검출되었다. 8월의 표층수와 저층수의 해수 시료

로부터 분리된 종속영양세균의 수는 각각 정점 3과 정점 8에서  $1.2 \times 10^5$  cfu ml<sup>-1</sup>와  $2.3 \times 10^3$  cfu ml<sup>-1</sup>로 가장 많이 검출되었으며 이는 4월의 정점 8의 표층수의 경우에 비해 20배 가량 증가된 값이다. 10월의 표층수에서는  $1.3 \times 10^2 \sim 7.2 \times 10^2$  cfu ml<sup>-1</sup>, 저층수는  $3.7 \times 10^1 \sim 4.2 \times 10^2$  cfu ml<sup>-1</sup>가 검출되어 이는 8월에 비해 현저히 감소한 값이며 4월과 유사한 결과이다.

해수에 존재하는 세균수는 대략  $10^3 \sim 10^6$  cfu ml<sup>-1</sup>인데(김과 이 1998) Simidu *et al.*(1983)은 일반적으로 수계에서 아래로 내려갈수록 세균수가 점차로 감소하는 것을 보인 바 있다. 본 실험에서 조사기간 중 균체수는 표층에 비해 저층이 더 낮은 값을 보인 것은 이와 같은 양상을 띠는 것으로 생각할 수 있다.

또한 미생물은 여름철에 강력히 증식하며, 수온의 연간 변화는 미생물 분포에 지대한 영향을 미친다. 수온과 미생물적인 요인이 밀접한 상관관계를 보이는 것은 일반적으로 관찰되는 현상으로(Chrzanowski *et al.* 1988), 본 실험에서 조사기간 중 여름에 비해 봄과 가을은 약 6°C 가량 온도가 낮은 것으로 조사되었는데 봄과 가을 해수에 서식하고 있는 종속영양세균이 여름 해수에 비해 더 적은 것은 수온의 차이에 기인한다고 사료된다.

2) 대장균군세균

Fig. 4와 5는 4월, 8월 및 10월의 조사대상 해역 10개 정점의 표층수와 저층수에서의 대장균군세균의 분포를 보여준다. 4월의 경우 전 조사 정점에서 거의 출현하지 않았으며 8월에 표층수에서  $3.5 \times 10^1 \sim 5.2 \times 10^3$  cfu ml<sup>-1</sup>, 저층수에서  $0 \sim 5.3 \times 10^1$  cfu ml<sup>-1</sup>만이 검출되었다. 10월에도 저층수의 경우 검출되지 않은 조사정점이 많으며 표층수에서도 정점 2에서 최대로  $1.8 \times 10^2$  cfu ml<sup>-1</sup>만이 분리되었다. 봄과 가을에는 전 조사 정점에서 대장균군세균이 거의 출현하지 않았으나 여름의 해수와 10월 정점 2지역에서의 대장균군세균의 검출량으로 보아 계절에 따라 이런 곳에서 서식하는 어류를 생선회와 같은 날 음식의 형태로 섭취하는 데는 주의가 필요한 것으로 사료된다.

3) 균류

Kohlmeyer(1983)에 의하면 해양환경에서 균류의 분포를 조절하는 중요 환경요인은 적절한 기질 즉 생물 혹은 무생물의 이용, 수온, 산소와 수압이다. 부목의 표면 등과 같이 해수에 노출된 표면에서는 균류가 쉽게 자라서 균사는 급속히 퍼져 결국은 많은 포자를 생산하게 된다. 균류는 세균에 비해 해양생물에 대한 병원성이 미미하므로 해양 생태계에서 균류에 대한 연구는 미흡한 실정(김과 이 1998)이지만 본 연구에는 해양 미생물 군

