

동·하계 가막만 표층 퇴적물의 환경특성과 해양미생물의 분포

이대성 · 김윤숙 · 정성윤* · 강창근** · 이원재
부경대학교 미생물학과, *부산대학교 한국 Bio-IT 파운드리 센터,
**부산대학교 생물학과
(2008년 3월 17일 접수; 2008년 6월 9일 채택)

Environmental Characteristics and Distributions of Marine Bacteria in the Surface Sediments of Kamak Bay in Winter and Summer

Dae-Sung Lee, Yun-Sook Kim, Seong-Yun Jeong*,
Chang-Keun Kang** and Won-Jae Lee

Department of Microbiology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

*Korea Bio-IT Foundry Center, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

**Department of Biology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

(Manuscript received 17 March, 2008; accepted 9 June, 2008)

Abstract

To investigate correlation between the distribution of marine bacteria and environmental characteristics in the surface sediments of Kamak Bay, chemical oxygen demand(COD), acid volatile sulfide(AVS), ignition loss(IL), total organic carbon(TOC), and total organic nitrogen(TON) were measured and analyzed at 7 stations in winter and summer. In winter, COD and AVS ranged from 13.45 mg/g to 30.06 mg/g(average: 23.58 mg/g) and from 0.03 mg/g to 1.04 mg/g(average: 0.63 mg/g), respectively. IL, TOC, and TON ranged from 8.03% to 11.41%(average: 9.41%), from 1.17% to 2.10%(average: 1.62%), and from 0.09% to 0.18%(average 0.15%), respectively. In summer, COD, AVS, IL, TOC, and TON ranged from 14.06 mg/g to 32.19 mg/g(average: 24.71 mg/g), from 0.03 mg/g to 1.11 mg/g(average: 0.66 mg/g), from 9.00% to 12.15%(average: 10.96%), from 1.27% to 2.12%(average 1.77%), and from 0.12% to 0.19%(average: 0.16%), respectively. These values were relatively higher than those in winter. Kamak Bay had high C/N ratio that might be resulted from the input of terrestrial sewage and industrial wastewater. The number of marine viable bacteria was 8.9×10^4 cfu/g in winter and 9.7×10^5 cfu/g in summer. The most abundant species were *Pseudomonas* spp., *Flavobacterium* spp., and *Vibrio* spp. in the surface sediments of Kamak Bay. It was found that the concentration of organic matters and viable bacterial cells in the inner part were relatively higher than those in the outer of Kamak Bay. The distribution of viable bacterial cells was closely influenced by environmental factors.

Key Words : Correlation coefficient, Environmental factors, Kamak Bay, Marine microflora

1. 서론

가막만은 여수반도 남단과 돌산도에 둘러싸여 있으며 평균수심이 약 9 m인 천해로 대부분 수하식

굴 양식업이 성행하는 천혜의 수산자원 보고로서 그 규모가 전국 생산량의 30%에 달하는 중요한 어장이 있다¹⁾. 하지만 비교적 폐쇄적 해역에 인구증가와 주변의 임해 산업시설 및 과도한 굴 양식 등으로 인하여 하·폐수 및 자가 오염물질 등의 유입 증대로 적조현상이 상습화되고, 해양의 생물자원이 고갈됨으로써 어장환경의 악화 등 많은 문제가 발생하고 있다²⁾. 이러한 환경악화 현상에 대한 환경개선은 물론 수산업의 경쟁력을 높이기 위해서는 제반 현상의 발생 메카니즘에 대한 규명이 이루어져야 하며, 발생 메카니즘을 밝히기 위해서는 무엇보다도 자연환경의 변화과정을 생물학적, 화학적, 물리학적, 지리학적 등의 여러 방면의 종합적인 연구와 해석이 필요하다.

일반적으로 생물은 자연환경과 밀접한 관계를 가지고 있고 특히 해양저질 환경에서는 미생물과 여러 환경요인들이 매우 밀접한 관계로 상호작용을 한다. 해양 생태계에 있어서 해양미생물의 군집은 대단히 중요하며, 이러한 해양미생물은 유기물의 분해와 영양물질의 순환 등의 중요한 역할을 하고 있다³⁻⁵⁾. 해양미생물 군집은 해양 생태계에서 생산자이자 분해자로서 생태계의 안정성을 유지시키는 중요한 생물군집의 하나이므로 해양 생태계의 가장 기본적인 단계인 해양미생물에 대한 그 역할과 중요성이 커지고 있다^{6,7)}. 즉, 해양 생태계는 매우 다양한 생물들에 의해 복잡, 다양하게 구성되어 있으며, 특히 물리, 화학적 환경변화가 심한 만이나 하구역의 미생물은 외양에 분포하는 미생물에 비해 환경변화에 훨씬 많은 영향을 받기 때문에 오염물질의 양과 종류가 해양미생물의 분포와 활성에 큰 영향을 미친다. 또한 지구 전체의 70%를 차지하는 해저 퇴적물은 생지화학적 순환에 중요한 역할을 하며, 특히 해양 퇴적물에 주로 서식하는 미생물은 산화 및 환원적 순환과정을 통하여 유기물을 분해시키는 중요한 역할을 한다^{8,9)}. 해양 생태계에서 해양미생물의 종류와 군집의 크기는 물리·화학적 환경에 의해 지배되며, 분포와 종 조성은 환경요인과의 상호작용에 의해 변화하므로 해양미생물의 분포를 알기 위해서는 환경요인을 우선적으로 검토하여야 한다¹⁰⁾.

해양 생태계에 있어서 미생물의 동적 관계를 검토하기 위하여 많은 학자들이 해수 및 해저 퇴적물

중의 미생물의 계절적 변동에 대해 연구한 바 있지만, 가막만의 해양미생물의 분포에 대한 연구는 거의 없는 상태이다. 따라서 본 연구는 가막만의 해저 퇴적물의 동·하계 환경특성과 해양미생물의 분포를 조사하고 그들의 상관관계를 밝혀 가막만 해양 생태계의 기초자료를 제공하고자 한다.

2. 재료 및 방법

2.1. 시료 채취

동·하계 가막만 표층 퇴적물의 해양미생물상과 환경특성을 조사하기 위해 2월과 8월에 가막만 연안 양식장을 중심으로 7개 정점을 선정하여 표층 퇴적물을 채취하였다(Fig. 1). 표층 퇴적물은 개량형 주상채니기(gravity core sampler)를 이용하여 무균적으로 채취하였으며 채취한 시료는 Ice-box에 보관하여 실험실로 옮겨 분석하였다.

