

## 대청호에서 세균의 수직적 분포에 관한 연구

빙선혜, 오인혜\*

대전광역시 보건환경연구원, \*배재대학교 생물의학학과

### Vertical Variation of Total Bacterial Number in Daechung Reservoir

Sun-Hye Bing and In-Hye Oh\*

Environment Research Institute of Daejeon Metropolitan City, Daejeon 305-338 and

\*Department of Biology and Medicinal Science, PaiChai University, Daejeon 302-735, Korea

#### 국문 초록

대청호에서 세균군집의 생태학적 역할을 조사하기 위하여 대청호 본 댐과 대전 취수탑의 중간 지점인 대청호의 만입부 지점에서 1998 9월~1999년 8월까지 DAPI 염색법으로 수심에 따른 총 세균수를 조사하였다. 조사지점의 수표면, 수심 5m, 10m, 15m, 및 25m에서 각각 채수하여 총 세균수를 측정하고 이화학적 수질요인과 총 엽록소  $a$  의 농도를 측정하였다. 총 세균수는 표층수에서  $1.6\sim 17.0 \times 10^6$  cells/ml, 수심 5m에서는  $2.3\sim 11.0 \times 10^6$  cells/ml, 수심 10m에서는  $1.2\sim 14.0 \times 10^6$  cells/ml, 수심 15m에서는  $1.4\sim 15.0 \times 10^6$  cells/ml, 그리고 수심 25m에서는  $1.4\sim 13.0 \times 10^6$  cells/ml이었으며, 본 조사에서는 4월경부터 수온 증가에 따라 표층수의 총세균수는 증가하기 시작하여 7월경에 최대에 도달하였고, 이때 수심이 깊어질수록 총세균수는 감소하는 경향을 보였다. 각 수심에서 총세균수와 총엽록소  $a$  량 및 이화학적 수질요인과의 관계를 논의하였다.

#### Abstract

To define the ecological roles of bacterial community in Daechung Reservoir. Vertical variation

of total bacterial numbers were estimated at MAN site for one year with DAPI staining. The bacterial numbers were counted, environmental factors were monitored at the surface, -5m, -10m, -15m and -25 m of MAN site and tried to explain the vertical bacterial numbers with environmental factors. The bacterial number was  $1.6 \sim 17.0 \times 10^6 \text{ cell/ml}$  at the surface,  $2.3 \sim 11.0 \times 10^6 \text{ cell/ml}$  at 5 m depth,  $1.2 \sim 14.0 \times 10^6 \text{ cell/ml}$  at 10m depth,  $1.4 \sim 15.0 \times 10^6 \text{ cell/ml}$  at 15m depth and  $1.4 \sim 13.0 \times 10^6 \text{ cell/ml}$  at 25m depth. The Mean bacterial number at the surface was more than those at any other depth. The explanation of the vertical total bacterial numbers with environmental factors were suggested.

## 서론

수계생태계에서 세균은 유기물을 분해하여 무기물로 전환시키거나(Munster and Chrost, 1990) 저농도로 존재하는 용존 유기물질을 흡수·동화하여 상위 먹이 연쇄과정을 거치는 microbial loop의 중요한 역할을 차지한다. 이런 미생물의 분포와 생리적 활성도는 환경에 민감하게 변화하므로 간접적으로 주위 환경의 상태를 나타내는 지표로 볼 수 있다(Porter and Feig, 1980).

세균군집크기의 측정방법으로는 전통적인 방법, 핵산에 결합하는 형광염료인 Acridine orange, DAPI(4',6-diamidino-2-phenyl-indol), Hoechst dye 등으로 염색하여 관찰하는 방법, 그리고 최근 분자유전학적 기술인 PCR, DNA sequencing, DNA-DNA hybridization, Fluorescent rRNA-targeted oligonucleotide probe에 의한 유전자 결합에 의한 측정방법 등이 있다. DAPI는 Acridine orange보다 DNA에 대한 특이성이 높고, 세균과 남조류를 구별할 수 있으며 세균은 청형광색, 남조류는 적~등색으로 나타난다. fluorescent *in situ* hybridization(FISH)에 의한 방법은 세균을 배양하지 않고 자연상태를 그대로 나타낼 수 있으며, 쉽고 간단하게 측정되는 장점이 있어 최근 이를 이용한 생태계의 세균군집구조 변화를 밝히는 연구가 많이 이루어지고 있다(홍과 안, 1998; 김 등, 1999). Fluorescent rRNA-targeted oligonucleotide probe는 특정 유전자와 결합하는 특이성을 가지고 있어, 여러 생태계에서 특정 세균군집의 시간·공간적 변화를 파악하는데 효과적으로 이용되고 있다(Trebesius *et al.*, 1994).