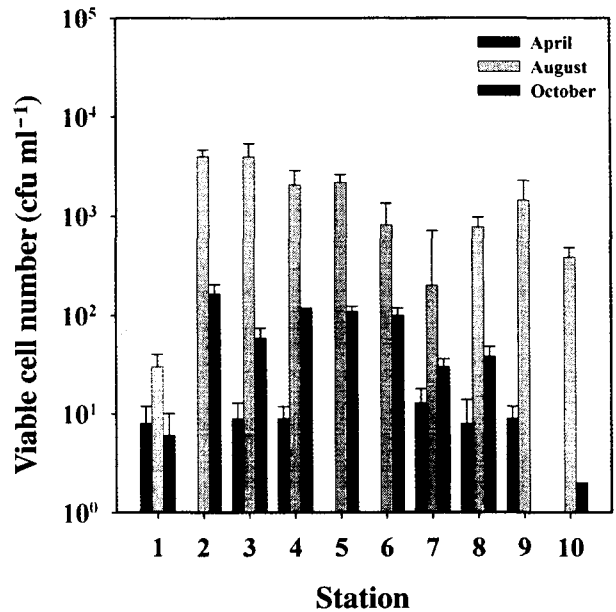


Fig. 4. Number of coliform bacteria isolated from marine surface water of Tongyong.

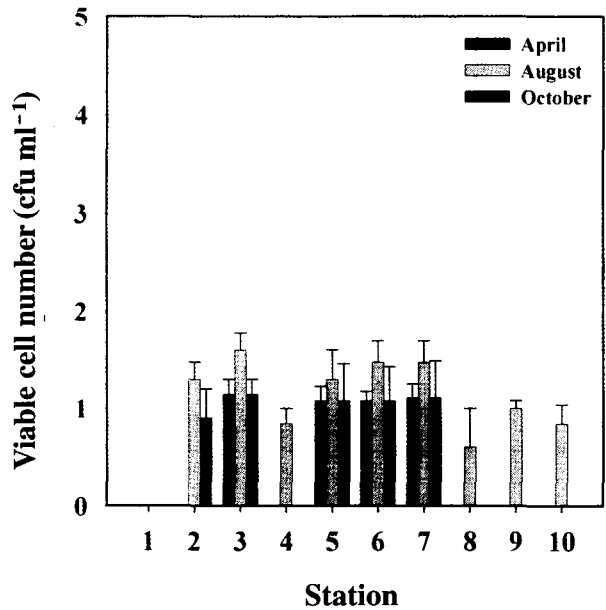


Fig. 5. Number of coliform bacteria isolated from marine bottom water of Tongyong.

집의 구성요소를 파악하기 위하여 균류수를 측정하였다. 표층수의 경우(Fig. 6) 4월에 최대  $3.0 \times 10^1$  propagules ml<sup>-1</sup>, 8월에  $8.0 \times 10^1$  propagules ml<sup>-1</sup>, 10월에는  $2.2 \times 10^1$  propagules ml<sup>-1</sup>만이 출현했고 저층수의 경우(Fig. 7) 4월에는 정점 2, 4, 6 및 8에서 균이 출현하지 않았고 10월에는 정점 5를 제외한 나머지 정점에서 모두 균류

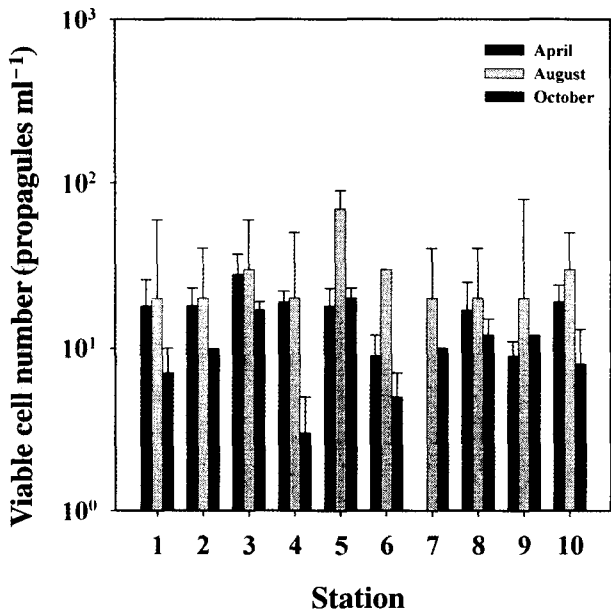


Fig. 6. Number of fungi isolated from marine surface water of Tongyong.