2.2. 표층 퇴적물의 환경인자 분석

채취한 시료는 각각 1 cm 간격으로 자른 0~3 cm의 표층 퇴적물을 대상으로 환경인자를 분석하였다. 시료의 분석 항목은 화학적 산소요구량(chemical oxygen demand: COD), 산휘발성_황화물(acid volatile sulfide: AVS), 강열감량(ignition loss: IL), 총 유기탄소(total organic carbon: TOC), 총 유기질소

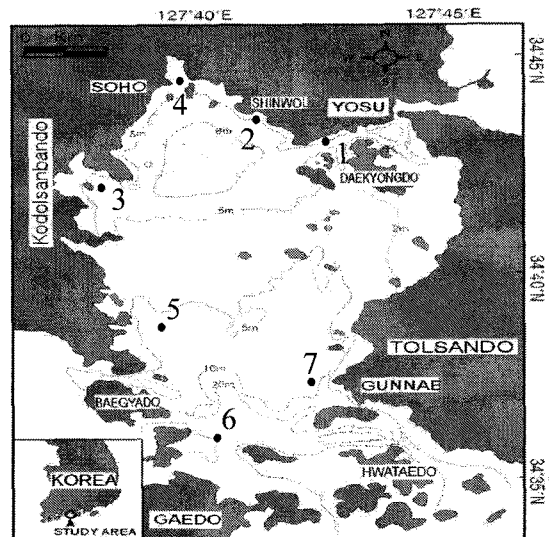


Fig. 1. Location of sampling stations in Kamak Bay.

(total organic nitrogen: TON)와 C/N의 비를 분석하였으며, 해양환경공정시험법¹¹⁾에 준하여 실험하였다. 즉 COD는 알칼리성 과망간산 칼륨법, 산취발성 황화물은 황검지관(Gastec No. 201H)법, 강열감량은 전기로 회화법으로 측정하였으며, TOC와 TON은 CHN analyzer(Perkin Elmer model 2400)를 이용하여 측정하였다.

2.3. 해양미생물의 생균수 조사

표층 퇴적물의 생균수(VC: viable bacterial cells counting)는 채취한 각각의 표층 퇴적물을 멸균 해수로 십진법으로 희석하여 PPES-II(yeast extract 1 g, proteose peptone 1 g, polypeptone 2 g, soytone 1 g, 0.1% ferric citrate 10 mL, seawater 1 L, 초기 pH 7.6)¹²⁾ 평판 배지에 평판도말법(spread plate method)¹³⁾으로 접종하여 20°C에서 7일간 배양 후 나타난 colony의 수를 CFU(colony forming unit)로 계산하였다.

2.4. 해양미생물의 분리 및 동정

채취한 시료를 PPES-II 평판배지에 접종하여 20°C에서 7일간 배양하여 나타난 각각의 특징적인 colony를 선별하여 순수분리한 후, 분리균주의 분류학적 위치를 검토하기 위하여 MacFaddin¹⁴⁾과 Gerhardt 등¹⁵⁾의 방법을 참고하여 형태학적, 배양학적, 생화학적인 특성을 조사하여 1차적으로 분류학적 유사성을 검토하였다.

또한 보다 정확한 동정을 위하여 16S rRNA gene을 이용한 sequencing을 행하였다¹⁶⁾. AccuPrep™ Genomic DNA extraction kit(Bioneer)를 사용하여 total genomic DNA를 추출하여 template로 사용하였다. 16S rRNA 유전자의 증폭에 이용된 primer쌍은 49F(5'-AGAATTCTNANACATGCAAGTCGAICG-3')와 1492R(5'-GTGGATCCGGYTACCTTGTACGACTT-3')을 사용하였다¹⁷⁾. 이때 forward primer의 5'에는 제한효소 EcoRI의 인식부위를, reverse primer의 5'에는 BamHI의 인식부위를 첨가하였다. PCR 반응은 AccuPower PCR Premix(Bioneer)를 사용하여 Minicycler(MJ Research, USA)로 PCR 반응을 실시하였다. 먼저 94°C에서 5분간 변성시킨 후, 94°C에서 1분, 61°C에서 1분, 72°C에서 1분씩 30회 반복하여 DNA를 증폭시키고, 마지막으로 72°C에서 5분간 extension시켜 PCR 반응을 종결시켰다. 정제된 16S rDNA의 PCR

반응물을 pGEM-T vector(Promega)에 ligation시켜 반응물을 미리 준비한 200 μ l의 XL1-blue competent cell에 transformation 시킨 후 alkaline lysis mini-prep 방법¹⁸⁾으로 plasmid를 mini-prep 하였다. 이와 같이 16S rDNA 분석을 통하여 염기서열을 결정된 후, National Center for Biotechnology Information(NCBI)의 GenBank 데이터베이스에서 가장 상동성이 높은 균주들과 염기서열을 비교하였으며, MEGA 2.1 package¹⁹⁾를 이용하여 계통도를 그렸다.

2.5. 해양미생물과 환경인자의 상관관계

가막단의 해양미생물의 생균수와 환경요인의 분석에 사용된 양적인 변수는 mg/g, %, cfu/g으로 서로 다른 변수를 사용하고 있다. 따라서 이들의 변화 범위를 동등하게 하기 위하여 본 연구에서는 각각의 변수를 log로 치환하여 데이터를 처리하여 분석²⁰⁾하였다. 또한 표층 퇴적물의 해양미생물 분포와 환경인자의 상관관계는 스피어만의 순위 상관관계(Spearman's rank order correlation)법²⁰⁾을 이용하여 산출하였다. 해양미생물의 분포와 환경인자 등 모든 자료의 평균과 표준편차 등의 기본 통계값과 가막단에 출현하는 해양미생물과 환경인자의 상관관계는 SPSS Ver 10.0 package를 이용하여 분석하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 표층 퇴적물의 환경인자 분석

동·하계 조사된 표층 퇴적물의 각 정점별 COD, 산취발성 황화물, 강열감량, TOC 및 TON의 분석 결과는 Table 1과 Table 2에 나타내었다. 유기물 오염의 지표인 COD의 평균 농도는 동·하계 각각 13.45~30.06 mg/g과 14.06~32.19 mg/g의 분포를 보였다(Table 1). 또한 정점별 COD 농도를 살펴보면 만 내측인 정점 1~4의 COD 평균 농도는 동·하계 각각 29.32±0.93 mg/g과 30.71±1.47 mg/g으로 일본 수산 자원 보호협회²¹⁾의 부영양화 기준인 20 mg/g을 훨씬 초과하였다. 이러한 결과는 우리나라의 대표적인 부영양화 해역인 진해만의 평균농도 30 mg/g²²⁾과 비슷한 수준이다. 또한 만 중앙 서부해역 정점 5의 COD는 동·하계 20.82±0.61 mg/g과 21.60±1.11 mg/g으로 정점 1~4보다는 다소 낮았으나 이 정점역시 부영양화 기준인 20 mg/g을 초과하였다. 그러