본 연구에서는 대청호 생태계에서 세균군집의 생태학적 역할을 조사하기 위하여 대청호의 만입부 지점에서 수심별로 세균군집의 크기를 측정하여 변화양상을 조사하였으며, 이화학적 수질요인(수온, pH, T-N, T-P 등) 및 생물화학적 환경요인(총 엽록소 *a* 량)과의 관계를 설명하고자 하였다.

## 조사 및 방법

### 1. 조사지역

세균군집의 수직적 분포를 조사를 위한 채수 지점으로 대청호의 만입부 지점(MAN)을 선정하였는데, 이 지점은 대전시 동구 오동에 속하며 본 댐과 대전 취수탑의 중간지점으로 호수 본류 상류에서 흘러내린 물이 대전 취수탑 방향 및 본 댐의 정체된 물과 합류되는 지점으로 인근에 유입되는 지천과 민가가 없으며 수심이 깊어 비교적 청정한 수역으로 예상되는 곳이다(Fig. 1)(Mun *et al.*, 2001).

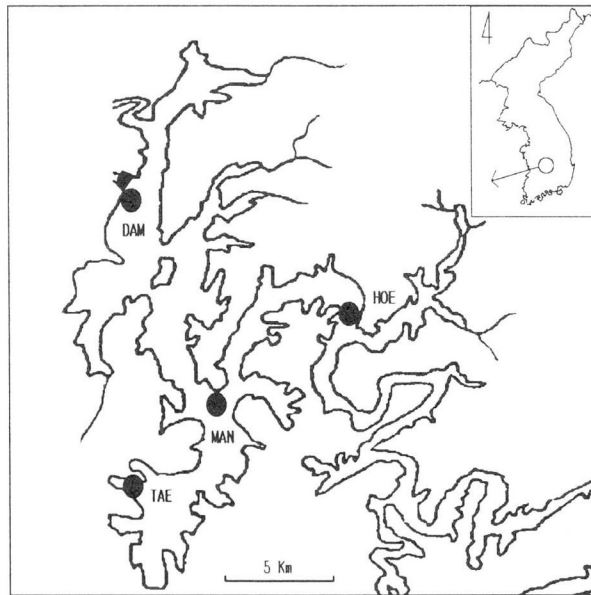


Fig. 1. The sampling site(MAN) in Daechung Reservoir.

### 2. 조사방법

1998년 9월부터 1999년 8월까지 월 1~2회에 걸쳐, 조사지점에서 표층, 수심 5m, 10m, 15m, 및 25 m 깊이에서 각각 채수하여 총 세균수를 측정하였으며, 이화학적 수질(수온, pH, 용존산소(DO), 총 질소(T-N), 총 인(T-P), 부유물질(SS)), 및 총 엽록소 *a*(Total chlorophyll *a*) 농도를 측정하였다.

### 1) 기온 및 강수량

기온 및 강수량은 1998년 9월부터 1999년 8월까지의 기상청 기상일보를 이용하였다.  
(<http://www.kma.go.kr>)

### 2) 이화학적 수질 분석 및 총엽록소 *a* (Total chlorophyll *a*) 농도

수온 및 pH는 채수 즉시 현장에서 측정하였으며(YSI 6000), 그 외는 측정항목에 따라 전처리를 실시한 후 냉장상태로 실험실로 운반하여 분석하였다. 수질 분석 시료는 47mm Whatman GF/C glass fiber filter로 여과하였으며, DO, SS, T-N, T-P는 APHA-AWWA-WPCF(1989) 법에 따라 분석하였다(Mun *et al.*, 2001)

총 클로로필 *a* 량은 시료 적당량(0.5~2L)을 Whatman GF/C filter로 여과하여 90% acetone으로 24시간 추출한 후 흡광광도계로 측정하여 (630nm, 647nm, 664nm, 750nm) 산출하였다.