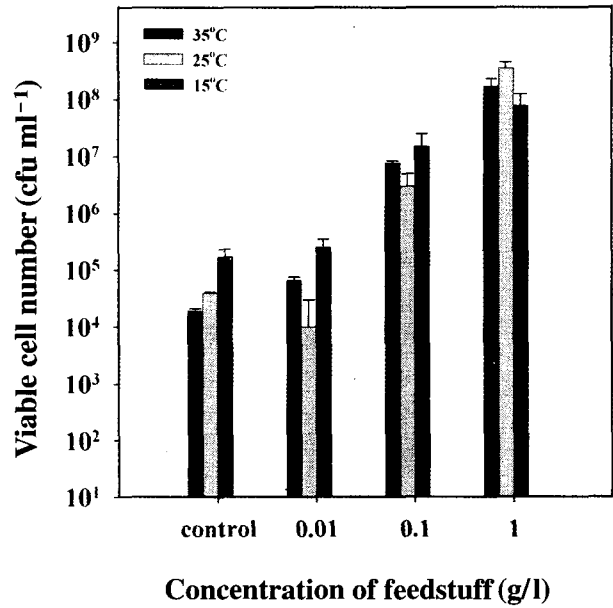


Fig. 8. Number of heterotrophic bacteria as a function of concentration of feedstuff for fish.

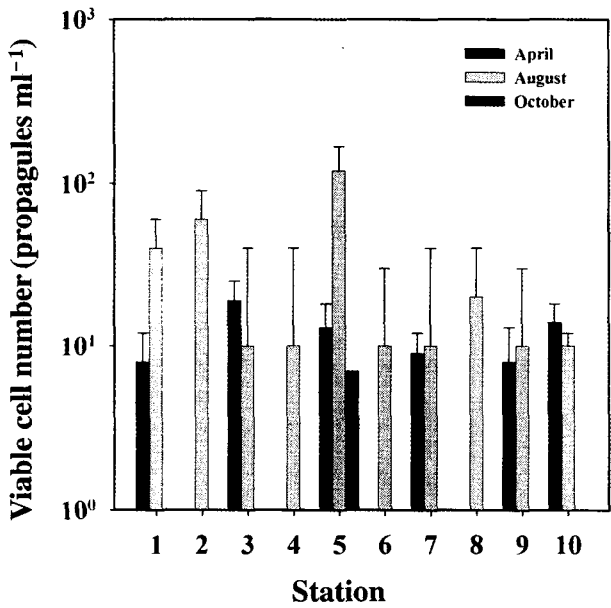


Fig. 7. Number of fungi isolated from marine bottom water of Tongyong.

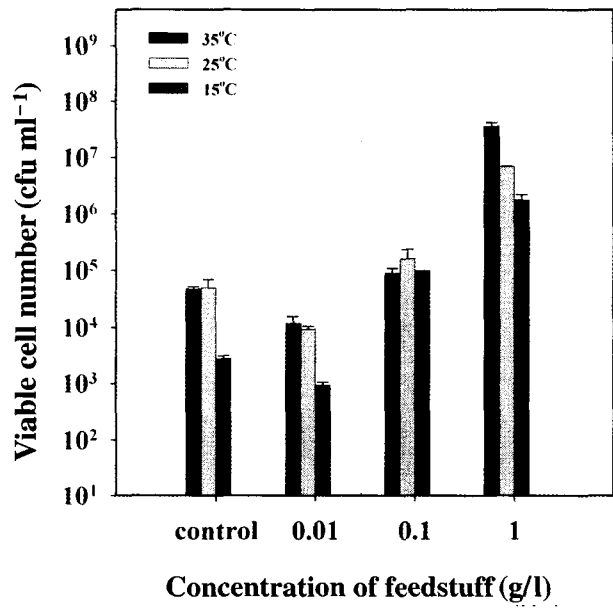


Fig. 9. Number of coliform bacteria as a function of concentration of feedstuff for fish.

가 분리되지 않았다.

2. 어류 먹이사료 농도에 따른 미생물 분포

해수의 탁도는 육지로부터 유래된 무기질 부유물, 생물체로부터 유래된 무기물 혹은 유기물로 이루어진 사체 파편 및 동·식물 플랑크톤 등으로 구성된 seston에

의해 결정된다. 어류 양식장에서는 seston 중 직접 어류의 먹이로 제공되는 유기물의 표면에 많은 세균과 균류가 분포되는데 이들 유기물에 따라 미생물의 수와 조성이 크게 좌우된다(Riemann et al. 2000). 어장에 인공적으로 제공되는 유기질 어류 먹이사료는 탁도를 높여주며, 탁도가 상승할 때 세균수가 급격히 상승할 수 있다.