Table 1. Range and mean values of environmental factors in the surface sediments of Kamak Bay

Sampling Period	St.	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	IL (%)	TOC (%)	TON (%)	C/N ratio
Winter	1	28.68±0.47 (28.12~29.40)	0.98±0.04 (0.91~1.02)	9.89±0.40 (9.50~10.33)	1.65±0.06 (1.59~1.61)	0.15±0.01 (0.13~0.17)	13.13±1.46 (11.05~14.54)
	2	28.80±0.84 (27.78~29.72)	1.00±0.04 (0.94~1.04)	9.91±0.43 (9.33~10.42)	1.60±0.24 (1.34~1.91)	0.16±0.01 (0.15~0.18)	12.33±0.77 (11.19~13.11)
	3	30.06±0.65 (29.01~30.54)	1.04±0.03 (0.99~1.07)	10.18±0.39 (9.72~10.62)	2.04±0.21 (1.68~2.22)	0.18±0.02 (0.14~0.19)	13.71±2.49 (10.32~13.81)
	4	29.72±1.02 (28.64~30.84)	0.99±0.05 (0.95~1.07)	11.41±0.51 (10.69~11.89)	2.10±0.16 (1.87~2.29)	0.17±0.03 (0.15~0.20)	14.03±1.11 (13.20~15.75)
	5	20.82±0.61 (20.17~21.59)	0.37±0.02 (0.34~0.39)	8.33±0.11 (8.15~8.43)	1.62±0.09 (1.48~1.71)	0.16±0.01 (0.15~0.16)	12.15±0.50 (11.51~12.76)
	6	13.45±0.32 (13.14~13.86)	0.03±0.01 (0.02~0.04)	8.12±0.04 (8.08~8.17)	1.18±0.06 (1.09~1.24)	0.11±0.02 (0.08~0.14)	11.21±1.00 (10.08~12.41)
	7	13.51±0.26 (13.13~13.81)	0.03±0.01 (0.02~0.04)	8.03±0.06 (7.96~8.12)	1.17±0.06 (1.08~1.25)	0.09±0.01 (0.08~0.10)	11.95±1.88 (9.83~13.42)
Summer	1	29.48±0.56 (28.90~30.47)	1.01±0.09 (0.91~1.16)	12.12±0.07 (12.06~12.25)	2.05±0.08 (1.95~2.13)	0.15±0.01 (0.15~0.16)	15.61±0.94 (14.22~16.57)
	2	29.96±0.67 (29.21~30.99)	0.96±0.04 (0.91~1.01)	12.14±0.07 (12.05~12.22)	1.84±0.07 (1.72~1.90)	0.17±0.01 (0.15~0.19)	13.56±0.62 (13.04~14.78)
	3	32.19±1.05 (30.71~33.98)	1.11±0.07 (1.01~1.18)	12.15±0.17 (11.92~12.41)	2.12±0.17 (1.94~2.36)	0.18±0.04 (0.13~0.23)	14.32±2.09 (11.97~17.41)
	4	31.21±1.61 (29.17~33.20)	1.00±0.07 (0.96~1.10)	12.08±0.10 (11.93~12.21)	2.07±0.19 (1.88~2.32)	0.19±0.02 (0.16~0.21)	13.68±0.93 (12.90~14.91)
	5	21.33±1.11 (20.16~23.38)	0.47±0.07 (0.37~0.56)	10.20±0.14 (9.98~10.37)	1.79±0.11 (1.70~1.97)	0.16±0.01 (0.14~0.17)	13.34±0.54 (12.69~14.25)
	6	14.45±0.71 (13.64~15.36)	0.03±0.01 (0.02~0.04)	9.02±0.09 (8.85~9.09)	1.27±0.04 (1.20~1.32)	0.12±0.02 (0.10~0.16)	12.44±2.17 (9.04~15.05)
	7	14.06±0.49 (13.57~14.96)	0.05±0.01 (0.04~0.05)	9.00±0.17 (8.74~9.16)	1.27±0.02 (1.25~1.29)	0.13±0.02 (0.12~0.16)	11.17±1.06 (9.41~12.25)

Plus-minus and values in parentheses indicate standard deviation and range, respectively.

나 만의 외측인 만 입구 정점 6~7의 COD 평균은 동·하계 13.48±0.28 mg/g과 14.26±0.62 mg/g으로 부영양화 기준을 초과하지 않았다 (Table 2).

산취발성 황화물의 경우 동·하계 각각 0.03~1.04 mg/g과 0.03~1.11 mg/g의 평균 분포를 보였으며 (Table 1), 정점별로는 정점 1~4의 평균은 각각 1.00±0.04 mg/g과 1.02±0.08 mg/g으로 부영양화 기준²¹⁾인 0.20 mg/g을 훨씬 초과하였다. 정점 5의 평균은 동·하계 0.37±0.02 mg/g과 0.47±0.07 mg/g으로 정점 1~4보다는 낮았으나 이 역시 부영양화 기준을 초과하였다. 그러나 정점 6~7의 경우 동·하계 평균이 0.03±0.01 mg/g과 0.04±0.01 mg/g으로 부영양화 기준을 초과하지 않았다 (Table 2).

강열감량의 경우 동·하계 각각 8.03~11.41%와 9.00~12.15%의 평균 분포값을 보였으며 (Table 1),

정점별로는 정점 1~4의 강열감량의 평균 농도는 동·하계 10.35±0.75%와 12.12±0.11%의 값을 보였다. 정점 5의 경우 평균 8.33±0.11%와 10.20±0.14%로 정점 1~4에 비해 다소 낮은 값을 보였으며, 정점 6~7의 평균 농도는 8.08±0.07%와 9.01±0.13%으로 정점 1~5에 비해 낮은 수치를 나타내었다 (Table 2). 그러나 강열감량과 다른 환경인자와의 양상을 비교해 볼 때 정점 1~4의 경우 그 양상이 조금은 다르게 나타났는데 이는 강열감량에 의해 유기물을 측정하는데 있어서 광물격자 안의 수분과 약한 화합물들이 고온에서 없어져서 생기는 오차로 추정된다¹¹⁾.