### 3) 총 세균수 측정

총 세균수 측정을 위하여 미리 멸균된 용기에 10 ml를 채수하여 현장에서 중성 Formalin(최종 농도 2%)으로 고정하였다. 고정된 시료를 4°C로 운반하여 실험 전까지는 냉, 암소에 보관하였다. 고정된 시료는 acetate nucleopore filter(pore size 0.2 $\mu$ m,  $\Phi$ 25mm black filter)와 acetate nucleopore filter(pore size 0.2 $\mu$ m,  $\Phi$ 25mm white filter)로 여과한 후 DAPI 염색액(4',6-diamidino-2-phenyl-indol, Sigma)으로 5분간 염색하였다. 표본 슬라이드는 각 시료당 3개를 준비하였으며 형광현미경(Olympus, BH2-RFCA)으로 x1,000로 직접 계수하였다. 시야당 세균수가 200개 되도록 희석하여 각 시야 당 20 fields 이상 계수하여 평균값을 산출하였다(Porter and Feig, 1980; 빙 등, 2002).

## 결과 및 고찰

### 1. 기온 및 강수량

조사기간동안의 기온과 강수량은 Fig. 2에서와 같이 전형적으로 6-8 월에 강우가 집중되며 기온이 높은 경향을 보였다. 조사기간 직전인 1998년 8월 강수량이 781.7mm로 특별히 많았으며 1998년 9월 30일 하루에 162.2mm의 많은 비가 내렸고 1999년 5월3일에 71.7mm, 6월 16일(92.3 mm), 6월 23일(140.1 mm)에 비가 집중적으로 내렸다. 8월의 총 강수량은 203mm로 비오는 날이 많고 고르게 내렸다. 조사 기간동안 평균기온은 -0.3~ 25.6 °C로 평년과 크게 차이가 없었으며

1998년 동절기를 지나서 3월부터 급격히 기온이 증가하기 시작하였다.

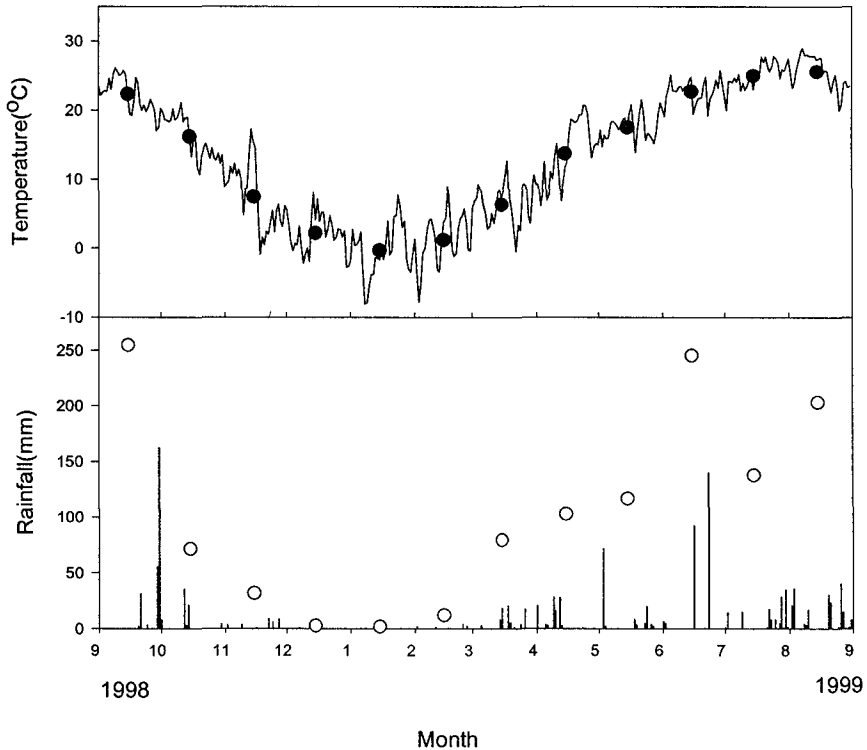


Fig. 2. Annual variation of air temperature and precipitation in Taejon metropolitan city. Closed and open circles are the monthly mean of air temperature and precipitation respectively.

