The Korean Journal of Microbiology, Vol. 38, No. 2, June 2002, p. 119-126
Copyright©2002, The Microbiological Society of Korea

아데노신 3인산(ATP; Adenosine-5' triphosphate)을 이용한 심해저 및 연안퇴적토의 총 미생물 생체량 측정

현정호[1] · 김경훙[1] · 권개경 · 이정현 · 이훙금 · 김상진 · 김기현[1]
한국해양연구원 미생물 연구실, [1]심해저자원 연구센터

심해와 연안의 서로 다른 해양퇴적토 환경에서 ATP농도를 이용한 총 미생물 생체량을 측정하였다. 표층 ATP의 분포는 연안역에서 가장 높았으며, 육지로부터 멀어질수록 감소하였다. 또한 수직적으로는 깊이에 따라 급격히 감소하는 양상을 나타내, 저층의 생태계가 수층으로 부터의 영양원 공급에 의해 일차적으로 조절되고 있는 것으로 나타났다. 한편, 유기물은 퇴적물로의 흡착으로 인해 환경 내 체류시간이 길어짐으로 인해, 유기탄소의 함량 변화가 ATP에 비해 급격히 일어나지 않았으며, 특히, 연안퇴적토의 경우 유기탄소의 함량 변화에 비해 ATP의 농도변화가 일정하게 나타나 두 변수간의 유의성이 없는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 분해가능한 유기물의 공급이 많은 연안퇴적토의 경우, 영양원에 의한 조절보다는 상위영양 단계의 포식활동이 미생물의 생체량을 최종적으로 조절하는 요인으로 작용하기 때문 인 것으로 사료된다. 지역분포 특성 및 수직적 분포 특성으로부터 ATP는 서로 다른 저서 생태환경의 생체량 분석을 위한 일차적인 도구로 유용하게 쓰일 수 있는 것으로 나타났다.

Key words □ **ATP, deep-sea and coastal sediment, total microbial biomass**

해양의 퇴적물내에는 박테리아, 미세조류 및 원생동물과 같이 통상 미생물로 분류되는 다양한 미생물들이 서식하고 있다. 이들 미생물들은 저서생태계의 먹이망내에서 퇴적물을 섭취하는(deposit feeder) 상위생물군들의 영양원으로서 중요한 역할을 담당한다(24,27). 특히, 박테리아의 경우 일차생산자로부터 유리된 유기물의 분해, 영양염 순환 및 혐기성환경의 조성등 저서생태계 내 생지화학적인 원소순환에서 핵심적인 역할을 담당한다(12). 따라서 저서생태계의 에너지흐름, 물질순환 및 영양상태를 이해하기 위해서는 미생물 생체량의 측정이 필수적으로 선행되어야 한다.

해양환경에서 일반적인 미생물 생체량 측정 방법들로서, 배양법(culture methods), 현미경 관찰법(direct microscopy), 그리고 생화학적인 방법(biochemical methods)등을 들 수 있다(16). 배양법은 좁은 배양범위 내(배양조건)에 적응한 세포들만 증식을 하므로(selective) 온도, 염분, 압력 및 영양상태등 자연계의 변화조건을 충족할 수 있는 배지의 선정 및 배양조건의 조성이 불가능하며, 따라서 자연계내 존재하는 다양한 미생물의 생체량을 과소평가하게 된다(6) 최근의 연구보고에 의하면 해양환경에서 분리 · 배양해낼 수 있는 미생물은 전체의 0.001-0.1% 정도에 불과한 것으로 보고되고 있다(4). 현미경을 이용한 세포 수와 크기의 관찰법은 기본적으로 널리 이용되어 왔으나(8,22), 주요 단점들로서 현미경 관찰시 주관성이 지나치게 강조되며(highly subjective), 분석에 많은 시간이 드는데(labor intensive) 반해 정밀도가 높지 않은 점(relatively insensitive)들을 들 수 있다. 특히, 퇴적물이나 부유 입자가 많은 수서환경에서는 세포들을 입자들로부터 분리해내야 하는 어려움이 내재되어 있다(11). 배양법 및 현미경 관찰법의 한계를 극복하기 위해 ATP나 인지질-인(phospholipid-phosphate)과 같이 세포 내에 항시 존재하는 생체물질 등의 분석으로부터 미생물의 생체량을 추정하는 생화학적인 방법들이 고안되어왔다(9,17,29). 이상적인 생화학적 생체량 측정방법이 되기 위해서는: (1) 측정대상물질이 관심있는 생물군들에 존재해야하며, (2) 세포의 죽음과 함께 빠른 시간 내에 분해되어 환경에서 없어져야 하며(short residence time), (3) 환경변화에 상관없이 세포 내에서 비교적 일정한 비율을 유지해야 하며, (4) 추출 및 정밀한 분석이 용이해야한다(16). 불행하게도 이상의 모든 조건을 완전히 만족시키는 생화학적 방법은 존재하지 않는다. 하지만, ATP의 경우는 모든 생물체내에 존재하며, 생물학적으로 쉽게 분해(biologically labile)가 될 뿐 아니라, 추출 및 분석이 용이하고, 최저분석 한계가 낮아(10^{-12} mol 이하) 연안역뿐 아니라 특히 심해나 열수와 같이 시료의 채집이 어려운 조건에서 총 미생물 생체량(total microbial biomass) 측정 및 생태연구를 위한 일차적인 시도로 널리 활용되어왔다(14,15,19,25). 본 연구에서는: (1) 연안 및 심해의 입도 및 유기물의 함량이 서로 다른 3 곳의 해양퇴적토에서 ATP의 분포양상을 통한 일차적인 생태환경을 해석하고; (2) 퇴적물내 ATP와 유기탄소함량과의 상관관계 분석을 통해 해양 퇴적토내 미생물 생체량 측정에 있어 ATP의 유용성에 대해 토의하였다.

