

## 청계천 복원구간 내 분변오염도 평가와 미생물 군집 연구

박영빈 · 이희태 · 김세운 · 고광표<sup>†</sup>

서울대학교 보건대학원 환경보건학과

### Assessment of Fecal Pollution and Bacterial Community Structure in Restored Section of Cheonggyecheon Stream

Youngbin Park · Heetae Lee · Seiyoon Kim · GwangPyo Ko<sup>†</sup>

Department of Environmental Health, School of Public Health, Seoul National University

(Received 17 June 2008, Revised 28 October 2008, Accepted 10 November 2008)

#### Abstract

In 2005, the 5.84-Km length of Cheonggyecheon stream, previously covered with concrete road, was uncovered in the middle of Seoul, Korea. We investigated microbial water quality in various sites in Cheonggyecheon stream. We took water samples on three different days. The sampling sites included inflow water from upper stream (Mojeongyo), midstream (Ogansugyo), and downstream (Muhakgyo). Fecal pollution indicator microorganisms were measured by both IDEXX Colilert<sup>®</sup> and Enterolert<sup>®</sup>. Microbial community from these sampling sites was also characterized based on 16S rRNA gene sequences. The average concentrations of total coliform are 5 CFU/100 mL, 1474 CFU/100 mL, and 1776 CFU/100 mL at Mojeongyo, Ogansugyo, and Muhakgyo, respectively. The average concentrations of fecal coliform were 28 CFU/100 mL, 47 CFU/100 mL in Ogansugyo, and Muhakgyo, respectively. The concentrations of other fecal indicator microorganisms including *E. coli* and *Enterococcus* sp. increased in downstream. When we characterized the microbial community, unique microbial community were discovered at different sampling sites. This study suggests that Cheonggyecheon stream is likely affected by non-point fecal sources and has unique microbial environment as the river flows downstream.

**keywords** : Cheonggyecheon stream, Fecal indicator microorganisms, Microbial community, Microbial contamination, 16S rRNA gene

## 1. 서론

수질오염은 다양한 오염원에 의하여 발생하며 공중보건학적으로 매우 중요한 과제이다. 미생물학적인 수질오염도 파악으로는 모든 병원성 미생물을 검출하기가 어려우므로, 일반적으로 대장균과 같은 지표미생물의 분포 분석을 통해 이루어진다(Cabelli, 1983). 이러한 지표미생물은 분석이 용이하고 환경에서 안정하여 다른 병원성 미생물과 비교 연구하기에 적합하다. 대표적으로 총대장균군(total coliform), 분원성대장균군(fecal coliform), 대장균(*E. coli*) 및 장내구균(*Enterococcus*) 등이 있으며, 지표미생물의 효과적인 검출 방법 및 적용에 관한 연구가 국내외적으로 보고되고 있다(박지은 등, 2006a; 정현미 등, 2003; U.S EPA, 2005). 대한민국의 환경부에서도 이미 지표미생물을 이용한 시험법을 고시하여 국내 먹는 물, 하천, 호수 등의 수질 관리에 지침으로 삼고 있으며, 총대장균군, 분원성 대장균군, 장내구균, 그리고 대장균등이 포함되어 있다(한국수자원공사, 2006; 환경부, 2007).

청계천은 2003년 7월부터 2005년 9월까지 복원공사를 통해 2005년 10월 1일 개통된 인공하천이다. 청계천으로 하루에 공급되는 물은 총 12만 톤으로 대부분 정수된 한강물이 사용된다. 잠실대교 부근 한강물은 자양취수장에서 여러 단계의 정수 및 소독 과정을 거친 후 상수원 2급수 수질 수준으로 청계천에 공급된다. 이런 과정을 거친 한강물은 청계광장을 비롯하여 복원 구간 내에 폭포, 분수 등의 시설로 유입되며, 하류에서는 안압천 및 정릉천이 청계천과 합쳐진다(청계천, 2007). 청계천은 인공하천으로 도심을 통과하고 있고 주변 도로 및 상가와 매우 근접하고 있어 일반 하천과 비교할 때 환경적으로 매우 독특하다. 즉, 청계천으로 유입되는 물의 대부분은 고도 처리수로 공급되고 그 구간이 상대적으로 짧기 때문에 주변 환경의 영향을 쉽게 받을 것으로 예상된다. 복원 이후 2년이 지난 시점에서 많은 사람들이 청계천을 방문하고 있으며, 다양한 동식물이 서식하고 있음이 보고되었다. 이는 청계천이 단순한 인공적인 하천을 넘어 주변 환경에 적응하여 독특한 수계 환경을 보여준다고 할 수 있다.