TOC의 동·하계 평균은 각각 1.17~2.10%와 1.27~2.12%의 분포 범위를 나타내었다 (Table 1). 정점별로는 정점 1~4의 TOC 평균은 동·하계 각각 1.85±0.28%와 2.02±0.17%를 보였으며, 정점 5의 평

Table 2. Mean values of environmental factors in the surface sediments of Kamak Bay

Sampling Period	St.	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	IL (%)	TOC (%)	TON (%)	C/N ratio
Winter	1~4	29.32±0.93	1.00±0.04	10.35±0.75	1.85±0.28	0.17±0.03	13.17±2.22
	5	20.82±0.61	0.37±0.02	8.33±0.11	1.62±0.09	0.16±0.01	11.57±0.91
	6~7	13.48±0.28	0.03±0.01	8.08±0.07	1.17±0.06	0.11±0.02	11.52±1.36
Summer	1~4	30.71±1.47	1.02±0.08	12.12±0.11	2.02±0.17	0.17±0.03	14.16±2.03
	5	21.60±1.11	0.47±0.07	10.20±0.14	1.79±0.11	0.16±0.01	13.34±0.54
	6~7	14.26±0.62	0.04±0.01	9.01±0.13	1.27±0.03	0.13±0.02	11.80±1.76

균은 동·하계 각각 1.62±0.09%와 1.79±0.11%였다. 정점 6~7의 경우 평균 TOC 농도는 동·하계 각각 1.17±0.06%와 1.27±0.03%로 정점 1~5에 비해 농도가 비교적 낮게 나타났다(Table 2). 동·하계 TON의 평균은 각각 0.09~0.18%와 0.12~0.19%의 범위를 나타내었으며(Table 1), 정점별 평균 농도는 정점 1~4의 경우 동·하계 모두 0.17±0.03%의 범위 안에 들었으며, 정점 5의 경우도 동·하계 모두 0.16±0.01%로 비슷한 양상을 보였다. 정점 6~7의 경우 TON의 동·하계 평균농도는 0.11±0.02%와 0.13±0.02%로 TON의 경우 조사한 모든 정점에서 다른 환경인자에 비해 동·하계 평균 농도가 그다지 많은 차이를 나타내지 않았다(Table 2). C/N ratio 평균은 동·하계 각각 11.21~14.03과 11.17~15.61의 분포를 나타내었으며(Table 1), 정점별로는 정점 1~4의 경우 동·하계 각각 13.17±2.22와 14.16±2.03의 값을 보였으며, 정점 5는 11.57±0.91과 13.34±0.54, 정점 6~7의 경우 11.52±1.36과 11.80±1.76의 값을 보였다(Table 2). C/N ratio의 경우 조사한 모든 정점에서 11 이상의 값을 나타내었는데 이러한 결과는 육상 오염물질의 유입이 가막만의 오염에 크게 작용하고 있음을 나타낸다.

조사한 거의 모든 정점에서 수온이 높은 하계의 환경인자 농도가 수온이 낮은 동계에 비해 높은 수치를 나타내었다. 또한 정점별로는 만의 외측인 만 입구의 정점 6~7에 비해 반폐쇄성 내만의 북부 해역과 중앙부 해역인 정점 1~5에서 각각의 환경인자 농도가 높게 나타났으며 부영양화 기준을 초과하였다. 만의 외곽보다 내만으로 갈수록 해저 퇴적물로 인한 오염이 많이 진행된 것으로 판단되며, 이러한 결과는 Cho 등의 보고²³⁾와 잘 일치하였다. Cho 등²³⁾과 Kang 등²⁴⁾은 가막만의 오염 정도가 부영양화 초기 단계이며 오염의 가능성이 있다고 보고하였으

나 현재 가막만의 오염 정도는 앞서 보고한 부영양화의 초기 단계를 넘어 그 오염 정도가 매우 심각한 단계에 이른 것으로 판단된다.

3.2. 해양미생물의 분포와 종조성

동·하계 가막만에서 채취한 표층 퇴적물을 멸균 회석수로 회석하여 PPES-II 평판배지에 접종하여 20℃에서 7일간 배양하여 나타난 colony를 CFU로 계산하여 현장의 각 정점별 해양미생물의 동태를 파악하였다. 해양미생물의 평균 생균수는 동·하계 각각 8.9×10^4 cfu/g과 9.7×10^5 cfu/g이 출현하였으며, 각 정점별로 나타난 생균수를 살펴보면 정점 1~4의 평균 생균수는 동·하계 각각 1.2×10^5 cfu/g, 1.3×10^6 cfu/g이 출현하였으며 정점 5의 경우 동·하계 6.8×10^4 cfu/g, 1.0×10^5 cfu/g, 정점 6~7의 경우 동·하계 각각 4.9×10^4 cfu/g, 4.4×10^5 cfu/g이 출현하였다(Fig. 2). 생균수의 경우 동·하계 모두 유기물 농도가 비교적 높은 정점 1~4에서 다른 정점들에 비해 더 높은 미생물 분포를 보였으며, 비교적 유기물 농도가 낮은 정점 6~7의 경우 유기

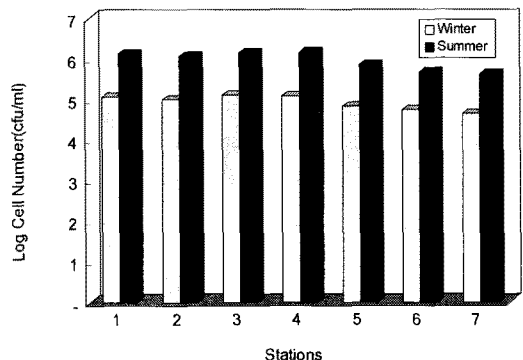


Fig. 2. Spatiotemporal variations of viable bacterial cells in the surface sediments of Kamak Bay.

물 농도와 마찬가지로 해양미생물의 분포가 다른 정점들에 비해 낮았다. 이러한 결과는 해양미생물은 유기물 농도가 낮은 외해에 비해 유기물 농도가 높은 내해에 더 많이 분포하고 있다고 보고한 Chung과 Park의 연구 결과²⁵⁾와 일치하였다. 그러나 Kang 등²⁶⁾이 보고한 영일만의 생균수는 만 내측과 외측의 차이가 없다는 결과와는 다소 다른 결과를 나타내었지만 유기물의 농도가 해양미생물의 개체수에 영향을 미친다는 결과와는 잘 일치하였다.