## 2. 이화학적 수질의 수직적 분포

### 1) 수온과 용존산소농도

: 조사 기간동안 표층수의 수온은 5.5~30.3°C의 변화를 보였다 (Fig. 3). 1998년 9월~1999년 4월 중순까지는 표층수에서 수심 25m 깊이까지는 수심별 수온은 차이가 없었다. 1998년 9월에 표층수의 수온이 27°C이었던 것이 서서히 낮아져 1999년 2월에는 5.5°C로 가장 낮았다가 서서히 증가하여 4월 중순에는 11.6°C에 이르렀다. 그 후 기온 증가에 따라 표면온도는 급격히 증가하여 30°C까지 증가하였으나 수심 15m 깊이에서는 최고 18°C까지 증가하였다.

이와는 대조적으로 용존산소 농도는 1998년 9월~1999년 4월 중순까지는 표층수에서 수심 25m 까지 뚜렷한 차이가 없었으나 1월~4월까지의 동절기에 높았다. 특히 1999년 7~8월 이후는 수심 10 m 이하에서는 거의 무산소 상태임이 관찰되었다.

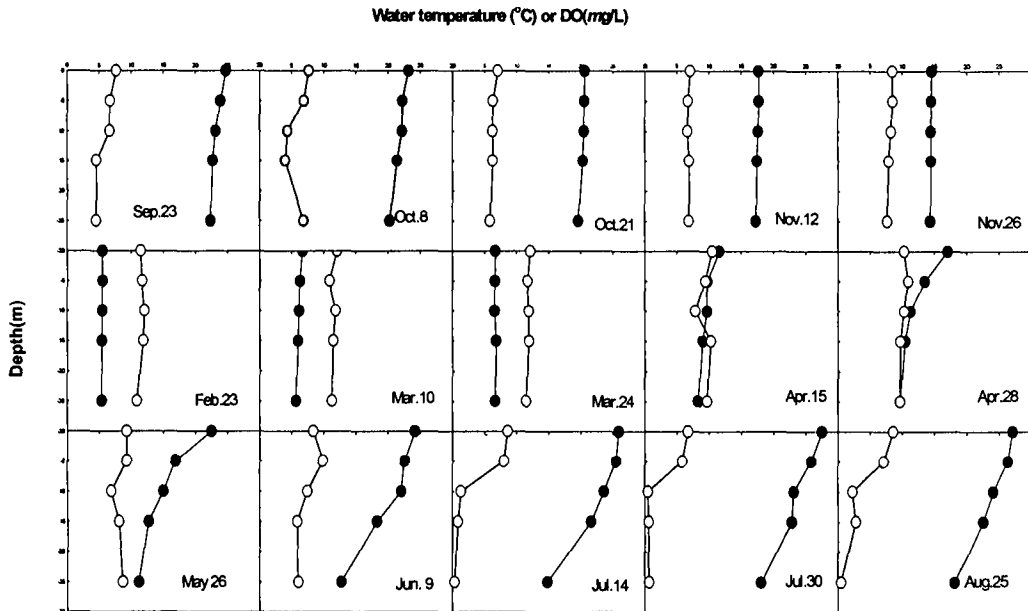


Fig. 3. Vertical distribution of water temperature (●) and DO (○).

## 2) 수소이온농도(pH)

pH는 1998년 10월 하순~1999년 4월 중순까지 표면에서 수심 25m까지 7.0 부근의 중성을 유지하였으나 4월 하순부터 표층수의 pH는 급격히 알칼리성으로 증가하였는데, Reynolds(1984)는 호수의 pH를 증가시키는 것은 지질 특성과 왕성한 광합성 활동에 의한 식물성 플랑크톤의 발생을 들 수 있다고 하였는데, 본 지점에서 하절기의 표층수의 급격한 pH 증가는 동일한 시기에 총엽록소 *a* 농도가 증가한 것으로 보아(Fig. 8) 식물성 플랑크톤의 왕성한 광합성 활동에 의한 영향으로 사료된다.