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 031-400-6244, Fax: 031-406-2495
E-mail: jhhyun@kordi.re.kr

Table 1. Locations and sedimentary environments of the three study area

Area	Station	Location	Water Depth (m)	Sediment type	Aproximate distance from land (km)
KODOS area	KO-10	10°00'N; 131°30'W	5008	Clayey silt	2000
	KO-11	11°00'N; 131°30'W	5089	Clayey silt	
Ayu Trough	Ayu-04	00°50'N; 133°44'W	3900	Clayey silt	100
	Ayu-05	00°36'N; 132°49'W	3900	Clayey silt	
Youngjong tidal flat	YJ-01	37°28'N; 126°35'W	0	Clayey silt	0.5
	YJ-02	37°28'N; 126°35'W	0	Sandy silt	

재료 및 방법

연구지역

퇴적물의 영양상태 및 입도에 따른 ATP 분포양상을 비교하기 위해 빈영양해역인 북동태평양(KODOS 지역) 및 서적도 태평양(Ayu trough)의 심해저와 부영양화된 한강기수역의 영종도 조간대에서 퇴적물의 입도가 다른 두 정점에서 퇴적물 시료를 채취하였다(Fig. 1, Table 1). KODOS (Korea Deep Ocean Study) 지역은 북태평양에 위치한 망간단괴 고밀도 지역(10)으로 미래의 전략금속 광물자원(Ni, Co, Mn, Cu)의 부족에 대비해 1993년이래 정부가 공해상에 광구를 확보하고 단괴부존량 탐사 및 수층과 심해저 퇴적층의 기초환경조사를 실시하고 있는 곳이다(2). KODOS 지역은 가장 가까운 북미대륙으로부터도 약 2,000 km가 떨어져 대기나 담수를 통한 육지로부터의 영양원 공급이 극히 미약한 환경으로 수층의 엽록소 농도는 대체로 0.06~0.2 $\mu g/l$ (2)의 범위로 전형적인 빈영양 해역의 특성을 나타낸다(Table 1). 따라서 심해저 퇴적층으로 공급되는 유기물의 양도 상당히 적을 것으로 사료된다. Ayu trough 지역에서는 서태평양의 Ayu Trough 해저면의 확대축(spreading axis)을 따라 현재까지 알려지지 않은 열수의 징후를 포착하기 위해 기획된 "대양 2001" 연구기간(3) 중 북위 0°30'-1°50' 사이에서 퇴적물 시료를 채취하였다(Table 1). 일반적으로 적도 태평양은 적도를 따라 발생하는 표층하(subsurface) 해수의 용승으로 표층수의 혼합이 일어나며, 이로 인한 표층하 해수로부터의 영양염 공급으로 상대적으로 높은 생물 생산력을 유지하는 것으로 알려져 있다(26). 또한 KODOS 지역과는 달리 Ayu trough 지역의 경우 육지로부터의 거리가 100 km 내외로 생산력이 높은 열대지방 육지로부터의 영양원 유입이 KODOS 지역보다는 많은 곳으로 사료된다. 영종도의 조간대 갯벌은 경인지역을 통해 한강기수역으로 유입되는 부영양화된 담수의 영향으로 수층의 높은 생물생산력이 유지되는 지역이다(1).

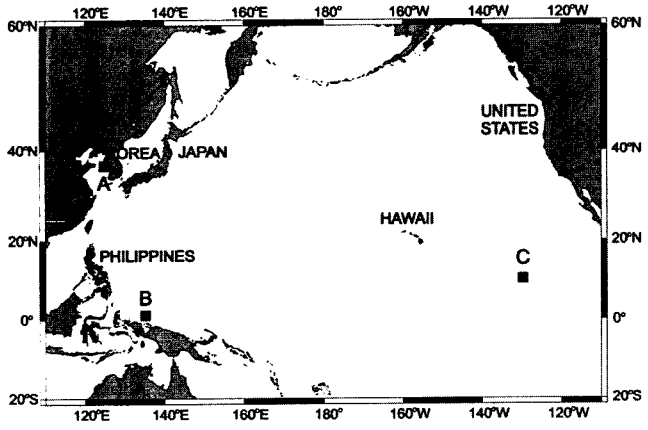

Fig. 1. A map showing study area. (A): Youngjong intertidal flat in Han River estuary, (B): Ayu trough region in the west equatorial Pacific, (C): KODOS (Korea Deep Ocean Study) area in the northeast equatorial Pacific

시료채취

KODOS 및 Ayu trough 지역의 퇴적물은 시료 채취시 시료의 수직적 교란을 방지하기 위해 다중주상 퇴적물 시료 채집기(MC; Multiple corer)를 사용하였다(15). 영종도 조간대의 시료는 직경 플라스틱 주사기 코어 (내경 1 cm)를 사용하여 수직적으로 시료를 채취하였다. 채취된 퇴적물 내의 함수율, 유기탄소 함량 및 ATP의 수직적 측정을 위해 각각의 시료를 여러 층(0~0.5 (또는 0~0.25), 0.5~1, 1~1.5, 1.5~2, 2~3, 3~4, 4~5, 5~6, 7~8 그리고 9~10 cm)으로 나누어 취한 후, 실험 목적에 따라 다음과 같이 전처리 및 분석을 행하였다.