또한 해양미생물의 우점종 조성을 조사하기 위해 우점적으로 자란 colony를 선별하여 순수분리한 후 16S rRNA 유전자를 이용한 sequencing을 통하여 선별한 균주를 동정하였다. 선별 균주에 대한 염기서열을 1.4 kb 이상 분석하여 GenBank의 DNA database에서 가장 상동성이 높은 균주들과 염기서열을

비교하였다. 이들 각각의 염기서열은 이미 밝혀진 균주들의 염기서열과 비교했을 때 전부 98% 이상의 상동성을 나타내었으며, 이들의 염기서열을 MEGA 2.1 package를 이용하여 계통수를 그려 분리균주들의 계통분류를 행하였다(Fig. 3, Fig. 4).

각 정점별로 해양미생물의 종조성을 살펴보면 동계의 시료에서는 모든 정점에서 *Pseudomonas*속이 우점하였으며, 그 다음으로 *Flavobacterium*속과 *Vibrio*속이 우점하였다. 만 중앙부와 만 입구 해역인 정점 5~7의 경우 *Bacillus*속이 다른 정점들에 비해 많이 출현하였다(Fig. 5). 하계의 경우 북부 내만과 중앙부 해역인 정점 1~5에서는 *Pseudomonas*속이 우점하였으나, 외해 측의 만 입구 해역인 정점 6, 7에서는 각각 *Vibrio*속과 *Alteromonas*속이 우점하였다. 동계에는 9속이 출현하였고 하계에는 10속 이상이 출

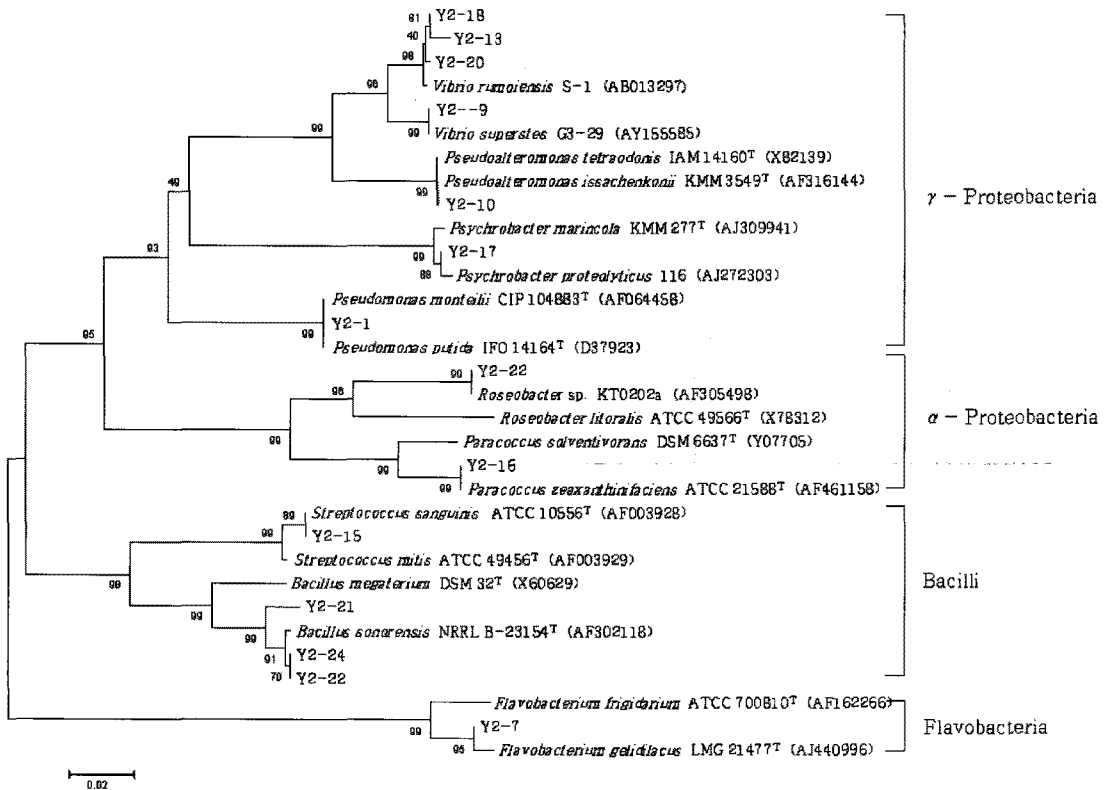


Fig. 3. Phylogenetic tree based on comparisons of the 16S rRNA gene sequences indicating the positions of marine bacterial strains isolated from the surface sediments of Kamak Bay in winter. The phylogenetic tree was generated using the neighbor-joining method. Bootstrap values, expressed as percentages of 1000 replications, are given at branching points. Bar, 2 nucleotide substitutions per 100 nucleotides.