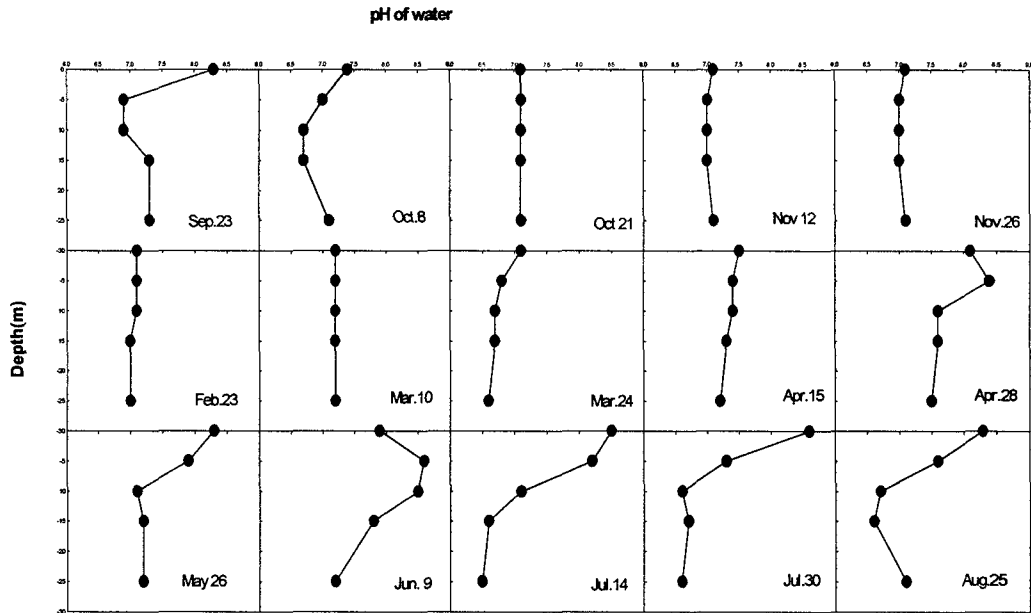


Fig. 4. Vertical distribution of pH of water.

3) 총 질소(T-N):

Fig. 5에서 보듯이 1999년 3월 24일과 5월 26일을 제외하고 수심별 총 질소의 농도는 특별한 경향성을 보이지는 않았다. Forsberg and Riding(1980)의 총 질소 함량에 따른 호소의 영양도 평가 기준에 따르면 총 질소가 0. ~1.5 mg/L 이면 부영양호, 1.5 mg/L 이상이면 고부영양호라이다. 이 기준에 의하면 대청호의 본 조사지점은 일년내내 표층수에서 수심 25m까지 총 질소 농도가 0.6~1.5 mg/L 로 부영양호 또는 고 부영양호에 해당하였다.

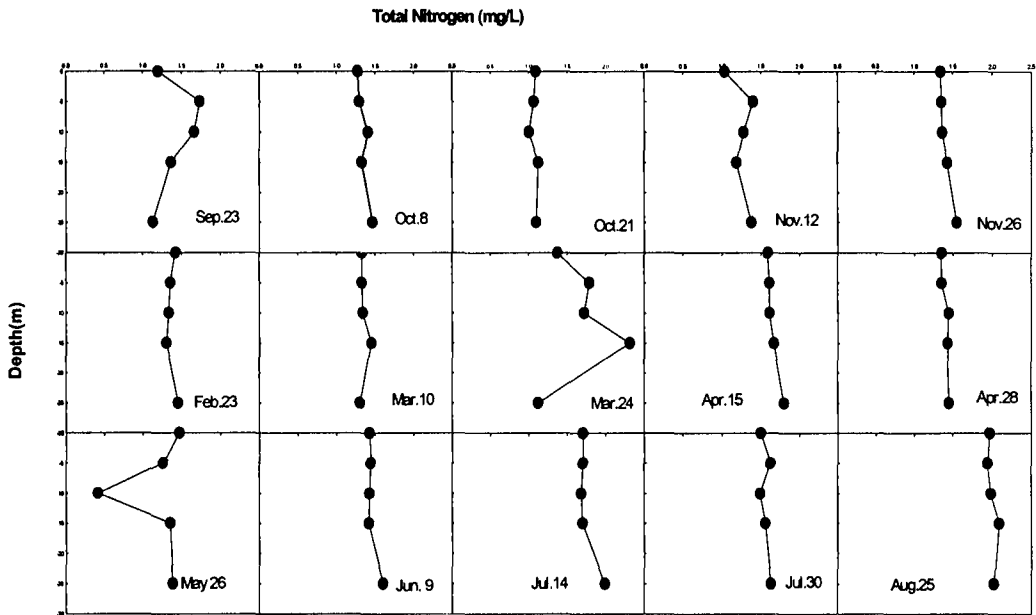


Fig. 5. Vertical distribution of total nitrogen.