입도 및 함수율

퇴적물의 입도는 약 10 g의 퇴적물을 3~4 일간 증류수로 반복 세척하여 염분을 제거하고, 0.5%의 과산화 수소수(H_2O_2)로 유기물을 제거한 후 자동입도 분석기(Master Sizer)를 이용하여 분석하였다. 함수율(W)은 퇴적물 내에 함유되어 있는 해수와 구성입자간의 무게 비로 정의된다. 층별로 채집된 퇴적물시료 약 3~10 g (wet wt.)을 냉동건조기(일신랩, PVTFD 10R)에서 24 시간 동안 건조시켜 무게를 측정한 후 다음 식에 의해 함수율을 계산하였다.

$$W\ (\%) = 100 \times (\text{wet wt.} - \text{dry wt.}) / \text{wet wt.}$$

여기서, W = 함수율 (%), wet wt. = 원시료의 무게; dry wt. = 건조된 시료의 무게이다.

유기탄소 함량

MC를 이용해 채집된 퇴적물을 층별로 유리 비이커에 담아 냉동건조기로 이틀동안 건조시킨 후 마노사발(agate mortar)로 분말화하였다. 분말화된 퇴적물시료는 40°C 건조로에 하루이상 보관하였다가 주석용기(tin cup)에 10~15 *mg* 정도를 담아서 CHNS 원소분석기(CE Instrument, EA1110)를 이용해 분석하였다. 탄소함량의 분석을 위한 표준물질은 BCSS-1 (5)을 이용하였다.

ATP 분석

총 ATP 시료의 전처리를 위해 층별로 채집된 퇴적물 시료를 0.5 M 인산 용액 10 *ml*에 넣고 4°C에서 10~15 분간 ATP를 추출한 후, 원심분리기(2,500 rpm에서 15 분간)를 사용하여 ATP를 퇴적물로부터 분리시켰다. 분리된 ATP 추출용액 5 *ml*에 이온물질(예, Ca^{2+}) 및 중금속 이온에 의한 발광감소 효과를 방지하기 위해 phosphate buffer (60 mM)로 만든 0.048 M Na_2-EDTA 용액 1 *ml*을 더한 후, 1 N NaOH 용액을 사용하여 pH를 7.4로 조정하였다. 마지막으로 phosphate buffer (60 mM)를 사용하여 총 시료량을 10 *ml*로 맞춘 후 실험실에서의 분석 때까지 -20°C에서 냉동 보관하였다(17). 실험실에서의 ATP 분석은 luciferin-luciferase 간의 발광작용시 분해되는 ATP 양이 luminometer (Turner designs model 20e)를 통해서 측정되는 빛의 세기와 비례하여 나타나는 점을 이용하여 측정하였다.

통계분석

유기탄소 함량과 ATP간의 상관관계를 알아보기 위한 통계분석은 SPSS (Version 8.0)를 사용하여, 일차적으로 획득된 자료를 log 값으로 전환한 후 Pearson 상관계수를 구하였다.

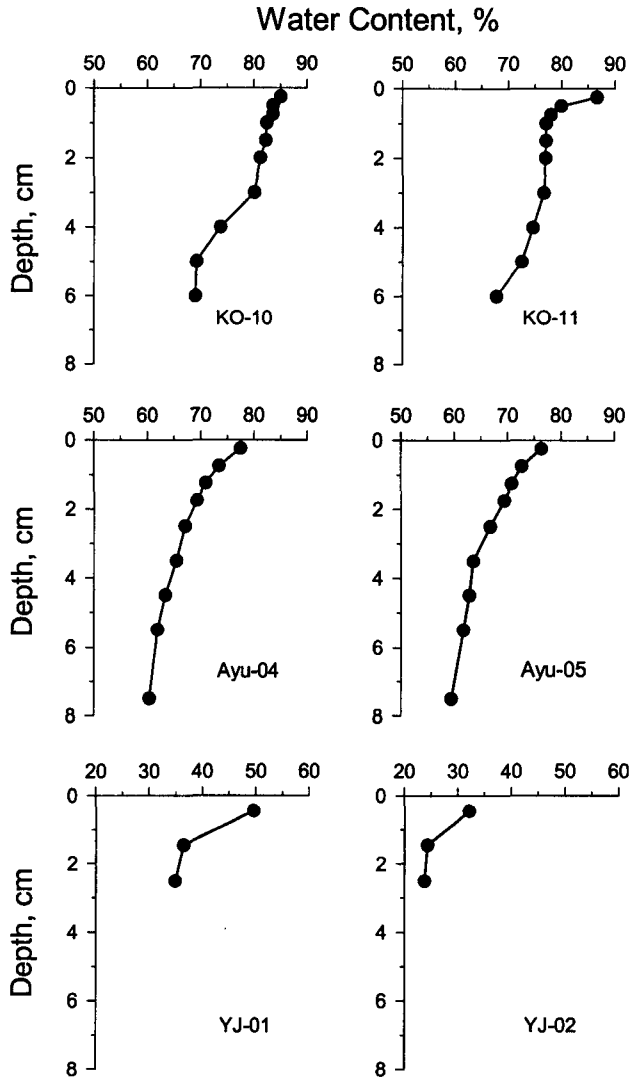

Fig. 2. Vertical profiles of water content in the KODOS (KO) area, Ayu trough (Ayu) region, and Youngjong (YJ) area.