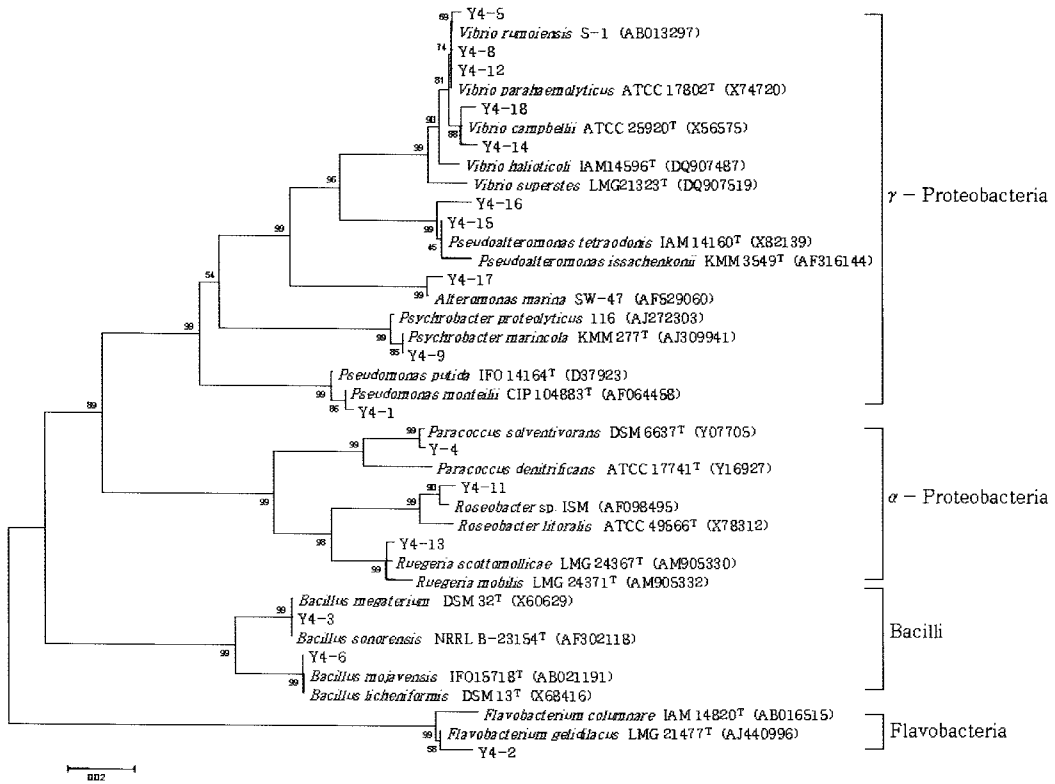


Fig. 4. Phylogenetic tree based on comparisons of the 16S rRNA gene sequences indicating the positions of marine bacterial strains isolated from the surface sediments of Kamak Bay in summer. The phylogenetic tree was generated using the neighbor-joining method. Bootstrap values, expressed as percentages of 1000 replications, are given at branching points. Bar, 2 nucleotide substitutions per 100 nucleotides.

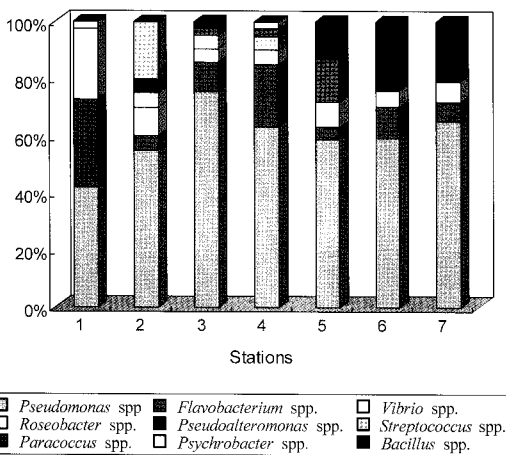


Fig. 5. Composition of marine microflora which were isolated at 7 stations in the surface sediments of Kamak Bay in winter.

현하였는데, 특히 하계의 정점 6, 7에서는 동·하계 다른 정점에서는 출현하지 않았던 *Reugeria*속과 *Alteromonas*속이 높은 현존량으로 출현하였다(Fig. 6). 이상의 결과를 전체적으로 살펴보면 동·하계 모두 *Pseudomonas*속이 우점하였으며, 그다음으로 *Flavobacterium*속과 *Vibrio*속 순으로 우점하였다. 특히 *Pseudomonas*속의 경우 동·하계 각각 59.9%와 53.1%의 매우 높은 출현률을 보였으며, *Flavobacterium*속은 각각 14.5%와 11.2%의 출현률을 *Vibrio*속은 각각 9.9%와 12.4%의 출현률을 보였다(Fig. 7). 이상 가막만에 출현하는 해양미생물의 생균수와 종의 다양성은 수온이 높고 유기물의 양이 많은 하계에 더 높았는데, 이는 수온 및 유기물 등의 환경요인에 의해 제한받는 환경에서는 적응하는 종이 적어 다양성이 낮게 나타난다는 Atlas의 연구 결과²⁷⁾와 잘 일치하였다.

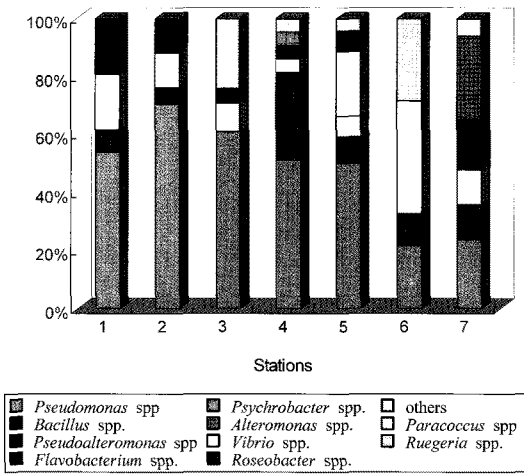


Fig. 6. Composition of marine microflora which were isolated at 7 stations in the surface sediments of Kamak Bay in summer.

3.3. 해양미생물과 환경인자의 상관관계

가막만의 해양미생물의 생균수와 환경인자의 상관관계를 밝히기 위해 각각의 변수를 log로 치환하여 데이터를 처리하여 분석을 하였으며, 상관관계는 스피어만의 순위 상관관계법으로 산출하였다. 해양미생물의 분포와 각종 환경인자의 상관관계는 Table 3에 나타내었다. 해양미생물의 분포와 COD의 상관관계는 $r=0.627(p<0.01)$ 로 다소 높은 양의 상관관계를 나타내었으며, 산취발성 황화물과의 상관관계는 $r=0.473(p<0.01)$ 으로 역시 양의 상관관계를 나타내었다. 강열감량의 경우 $r=0.811(p<0.01)$ 로 높은 양의 상관관계를 나타내었으며, TOC와는 $r=0.631(p<0.01)$ 로 다소 높은 양의 상관관계를 보였고, TON의 경우는 $r=0.327(p<0.01)$ 로 다소 낮은 양의 상관관

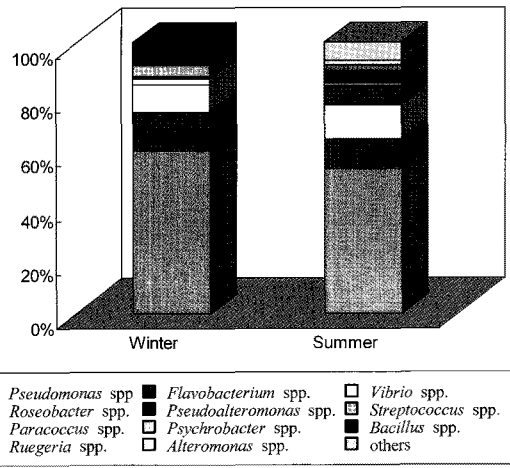


Fig. 7. Composition of marine microflora which were isolated from the surface sediments of Kamak Bay in winter and summer.