#### 4) 총 인(T-P):

1998년 10월 21일과 1999년 5월 26일을 제외하고는 연중 표층수에서 수심 25m까지 총 인의 농도는 0.01~0.02 mg/L 이상(Fig. 6)이었으므로 0.01~0.02 mg/L 이면 중영양호, <0.02 mg/L 이면 부영양호라는 미국 EPA의 호수기준을 따르면, 대청호는 중영양호 또는 부영양호라고 볼수 있으며 따라서 수온만 조금 증가하여도 언제라도 식물성 플랑크톤이 크게 증가할 가능성을 가지고 있는 것으로 사료된다.



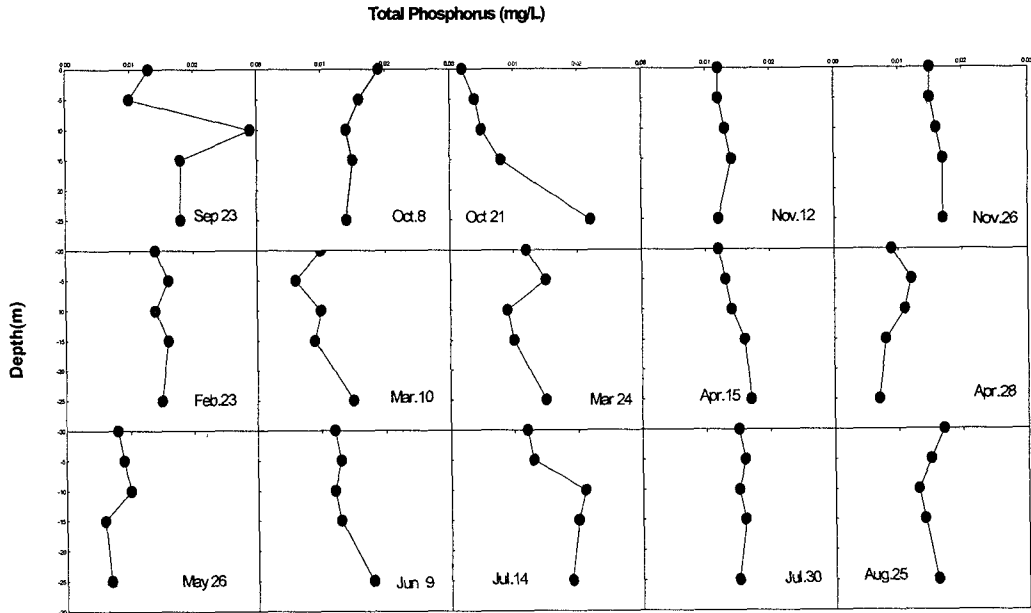


Fig. 6. Vertical distribution of total phosphorus.

### 5) 부유물질(SS)

1998년 9월~10월 말, 1999년 7월부터 수심 5~25m 사이에 부유물질의 양이 크게 증가하였는데 1998년 9월 및 1999년 7~8월의 큰 강수량이 있었던 것으로 미루어 상류에서의 부유물질이 중층으로 유입된 영향으로 사료된다.