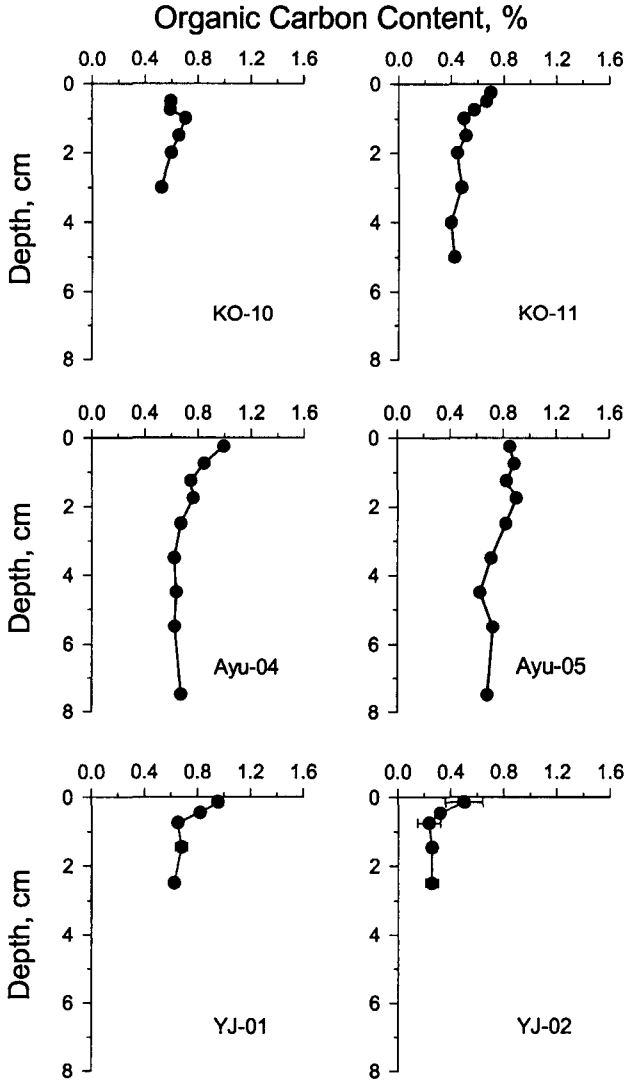

Fig. 3. Vertical profiles of organic carbon content in the 3 sedimentary environments (same abbreviations used in Fig. 2).

결 과

환경요인

퇴적물의 입도가 사질 씰트(sandy silt)로 나타난 정점 YJ-02를 제외한 모든 정점들의 입도가 니질 실트(clayey silt)로 나타났다(Table 1). 함수율은 KODOS 지역과 Ayu trough 지역의 깊이 2 cm 이내에서 각각 77~86% 및 69~77% 범위로 나타났으며 깊이에 따라 감소하는 경향을 보였다(Fig. 2). 간조시 대기에 노출된 영종도 정점(YJ 1 & 2)들에서는 표층 1 cm 이내에서 30~50%로 나타났으며, 특히 입도가 사질인 정점 YJ-02의 2 cm이내에서는 25% 미만의 낮은 함수율을 나타냈다. 퇴적물내의 유기탄소 함량은 KODOS 지역에서 0.42~0.70%, Ayu trough 지역에서 0.62~0.99% 그리고 영종도 조간대 지역에서 0.23~0.95%의 범위로 나타났다(Fig. 3). 같은 심해 퇴적물인데도 불구하고 Ayu trough의 유기탄소 함량이 KODOS 지역보다 높게 나타나 Ayu trough 해역으로 유입되는 유기물의 양이 상대적으로 높음을 알 수 있다. 전반적으로 심해저나 연안퇴적물의 유기탄소 함량이 큰 차이가 없는 것으로 나타난 것은, 유입된 유기물들이 퇴적물에 흡착되어 보존되기 때문인데(21), 이때 퇴적물에 대한 유기물의 흡착도는 표면적이 넓을수록(세립질 퇴적물) 더욱 증가한다(23). 영종도 조간대 지역의 경우 퇴적물의 입도가 세립질(니질 씰트)인 정점 YJ-01에서 조립질(사질씰트)인 YJ-02보다 2 배 정도 높은 값을 나타냈다.

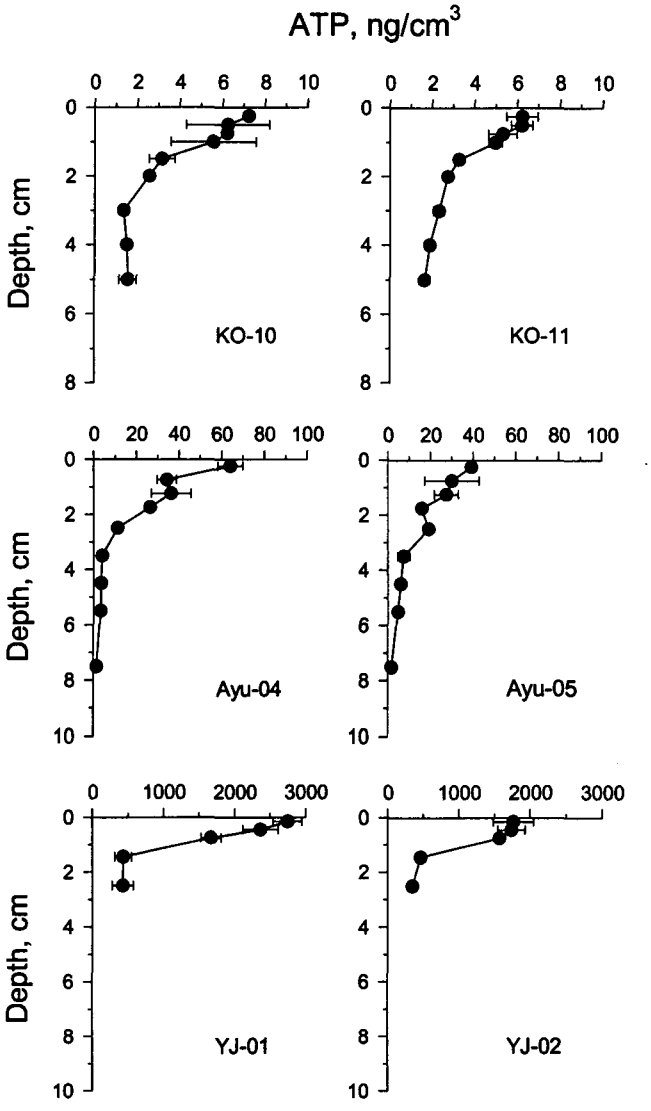

Fig. 4. Vertical profiles of ATP in the 3 sedimentary environments (same abbreviations used in Fig. 2)