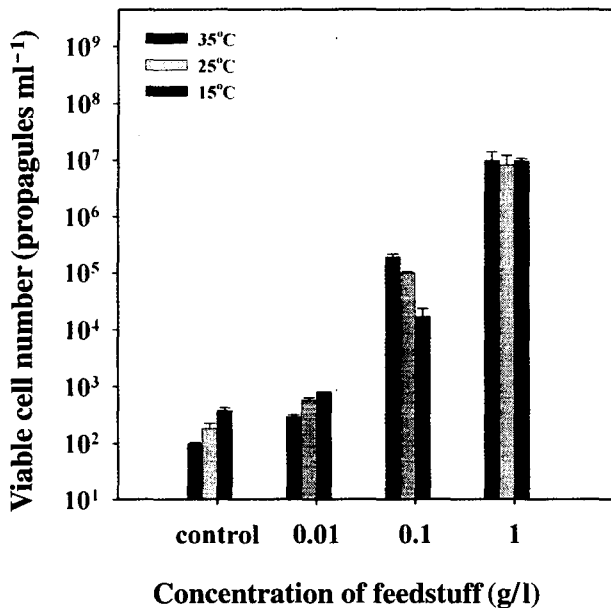


Fig. 10. Number of fungi as a function of concentration of feedstuff for fish.

본 연구에서는 통영 연안의 해수를 채수한 뒤 여기에 인위적으로 각각 0.01 g/l, 0.1 g/l, 1 g/l의 농도로 어류의 먹이사료를 첨가하여 주었을 때 미생물군집의 조성이 어떻게 변화하는지 실험한 결과를 Figs. 8~10에 나타내었다. 먹이사료를 농도 별로 첨가해준 후 5°C, 15°C, 25°C 및 35°C에서 각각 배양시킨 후 균수를 측정된 결과 5°C에서는 종속영양세균, 대장균군세균, 균류 모두 먹이사료의 농도와 상관없이 검출되지 않았다. 15°C, 25°C 및 35°C에서 배양시켰을 경우 1 g/l 농도의 먹이사료를 첨가해 주었을 때 모든 균체수가 뚜렷이 증가하였다. 균류의 경우 먹이사료를 첨가하지 않은 control과 비교했을 때 약 7배 가까이 증가하였고, 대장균군세균과 종속영양세균의 경우는 약 2배가 증가하였다.

비유동적인 수계에서는 영양물질 조성이 일정하게 유지되는 범위 내에서는 탁도의 차이가 세균의 분포에 영향을 미치지 않는 것으로 탁도가 상승할 때 세균수가 급격히 상승하는 경우는 부유유기물 농도의 증가에 기인하는 것으로 보인다. 부유물질의 농도가 증가하더라도 세균수가 크게 변화하지 않으면 부유물질이 주로 무기질로 구성되었다고 할 수 있다(김과 이 1998). 따라서 탁도와 총 세균수의 상관관계는 탁도를 유발하는 부유물질의 구성성분에 의존한다고 볼 수 있다. 유기물의 구성은 특정 미생물 집단에 매우 큰 영향을 미치기 때문에(Riemann *et al.* 2000) 미생물의 수와 미생물 집단의 구성까지도 변화시킬 수 있으므로 해수 어장에서의 유

기물을 사용하는 것은 이것이 생태계에 미치는 영향을 철저히 조사한 후 시행되어야 한다고 판단된다.