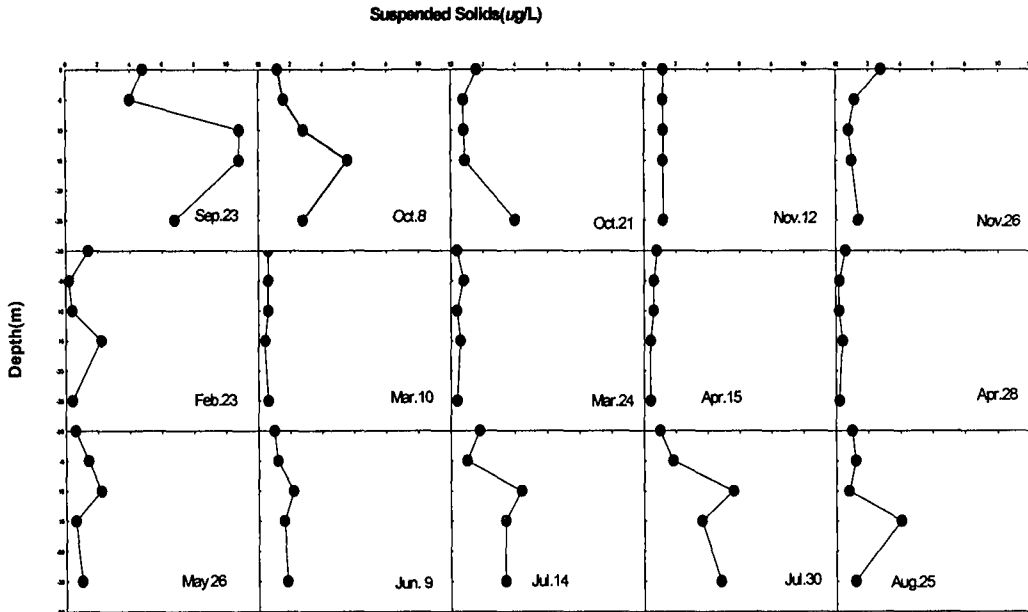


Fig. 7. Vertical distribution of Suspended Solids.

### 3. 총 세균수(total bacterial number) 와 총 엽록소량 (Total Chlorophyll *a*)의 수직적 분포

총 엽록소 *a*량과 총 세균수는 진광대(euphotic zone)인 표층수에서 수심 15m까지의 범위(Nagata *et al.*, 1994)에서만 변화하였다(Fig. 8). 식물 플랑크톤의 biomass에 대한 간접적 척도인 총 엽록소 *a*의 농도는 하절기인 1998년 9월~10월에 표면수에서 수심 10m까지는 20  $\mu\text{g/L}$  로 매우 높았으나 수심 15 m~수심 25m까지는 매우 낮았다. 1998년 11월부터는 동절기에는 총 엽록소 *a*량이 수심별로 크게 차이가 없었으나 1999년 4월 하순부터는 수심 15 m에서부터 서서히 먼저 증가하기 시작하였으며 7월부터는 표면수의 총 엽록소 *a*량이 크게 증가하였다. 이는 강우로 인하여 상류로부터 유입된 영양염류 및 수온 증가에 따른 영향으로 사료된다.

이에 비하여 총 세균수는 1998년 9월 이후에는 기온 하강에 따라 서서히 감소하였으나, 1999년 4월부터 서서히 증가하여 7월에는 표층수에서 크게 증가하는 것을 관찰할 수 있었다. 이는 Fig. 3의 결과에서 알 수 있듯이 호수 내의 주요 영양염류인 총 질소와 인이 연중 충분한 환경에서 수온의 점진적 상승에 의한 것으로 사료된다. 1999년 7월 하순~8월경에는 수심 10m 이상

의 깊이에서 수온이 높음에도 불구하고 세균수가 감소하는 경향을 보였는데 이는 수심 10 m 깊이에서의 용존산소의 부족(Fig. 3)에 의한 것으로 사료된다.

빙 등 (2002)의 연구 결과에 의하면 본 연구의 조사지점인 만입부 표층수에서의 총 세균수는 엽록소 *a* (<200 um) 량과 가장 상관성이 높았다( $r=0.72$ ,  $p<0.05$ ). 그러나, Fig. 8에서 보듯이 특히 하절기의 겨우 수심에 따른 총 세균수의 변화는 단편적인 수질요인이나 엽록소 *a* 량만의 설명할 수는 없다. 호수 생태계에서 세균의 기능적 역할을 밝히기 위해서는 수심별 세균의 기능적 분류, 세균의 효소활성 측정 및 동·식물플랑크톤과의 관계를 밝히기 위한 후속 연구가 필요한 것으로 판단된다.