ATP 분포

KODOS 지역과 Ayu trough 지역에서 ATP는 각각 1.48~7.23 ng cm^{-3} 및 0.97~64.01 ng cm^{-3}의 범위로 나타나 유기물 함량이 높은 Ayu trough지역이 KODOS 지역에 비해 상대적으로 높은 ATP 농도를 보였다(Fig. 4). 영종도 조간대에서는 348~2,744 ng cm^{-3}로 심해저 퇴적물에 비해 최대값에서 40 배이상 높은 값을 나타냈다. 영종도의 경우 퇴적물의 입도가 작고 유기물 함량이 높은 정점 YJ-01의 표층에서 정점 YJ-02보다 높은 값을 나타냈다. 전 정점에서 ATP의 수직 분포 양상은 유기물 함량이 높은 표층 1 cm 이내에서 높은 값을 보이다 이후 깊이에 따라 급격히 감소하는 양상을 나타냈다(Fig. 4). 이러한 깊이에 따른 ATP의 분포양상은 깊이별로 적분된 ATP 분포에서 더욱 뚜렷이 관찰되었다(Table 2). KODOS 지역의 깊이 6 cm 이내에 존재하는 ATP의 54~61%가 표층 2 cm 이내에 나타났으며 약 70%정도가 표층 3 cm 이내에 나타났다. Ayu trough의 경우 총 10 cm 깊이 이내에 존재하는 ATP의 52~73%가 표층 2 cm 이내에서, 65~ 80%가 표층 3 cm 이내에 분포하는 것으로 나타났다. 영종도 조간대의 경우도 전체 깊이 3 cm 중 87~89%가 표층 2 cm 이내에 분포하는 것으로 나타났다. 이상의 결과에서 저서생태계가 수층의 유기물 생산의 공급에 의존함을 알 수 있다.

유기탄소와의 상관관계

ATP와 유기탄소간의 상관관계를 파악하기 위해 세 지역에서 측정된 ATP 및 유기탄소 함량간의 상관관계를 구한 결과 각 지역별로 서로 다른 유의성을 나타냈다(Fig. 5). 즉, 심해저 퇴적물의 경우 KODOS 지역 및 Ayu trough에서 유기탄소 함량과

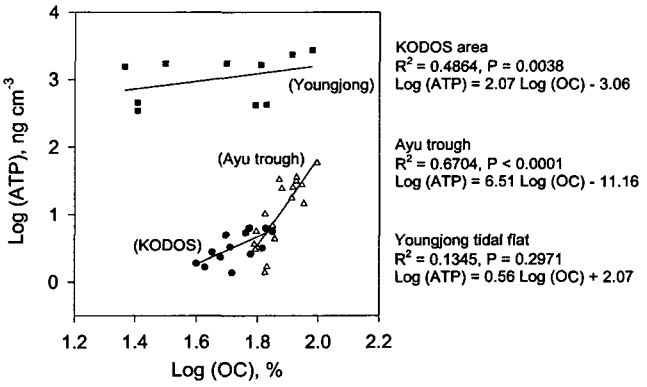

Fig. 5. Relationship between organic carbon and ATP.

Table 2. Depth integrated ATP (ng/cm^2) in the study area

KODOS area			Ayu trough			Youngjong tidal flat	
Integration range (cm)	KO-10	KO-10	Integration range (cm)	Ayu-04	Ayu-05	Integration range (cm)	YJ-01	YJ-02
0-025	1.81	1.56	0-0.5	16.00	9.82	0-03	411.60	264.75
0.25-0.5	1.68	1.56	0.5-1	24.58	17.34	0.3-0.6	638.73	437.88
0.5-0.75	1.56	1.44	1-1.5	17.65	14.39	0.6-0.9	504.11	413.32
0.75-1	1.47	1.29	1.5-2	15.69	10.87	0.9-2	262.52	253.84
1-1.5	2.18	2.06	2-3	14.12	13.19	2-3	215.00	202.70
1.5-2	1.43	1.50	3-4	7.57	13.32	–	–	–
2-3	1.96	2.51	4-5	3.73	6.77	–	–	–
3-4	1.43	2.08	5-6	3.39	5.45	–	–	–
4-5	1.53	1.75	7-8	4.79	6.62	–	–	–
5-6	1.52	1.61	9-10	2.81	2.80	–	–	–
Integration range								
0-2 cm:	10.13	9.40		73.92	52.41		1816.97	1369.78
0-3 cm:	12.08	11.91		88.05	65.61		2031.97	1572.48
0-6 cm:	16.56	17.35		102.74	91.14		–	–
0-10 cm:	–	–		110.34	100.56		–	–