계를 나타내었으며, C/N ratio와는 $r=0.548(p<0.01)$ 로 양의 상관관계를 보였다. 이를 산점도를 이용한 이변량 상관분석으로 두 변수간의 관련성 정도를 확인하였다(Fig. 8). 가막만 조사 해역의 표층 퇴적물의 COD, 산취발성 황화물, 강열감량, TOC, TON 및 C/N ratio는 모두 표층 퇴적물속에 분포하고 있는 해양미생물의 생균수와 양의 상관관계를 나타내었으며, 이러한 결과로 미루어 볼 때 표층 퇴적물의 유기물 농도는 표층 퇴적물에 서식하고 있는 해양미생물에 영향을 미친다는 것을 알 수 있었다.

4. 결 론

동·하계 2월과 8월 두 차례에 걸쳐 가막만 7개

Table 3. Spearman's rank order correlation coefficient matrix of viable bacterial cells and environmental factors in the surface sediments of Kamak Bay

Constituents	N*	COD	AVS	IL	TOC	TON	C/N
AVS	77	0.862**	-	-	-	-	-
IL	77	0.853**	0.752**	-	-	-	-
TOC	77	0.864**	0.781**	0.811**	-	-	-
TON	77	0.679**	0.535**	0.523**	0.658**	-	-
C/N	77	0.563**	0.548**	0.611**	0.697**	0.083	-
Viable cells	77	0.627**	0.473**	0.811**	0.631**	0.327**	0.548**

*N means samples number

**Correlation is significant at the 0.01 level.

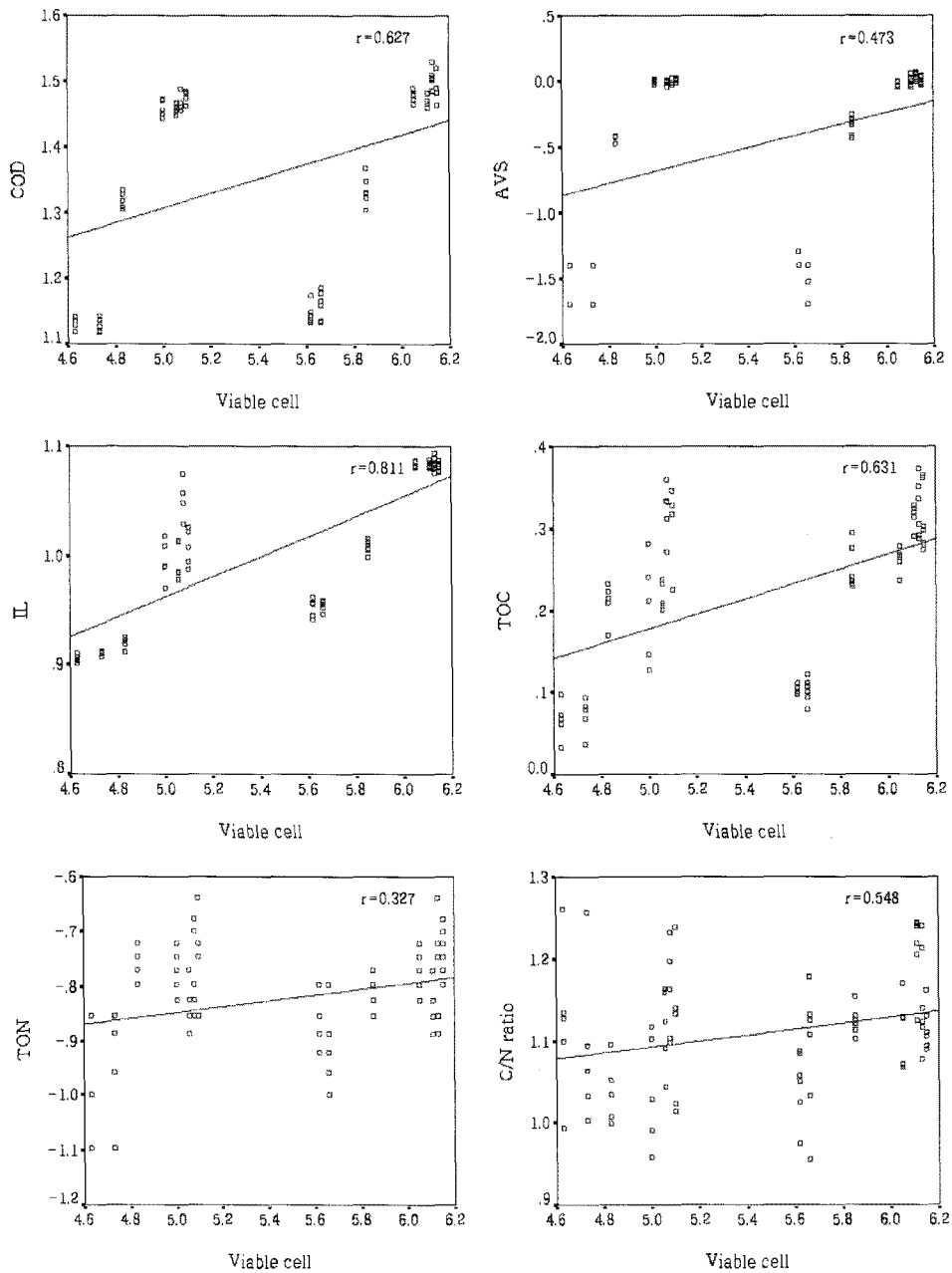


Fig. 8. The correlation of viable bacterial cells and environmental factors in the surface sediments of Kamak Bay.

정점의 표층 퇴적물의 해양미생물의 분포와 환경인자를 조사, 분석한 결과 표층 퇴적물의 COD는 동·하계 평균이 각각 13.45~30.06 mg/g, 14.06~32.19 mg/g으로 하계에 보다 높은 값을 나타내었으며, 정

점 6과 7을 제외한 모든 조사 정점이 부영양화 기준인 20 mg/g을 초과하였다. 산취발성 황화물은 동·하계 평균이 0.03~1.04 mg/g, 0.03~1.11 mg/g으로 역시 하계에 비교적 높은 값을 나타내었으며, COD

와 마찬가지로 정점 6과 7을 제외한 모든 조사 정점에서 부영양화 기준인 0.20 mg/g을 초과하였다. 강열감량은 동·하계 평균이 8.03~11.41%, 9.00~12.15% 범위였으며, TOC는 동·하계 평균이 1.17~2.10%, 1.27~2.12%였고, TON은 각각 0.09~0.18%, 0.12~0.19% 범위로 분석한 환경인자의 대부분이 동계에 비해 하계에 보다 높은 값을 나타내었다. 또한 가막만의 외측보다 내만에서 보다 높은 값을 나타내었다. 이러한 결과는 가막만 연안이 반폐쇄성 연안이라는 특성을 잘 반영하고 있다. 조사한 모든 정점에서 대체로 유기물 농도가 높았으며, C/N ratio가 11 이상의 높은 값을 나타내었다. 이상의 결과 육상 오염물질의 유입이 가막만의 오염에 크게 작용하고 있음을 알 수 있었으며, 가막만 연안의 오염 정도가 매우 심각한 수준에 이르렀음을 알 수 있었다.