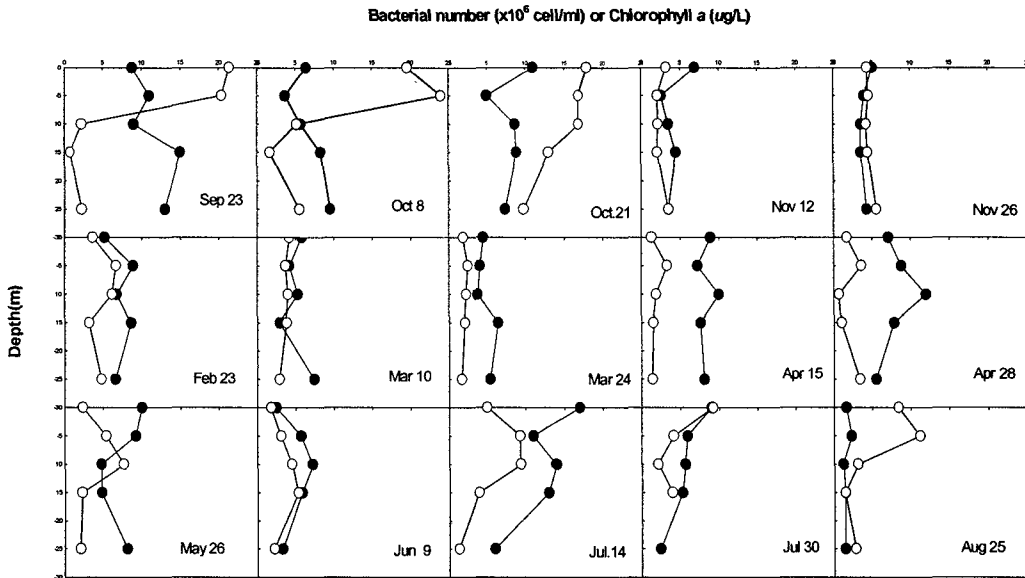


Fig. 8. Vertical distribution of bacterial number(●) and chlorophyll a(○).

## 참고문헌

- 기상청. <http://www.kma.go.kr>, 1998-1999.
- 김동주, 홍선희, 안태석. 1999. 소양호에서 세균군집구조의 계절적·수직적 변화. *한국미생물학회지* **35**: 242-247
- 빙선혜, 이상욱, 황순진, 오인혜. 2002. 대청호에서 계절에 따른 세균군집 및 환경요인의 변화. *한국육수학회지* **35**: 71-78.
- 홍선희, 안태석. 1998. Fluorescent *in situ* Hybridization 방법으로 분석한 소양호 세균 군집 구조의 계절적 변화. *한국미생물학회지* **34**: 169-174
- APHA-AWWA-WPCF. 1989. *Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater*. 17th ed. American Pulbic Health Association, Washington, DC.
- Forberg, C. and S. O. Riding. 1980. Eutrophication parameters and trophic state indices in 30 Swedish waster receiving lakes. *Arch. Hydrobiol.* **89**: 189-207.
- Mun, J.-J., S.-W. Lee, W.-J. Hwang, and I.-H. Oh. 2001. Seasonal Fluctuation of Chlrophyll a concentration in the size fractionation of phytoplankton in Daechung Reservoir. *Korean. J. Limnol.* **34**: 277-284.
- Munster, U., and R. J. Chrost. 1990. *Origin, Composition And Microbial Utilization Of Dissolveed Organic Matter*. pp. 8-46 in Overbeck, J and Chrost, R. J.(editors), *Aquatic Microbial Ecology*; Biochemical and Molecular Approaches. Springer Verlag, New York.
- Nagata, T., K. Takai, K. Kawanobe, D. Kim, R. Nakazato, N. Guselnikova, N. Bondarenko, L. Mologawaya, T. Kostrnova, V. Drucker, Y. Satoh and Y. Watanabe. 1994. Autotrophic picoplankton in southern Lake Baikal: abundance, growth and grazing mortality during summer. *J. of Plankton Research* **16**: 945-959.
- Porter, K. G., and Y. S. Feig. 1980. The Use Of DAPI For Identifying And Counting Aquatic Microflora. *Limnol. Oceanogr.* **25**: 943-948.
- Reynold, C. S. 1984. *The Ecology Of Freshwater Phytoplankton*. Cambridge Univ. Press, New York, pp.384.
- Trebesius, K., R. Amann, W. Ludwig, K. M. hlegger, and K. H. Schleifer. 1994. Identification Of Whole Fixed Bacterial Cells With Nonradioactive rRNA Targeted Transcript Probes. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**: 3228-3235.