Table 3. Distributions of ATP in various marine sediments

			ATP, ng cm^{-3}	References
Costal sediment	Spaleo Island, GA			
	(0-1 cm)	April	1000	7
		July	3570	
		Oct	2040	
		Dec	2720	
		Feb	935	
	Newport River Estuary, NC			13
	(0-1 cm)	winter	640	
		summer	1180	
	Youngjong tidal flat (June)			this study
	(0-1 cm)	clayey silt	2554	
		sandy silt	1751	
Deep-Sea sediment	Nares abyssal plain (6011 m depth)		2.4	18
	(0-1 cm)			
	East Pacific Ocean (5300 m depth)		2.3-5.8[a]	15
	(0-1 cm)			
	East Pacific Ocean (5000 m depth)		4.9-7.2	this study
	(0-1 cm)			
	Ayu trough (3900 m depth)		30.1-64.0	this study
	(0.1 cm)			
Hydrothermal vent	East Pacific Rise		98[a]	20
	Guaymas Basin		68-1005	14

[a]Values were recalculated from ng ATP per g dry sediment

ATP 농도사이의 상관계수가 유의성이 있는 반면(KODOS 지역, R^2=0.4864; P=0.003; Ayu trough, R^2=0.6704; P<0.0001), 연안퇴적물의 경우 유기탄소 함량과 ATP 농도사이에 유의성이 없는 것으로 나타났다(R^2=0.1345; P<0.297). 한편 유의성이 있는 두 심해저 환경의 유기탄소 및 ATP간의 상관관계 조사에서도 유의성이 있는 것으로 나타났다(R^2=0.582; P<0.0001).

토 의

해양의 서로 다른 퇴적물내의 ATP 및 유기탄소 함량을 분석한 결과: (1) 대부분의 미생물이 표층 2-3 cm 이내에 분포하는 것으로 나타나(Table 2, Fig. 4) 퇴적물내의 생체량 분포가 수층의 유기물 공급에 의해 결정되며, (2) 유기탄소 함량과 ATP간의 상관관계가 심해저 환경에서는 유의성이 있는 것으로 나타났으나, 연안퇴적토에서는 유의성을 보이지 않았다.

본 연구에서 전체적인 ATP의 분포양상은 지역 내에서는 큰 차이가 없으나 지역 간에는 큰 차이를 보였는데, 각 지역별 ATP의 분포는 여러 해양의 퇴적물에서 측정된 값들과 비슷한 것으로 나타났다(Table 3). 일반적으로 퇴적물내에 유기물이 많은 연안퇴적토에서 높은 ATP 값을 보였으며, 연안퇴적토에서도 유기물의축적이 용이한 세립질 퇴적물에서 높은 값을 나타냈다. Table 3에서 추론 할 수 있는 또 한가지 흥미로운 사실은 심해퇴적물의 ATP가 수심이 얕아짐에 따라 그리고 육지로 가까워질수록 증가하는 양상을 보이는 점이다. 이는 심해저 저서생태계가 표층으로부터의 유기물 공급에 의존한다는 사실을 뒷받침하는 것이다. 특히 같은 심해환경인데도 불구하고 KODOS 지역과 Ayu trough 지역 간의 ATP 농도가 큰 차이를 보인 것은 육지로부터 2000 km 나 떨어진 KODOS지역의 심해저에 비해 열대우림의 높은 생산력을 보유한 주변의 도서지역을 통한 유기물 유입이 Ayu trough 지역에서 보다 원활히 이루어 진 결과로 여겨진다 (Table 1).

ATP의 양이 조사된 세 지역에서 큰차이(연안조간대>Ayu trough>KODOS 지역)를 보인 반면, 퇴적물내 유기탄소의 함량이 세 환경에서 ATP의 농도변화에 비해 큰 차이가 없는 것으로 나타난 것은 유기물의 흡착에 의한 보존 때문이다. 일반적으로 퇴적물로 유입된 유기물은 일부가 분해되어 생체물질로 전환되거나 호흡에 의해 무기질화(CO_2)되는 생물학적 과정 외에 유기물의 흡착(sorption)에 의해 퇴적물내에 영구히 매장되는 과정을 거치게 되는데(12), 이때 일단, 흡착된 유기물은 미생물에 의해서도 분해되지 않고 지구내부로 매장되어 전지구적 탄소순환 및 농도를 조절하는 중요한 과정으로 인식된다(21). 따라서 심해저 퇴적물내의 높은 유기탄소 함량은 심해저 퇴적물의 경우 낮은 생물활성으로 인해 상대적으로 퇴적물내로 흡착되는 비율이 높기 때문이며, 연안퇴적토의 경우 높은 박테리아 활성으로 생체로 전환되거나 호흡되는 양이 상당 높기 때문이다. 실제로 유기탄소에서 ATP가 차지하는 비율을 계산한 결과(Table 4), YJ 정점의 평균이 북동태평양 정점의 평균보다 약 400 배, Ayu trough 보다는 약 125 배가 높게 나타나 연안 퇴적토의 많은 유기물이 박테리아에 의해 생체물질이나 CO_2로 전환되는 것을 알 수 있다.

ATP의 절대농도(Fig. 4)나 유기물 내에서의 ATP 비율이 높은 연안 퇴적토(Table 4)에서 유기물과 ATP간의 상관관계가 유의성이 없는 것(Fig. 5)은 유기탄소 함량의 증가 폭에 비해 ATP의 농도가 일정한 것으로 나타났기 때문이다. 이는 미생물의 생체량이 높은 환경에서는 상위단계의 생물군(예: 원생동물, 중형저서동물)들에 의한 포식활동과 같이 미생물의 생체량 증가를 억제하는 요인이 크게 작용한 때문으로 사료된다. 반면에 심해저 퇴적환경의 경우는 유입되는 분해가능한 유기물의 양이 적고 미생물의 생체량이 적은 관계로 일차적으로 미생물의 생장이 유기물의 공급에 의해 조절되어 유기탄소 함량과 ATP간에 간의 상관관계가 유의성이 있는 것으로 나타나는 것으로 사료된다. 이상의 결과는 유기물이 풍부한 연안 퇴적환경과 심해저의 퇴적환경의 미생물 생체량의 조절요인이 다르게 나타남을 의미한다.