가막만의 표층 퇴적물에서 분리한 해양미생물의 생균수는 동·하계 평균이 각각 8.9×10^4 cfu/g, 9.7×10^5 cfu/g으로 동계에 비해 하계에 보다 많은 개체수가 출현하였다. 또한 종조성을 살펴보면 *Pseudomonas*속과 *Flavobacterium*속 및 *Vibrio*속의 동·하계 평균이 각각 53.1%와 59.9%, 11.2%와 14.5%, 9.9%와 12.4%로 전체의 76.7~84.3%를 차지하였다. 해양미생물의 분포와 조사한 환경인자의 상관관계를 조사한 결과 모두 양의 상관관계를 나타내었다. 이상의 결과 COD나 산화발성 황화물, 강열감량, TOC, TON 등의 유기물을 비롯한 여러 환경인자가 해양미생물의 개체수에 직접적인 영향을 미침을 알 수 있었다.

참고 문헌

- Lee K. H., Cho K. D., 1990, Distributions of the temperature and salinity in Kamak Bay, Bull. Kor. Fish. Soc., 23(1), 25-39.
- Cho H. S., Yu Y. S., Lee K. H., 1994, Characteristics of seasonal fluctuation of water quality and sediment environment in Kamak Bay, Bull. Mar. Sci., Yosu Nat'l. Fish. Univ., 3, 21-33.
- Kang H., Kang D. S., 2002, Contribution of marine microbes to particulate organic matter in the Korea Strait, J. Kor. Soc. Oceanogr., 1, 35-44.
- Cho B. C., Azam F., 1988, Major role of bacteria in biogeochemical fluxes in the ocean's interior, Nature, 332, 441-443.
- Ducklow H. W., Duncan A. P., Williams P. J. L., John M. D., 1986, Bacterioplankton: A sink for carbon in a coastal marine plankton community, Science, 232, 865-867.
- Rheinheimer G., 1991, The influence of environmental factors on the development of microorganisms, In: Aquatic microbiology, 4th ed., Wiley and Sons, New York, 111-147.
- Jung K. J., Shin S. U., 1996, Bacterial flora of East China sea and Yosue coastal sea areas a. Horizontal distributions according to number of bacteria, *Vibrio* spp., J. Kor. Fish. Soc., 29(1), 9-16.
- Rochelle P. A., Cragg B. A., Fry J. C., Parkes R. J., Weightman A. J., 1994, Effect of sample handling on estimation of bacterial diversity in marine sediments by 16S rRNA gene sequence analysis, FEMS Microbiol. Ecol., 15, 215-226.
- Smith K. L. Jr., 1974, Oxygen demands of San Diegoteough sediments: An in situ study, Limnol. Oceanogr., 19, 939-944.
- Novisky J. A., 1983, Microbial activity at the sediment water interface in Halifax harbor, Canada, Appl. Environ. Microbiol., 45(6), 1761-1766.
- 해양환경공정시험법, 2002, 해양수산부, 330pp.
- Taga N., 1968, Some ecological aspects of marine bacteria in the Kuroshio current, Bull. Misaki. Mar. Biol. Inst. Kyoto Univ., 12, 65-76.
- Buck J. D., Cleverdon R. C., 1960, The spread plate as a method for enumeration of marine bacteria, Limnol. Oceanogr., 5, 75-80.
- MacFaddin J. F., 1980, Biochemical tests for identification of medical bacteria, 2nd ed., Williams and Wilkins Co., Baltimore, 36-308.
- Gerhardt P., Murray R. G., Costilow E. R. N., Nester E. W., Wood W. A., Krieg N. R., Phillips G. B., 1981, Manual of method for general bacteriology, 1st ed., Am. Soc. Microbiol., Washington D. C., 135-154.
- Dunbar J., Ticknor L. O., Kuske C. R., 2000, Assessment of microbial diversity in four Southwestern United States soils by 16S rRNA gene terminal restriction fragment analysis, Appl. Environ. Microbiol., 66, 2943-2950.
- Moyer C. L., Dobbs F. C., Karl D. M., 1994, Estimation of diversity and community structure through RFLP distribution analysis of bacterial 16S rRNA genes from a microbial mat at an active hydrothermal vent, Loihi Seamount, Hawaii, Appl. Environ. Microbiol., 60, 871-879.
- Sambrook J., Fritsch E. F., Maniatis T., 1989, Molecular cloning, a laboratory manual, 2nd ed., Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 25-28.
- Kumar S., Tamura K., Jakobsen, I. B., Nei M., 2001, MEGA2: Molecular evolutionary genetics analysis

- software, *Bioinformatics*, 17, 1244-1245.
- 20) Sokal R. R., Rohlf F. J., 1981, *Biometry: The principles and practice of statistics in biological research*, 2nd ed., W. H. Freeman and Company, San Francisco, 561-616.
- 21) 海洋環境水質基準 87, 1980, 社團法人 日本水産資源保護協會, 246-257.
- 22) Choi W. J., 1994, Numerical simulation of the formation of oxygen deficient water-mass in Jinhae Bay, *Bull. Kor. Fish. Soc.*, 27(4), 413-433.
- 23) Cho C. H., Park K. Y., Yang H. S., Hong J. S., 1982, Eutrophication of shellfish farms in Deukryang and Gamagyang Bays, *Bull. Kor. Fish. Soc.*, 15(3), 233-240.
- 24) Kang C. K., Lee P. Y., Kim P. J., Choi H. G., 1993, Daily variation of particulate organic carbon in Wonmun Bay on the South coast of Korea in late summer, *Bull. Kor. Fish. Soc.*, 26(3), 279-287.
- 25) Chung K. H., Park Y. C., 1998, Primary production and nitrogen regeneration by macrozooplankton in the Kyunggi Bay, Yellow Sea, *J. Oceanol. Soc. Kor.*, 23(4), 194-206.
- 26) Kang Y. S., Kim K. Y., Shim J. M., Sung K. T., Park J. I., Kong J. Y., 1999, Environmental characteristics and distributions of marine bacteria in Yongil Bay, *NFRDI*, 57, 175-184.
- 27) Atlas R. M., 1984, Diversity of microbial communities, *Adv. Microbial Ecol.*, 7, 1-47.