## 적 요

2000년 4월부터 10월까지 총 3회에 걸쳐 통영 연안 해역 10개 정점 표층수와 저층수에서 종속영양세균, 대장균군세균, 균류의 계절별 분포를 조사하였다. 조사기간 중 미생물의 생균수는 평판계수법으로 측정되었고 종속영양세균은 표층수에서 4월  $3.1 \times 10^2 \sim 4.0 \times 10^3$  cfu ml<sup>-1</sup>, 8월  $2.7 \times 10^3 \sim 1.2 \times 10^5$  cfu ml<sup>-1</sup>, 10월  $1.3 \times 10^2 \sim 7.2 \times 10^2$  cfu ml<sup>-1</sup>로 조사되었고, 대장균군세균은 표층수에서 4월  $0 \sim 1.5 \times 10^1$  cfu ml<sup>-1</sup>, 8월  $3.5 \times 10^1 \sim 5.2 \times 10^3$  cfu ml<sup>-1</sup>, 10월  $0 \sim 1.8 \times 10^2$  cfu ml<sup>-1</sup>로 나타났다. 균류는 표층수에서 4월  $0 \sim 3.0 \times 10^1$  propagules ml<sup>-1</sup>, 8월  $3.0 \times 10^1 \sim 8.0 \times 10^1$  propagules ml<sup>-1</sup>, 10월  $0 \sim 2.2 \times 10^1$  propagules ml<sup>-1</sup>로 측정되었다. 한편 8월의 정점 3 표층수에서 어류의 먹이사료를 0.01 g/l, 0.1 g/l, 1 g/l의 농도로 첨가하여 5°C, 15°C, 25°C 및 35°C에서 배양한 후 미생물의 생균수를 측정된 결과 배양온도가 5°C일 때는 어떤 종류의 미생물도 전혀 분리되지 않았으며, 15°C, 25°C 및 35°C에서 배양한 경우는 모두 1 g/l의 먹이 농도에서 가장 현저한 균체수의 증가를 보였다.

## 인 용 문 헌

- 김명운, 강찬수, 김상중. 1989. 소양호 수중 생태계에서의 세균 생체 물질량의 분포. 한국미생물학회지. 27:130-138.
- 김상진, 이진형. 1998. 해양미생물학. 동화기술, 서울.
- Bianchi MAG and AJM Bianchi. 1982. Statistical sampling of bacterial strains and its use in bacterial diversity measurement. Microbiol. Ecol. 8:61-69.
- Bolter M. 1982. Submodels of a brackish water environment : II. Remineralization rates of carbohydrates and oxygen consumption by pelagic microheterotrophs. Mar. Ecol. 3:233-241.
- Cappuccino JG and N Sherman. 1987. Microbiology a laboratory manual. 2nd ed. The Benjamin/Cummings publishing company, INC.
- Carlson CA and HW Ducklow. 1996. Growth of bacterioplankton and consumption of dissolved organic carbon in the Sargasso Sea. Aquat. Microbiol. Ecol. 10:69-85.
- Chrzanowski TH, RD Crotty and GJ Hubbard. 1988. Seasonal variation in cell volume of epilimnetic bacteria. Microbiol. Ecol. 16:155-163.
- Harvey RW. 1987. A fluorochrome-staining technique for counting bacteria in saline, organically enriched, alka-

- line lakes. *Limnol. Oceanogr.* 32:993-995.
- Hutchins DA, VM Franck, MA Breziuski and KW Bruland. 1999. Inducing phytoplankton iron limitation in iron-deplete coastal waters with a strong chelating ligand. *Limnol. Oceanogr.* 44:1009-1018.
- Keller AA. 1989. Modelling the effects of temperature, light and nutrients on primary productivity : An empirical and a mechanistic approach compared. *Limnol. Oceanogr.* 34:82-95.
- Kirchman DL and JH Rich. 1997. Regulation of bacterial growth by dissolved organic carbon and temperature in the Equatorial Pacific Ocean. *Microbiol. Ecol.* 33:11-20.
- Kohlmeyer J. 1983. Geography of marine fungi. *Australian Journal of Botany, Supplement Series.* 10:67-76.
- Proctor LM and JA Fuhrman. 1990. Viral mortality of marine bacteria and cyanobacteria. *Nature.* 343:60-62.
- Riemann L, GF Steward and F Azam. 2000. Dynamics of bacterial community composition and activity during a mesocosm diatom bloom. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:578-587.
- Sherr E and B Sherr. 1988. Role of microbes in pelagic food webs : A revised concept. *Limnol. Oceanogr.* 33:1225-1227.
- Simidu U, WJ Lee and K Kogure. 1983. Comparison of different techniques for determining plate counts of marine bacteria. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries.* 49:1199-1203.
- Thingstad TF, A Hagstrom and F Rassoulzadegan. 1997. Accumulation of degradable DOC in surface waters: is it caused by a malfunctioning microbial loop? *Limnol. Oceanogr.* 42:398-404.
- Vaatanen 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 17 November 2000, accepted 4 December 2000)