생화학적 방법으로 환경변화에 따른 미생물 생체량의 변화를 평가하는데 있어 특히 중요한 사항은 측정 대상물질이 세포의 분해와 함께 환경에서 빠른 시간 안에 없어져야한다는 점이다. 즉 환경 내에서 분해가 빨리 일어나지 않고 체류시간(residence

Table 4. Portions (%, $\times 10^{-4}$) of ATP in total organic carbon in the sediment

KODOS area			Ayu though			Youngjong tidal flat		
Depth (cm)	KO-10	KO-11	Depth (cm)	Ayu-04	Ayu-05	Depth (cm)	YJ-01	YJ-02
0.25		0.89	0.25	6.44	4.62	01.5	287.63	352.99
0.50	1.05	0.93	0.50	4.05	3.40	0.45	289.23	550.02
0.75	1.06	0.93	0.75	4.87	3.33	0.75	256.86	673.18
1.00	0.79	1.00	1.00	3.49	1.78	1.45	63.98	180.55
1.50	0.48	0.64	1.50	1.67	2.35	2.50	68.52	136.17
2.00	0.43	0.61	2.00	0.64	1.05	–	–	–
3.00	0.26	0.48	3.00	0.55	0.98	–	–	–
4.00	–	0.47	4.00	0.53	0.66	–	–	–
5.00	–	-0.39	5.00	0.22	0.27	–	–	–
Average	0.68	0.70		2.50	2.05		193.24	378.58
(Error)	(0.34)	(0.24)		(2.23)	(1.48)		(116.66)	(231.74)

time)이 긴 경우 측정된 값은 생체량을 과대 평가하게 된다. 본 연구에서 미생물 생체량을 나타내는 ATP의 경우 표층에서 깊어질수록 급격한 감소를 보인 반면(Fig. 4) 유기탄소 함량의 경우 깊이에 따른 감소 폭이 민감하게 나타나지 않는 것(Fig. 3)과 또한 ATP와 유기탄소 함량간의 상관관계가 낮은 것(Fig. 5)은 유기탄소의 경우 퇴적물로의 흡착이나 난분해성 물질의 포함 등 상대적으로 퇴적물내에서 분해되지 않고 장시간 체류하기 때문이다. 이런 관점에서 특히 퇴적토에서 유기탄소총량(total organic carbon)은 환경 내에서의 오랜 체류시간(long residence time) 때문에 생체량 측정과 관련된 해양환경 분석을 위한 물질로는 적합하지 않다.

해양의 생태환경을 평가하는데 있어 중요한 요인으로 얼마나 많은 생물종이 서식하는 지(조성)를 밝히는 정성분석과 이러한 종들이 정량적으로 어느 정도 차지하는가(생체량)를 밝히는 것이 중요하다. 또한 생태계내의 에너지 흐름이나 물질순환을 이해하기 위해서는 이들 생물 종들의 생장율 및 생산력의 측정이 요구되어진다. 실험실에서와 달리 해양에서 획득한 현장시료들을 대상으로 이러한 정보들을 획득하기란 쉽지 않다. 예로서 심해와 같이 압력이 높거나 열수와 같은 특수 해양환경의 경우 압력이나 수온조건의 극심한 변화로 선상에서의 생산력이나 생장률 측정을 통한 환경해석이 용이하지 않은 문제점이 있다(28). 따라서 시간적 노력이 요구되는 종조성 측정이나, 현장조건의 극복이 필요한 생산력 측정과 같은 한계를 감안하면, 관심해역의 일반 저서생태환경에 대한 일차적 해석을 위한 객관적이고 신속한 생체량의 측정이 필요하다. 본 연구에서는 ATP가 연안 퇴적토뿐 아니라 특히 심해저와 같은 극한 해양환경의 저서생태계내 미생물 생체량을 추정할 수 있는 좋은 측정항목이 될 수 있음을 보여준다.

감사의 글

본 연구는 한국해양연구원의 기본사업(BSPE818-00-1404-7) 및 해양수산부의 심해저 광물 자원 탐사사업(PM99-01901)의 지원을 받아 이루어졌다.

참고문헌

1. 고철환. 2001. 우리나라 갯벌의 규모와 간척. p. 67-85. 고철환(편), 한국의 갯벌 (중), 서울대학교 출판부.
2. 해양수산부. 1999. '99 심해저 광물자원 탐사 보고서. p. 799.
3. 한국해양연구원. 2001. 서태평양 종합대양연구(I). BSPE 00786-00-1298-5, p. 152.
4. Amann, R.I., W. Ludwig, and K.-H. Schleifer. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* 59, 143-169.
5. Berman, S. 1987. Marine sediment reference materials for trace metals and other constituents. Marine Analytical Chemistry Standards Program, Division of Chemistry, National Research Council, Canada., p. 4.
6. Buck, J.D. 1979. The plate count in aquatic microbial ecology. p. 19-28. *In* J.W. Costerton and R.R. Colwell (ed.), Native aquatic bacteria: enumeration, activity, and ecology. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA.
7. Christian, R.R., K. Bancroft, and W.J Wiebe. 1975. Distribution of microbial adenosine triphosphate in salt marsh sediments at Sapelo Island, Georgia. *Soil Sci.* 119, 89-97.
8. Daley, R.J. 1979. Direct epifluorescence enumeration of native aquatic bacteria: uses, limitations, and comparative accuracy. p. 29-45. *In* J.W. Costerton and R.R. Colwell (ed.), Native aquatic bacteria: enumeration, activity, and ecology. American Society for Testing and Materials, Philadelphia, PA.
9. Dobbs, F.C., and R.H. Findlay. 1993. Analysis of microbial lipids to determine biomass and detect the response of sedimentary microorganisms to disturbance. p. 347-358. *In* P.F. Kemp, B.F. Sherr, E.B. Sherr, and J.J. Cole (ed.), Handbook of methods in aquatic microbial ecology. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
10. Earney, F.C.F., 1990. Marine mineral resources. Routledge, London & New York, p. 387.
11. Epstein, S.S., and J. Rossel. 1995. Enumeration of sandy sediment bacteria: search for optimal protocol. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 117, 289-298.
12. Fenchel, T., G.M. King, and T.H. Blackburn. 1998. Bacterial biogeochemistry. 2nd ed., p.307. Academic Press, San Diego, CA.
13. Ferguson, R.L., and M.B. Murdoch. 1975. Microbial ATP and organic carbon in sediments of the Newport River Estuary, North Carolina. *Estuar. Res.* 1, 229-250.
14. Haberstroh, P.R., and D.M. Karl. 1989. Dissolved free amino acids in hydrothermal vent habitats of the Guaymas Basin. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 53, 2937-2945.
15. Hyun, J.-H., K.-H. Kim, S.-B. Chi, and J.-W. Moon. 1998. Distribution of ATP in the deep-sea sediment in the KODOS 97-2 area, northeast equatorial Pacific Ocean. [*The Sea*] *J. Kor. Soc. Oceanogr.* 3, 142-148.
16. Karl, D.M. 1986. Determination of in situ microbial biomass, viability, metabolism, and growth. p. 85-176. *In* J.S. Poindexter and E.R. Leadbetter (ed.), Bacteria in nature. Plenum Press, New York, NY.
17. Karl, D.M. 1993. Total microbial biomass estimation derived from the measurement of particulate adenosine-5'-triphosphate. p. 359-368. *In* P.F. Kemp, B.F. Sherr, E.B. Sherr and J.J. Cole (ed.), Handbook of methods in aquatic microbial ecology. Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
18. Karl, D.M., P.A LaRock, J.W. Morse, and W. Sturges. 1976. Adenosine triphosphate in the North Atlantic Ocean and its relationship to the oxygen minimum. *Deep-Sea Res.* 23, 81-88.
19. Karl, D.M., C.O. Wirsen, and J.W. Jannasch. 1980. Deep-sea primary production at the Galapagos hydrothermal vents. *Science* 207, 1345-1347.
20. Karl, D.M., D.J. Burns, K. Orrett and H.W. Jannasch, 1984. Thermophilic microbial activity in samples from deep-sea hydrothermal vents. *Mar. Biol. Lett.* 5, 227-231.
21. Keil, R.G., D.B. Montlucon, F.G. Prahl, and H.I Hedge. 1994. Sorptive preservation of labile organic matter in marine sediment. *Nature* 370, 549-551.
22. Kepner, Jr. R.L., and J.R. Pratt. 1994. Use of fluorochromes for direct enumeration of total bacteria in environmental

samples: past and present. *Microbiol. Rev.* 58, 603-615.
23. Mayer, L.M. 1994. Relationship between mineral surfaces and organic carbon concentrations in soils and sediments. *Chem. Geol.* 114, 347-363.
24. Montagna, P.A. 1984. *In situ* measurement of meiobenthic grazing rates on sediment bacteria and edaphic diatoms. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 18, 119-130.
25. Novitsky, J.A. 1987. Microbial growth rates and biomass production in a marine sediment: evidence for a very active but mostly nongrowing community. *Appl. Environ. Mocroiol.* 53, 2368-2372.
26. Pickard, G.L., and W.J. Emery. 1982. Descriptive physical oceanography: an introduction, 4th ed., p. 249. Pergamon Press, Oxford.
27. Rijken, M. 1979. Food and food uptake in Arenicola marina. *Neth. J. Sea Res.* 13, 406-421.
28. Turley, C.M. 1992. The effect of pressure on leucine and thymidine incorporation by free-living bacteria attached to sinking oceanic particles. *Deep-Sea Res.* 40, 2193-2206.
29. White, D.C., W.M. Davis, J.S. Nickles, J.D. King, and R.J. Bobbie. 1979. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractible lipid phosphate. *Oecologia* 40, 51-62.

(Received April 3, 2002/Accepted June 12, 2002)

ABSTRACT: Total Microbial Biomass Measured by ATP in Three Marine Sedimentary Environments

Jung-Ho Hyun, Kyeong-Hong Kim[1], Kae-Kyong Kwon, Jung-Hyun Lee, Hong-Keum Lee, Sang-Jin Kim and Ki-Hyune Kim[1] (Marine Microbiology Laboratory and [1]Deep-Sea Resources Research Center, Korea Ocean Research and Development Institute, Ansan 425-600, Korea)

ATP concentrations for estimating total microbial biomass in the sediment were measured in three different marine sedimentary environments. ATP concentrations were highest in the surface sediment and decreased with increasing sediment depth and distance from the land. The results indicated that the benthic microbial biomass is primarily controlled by nutrient inputs from the overlying water column. Because of the longer residence time and adsorption to the sediment, the variations in organic carbon (OC) contents with sites and depths were not as distinct as that of ATP, and the correlation between OC and ATP was not significant in the coastal sediments. No significant correlation between OC and ATP in the coastal sediments also suggested that microbial biomass in the labile organic-enriched coastal sediment is suppressed by the grazing of higher trophic level such as meiofauna. Overall regional and vertical distribution of ATP indicated that ATP can be a relevant tool for measuring total microbial biomass in various marine sedimentary environments.