생태계에 있어서 미생물은 다양한 역할을 수행하고 있고 환경마다 다른 군집 양상을 보이고 있다(Maier et al., 2000). 즉, 미생물의 군집 연구를 통해 청계천의 수계환경

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed.  
gko@snu.ac.kr

을 이해할 수 있으며, 지표미생물의 정량 분석을 통해 수질의 오염도를 평가할 수 있다. 현재 청계천의 수질 측정 자료는 대중에게 월별 자료가 공개되고 있다(물환경정보시스템, 2007). 그러나 그 지표가 총대장균군과 분원성대장균군의 검출숫자표기 정도로 제한적이고, 그 결과는 계절에 따라 큰 차이를 보이고 있다. 이는 날씨 등의 환경에 따라 수질이 불안정함을 알 수 있다.

이 연구에서는 청계천의 상류, 중류, 하류지역에서 수질 오염의 지표미생물인 총대장균군, 분원성대장균군, 대장균, 그리고 장내구균의 분포로 수질오염 정도를 분석하였다. 이와 함께 미생물군집의 16S rRNA 유전자 분석을 통하여 각 위치에서의 미생물 군집양상을 조사하였다.

## 2. 연구방법

### 2.1. 표본수 선정 및 채수 방법

시료는 2007년 11월에 3회에 걸쳐 채수하였다. 청계천으로 공급되는 원수(原水) 분석을 위해 청계천으로 방류되기 전 뚝도 정수장에서 오존 처리하여 저장된 물을 약 3 L를 채수하였다. 청계천의 상류는 모전교, 중류는 오간수교, 그리고 하류는 무학교를 선정하여 각 다리 밑으로 흐르는 청계천 물을 2~3 L씩 멸균 채수통에 담은 방법으로 각각 3회 채수하였다(Fig. 1). 채수 후 4°C 냉장 보관하여 1시간 이내에 실험실로 운반하고 분석하였다.

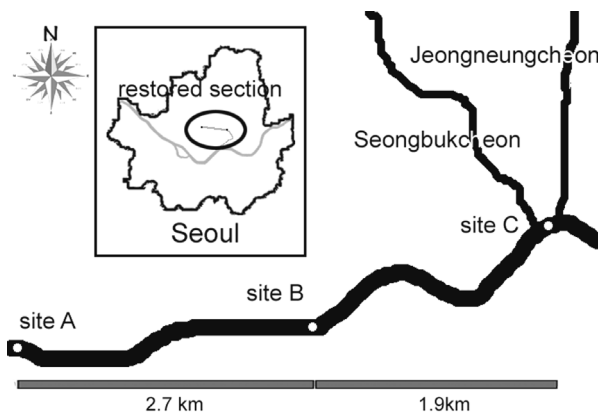


Fig. 1. Sampling sites around Cheonggyecheon. White round symbol is a each site A (Mojeonggyo), site B (Ogan-sugyo) and site C (Muhakgyo).

### 2.2. 지표미생물의 파악

총대장균군, 분원성대장균군, 대장균은 Colilert®(IDEXX, USA)를 이용하여 분석하였다. 장내구균은 Enterolert®(IDEXX, USA)를 이용하여 분석하였다. Colilert®과 Enterolert®를 이용한 정량 검사는 기존 막여과법을 대체할 수 있는 손쉬운 방법으로(Clark et al., 1991; Clark and El-Shaarawi, 1993; Park et al., 1995), 제조사의 지시에 따라 진행되었고 이는 다음과 같다. 채수한 표본수 100 mL를 플라스틱 용기에 담고 시약을 넣어 완전히 녹을 때까지 흔들어서 주었다. 오간수교와 무학교의 표본수는 상류인 모전교보다 상대적으로

로 오염도가 높을 것으로 예상하여 10배 멸균수로 희석한 10 mL에 해당하는 표본수 양을 검사에 사용하였다. 총대장균군과 대장균은 35±0.5°C에서 24시간 배양하였고 분원성대장균군은 35±0.5°C에서 2~3시간 먼저 배양한 후 21~22시간은 44±0.5°C에서 배양하였다. 장내구균은 Enterolert®용 시약을 사용하여 동일하게 진행하였고, 41±0.5°C에서 24시간 배양하였고 배양 후 각 흡의 색 변화를 통하여 최적 확률시험법(most probable number, MPN)으로 표본수의 지표미생물을 정량하였다.

### 2.3. 표본수에서 미생물 농축

환경 시료인 표본수 1 L를 막여과법(membrane filtration method)을 사용하여 세균을 농축하였다. 여과막은 구멍 크기 0.45 μm, 직경 47 mm의 니트로셀룰로오스(Whatman, cat no. 7141 104) 재질을 사용하였다(환경부, 2002). 여과 후 여과막을 8등분하여 3 mL의 멸균된 phosphate buffered saline(PBS)에 담근 후, 유리구슬(Glass bead) 100 μL 분량의 양을 첨가하고, 30분 동안 고강도 초음파처리(Power-sonic 520, Whasintech, Korea)하였다. 이후 10분 동안 vortex를 이용하여 강하게 교반하였고, 이후 3분 동안 500 g로 원심분리를 실시하여 여과막을 제거하였다(Weinbauer et al., 2002). 상층액을 1.5 mL씩 취하여 2개의 원심분리 튜브로 옮긴 후 4°C에서 10분 동안 24,000 g로 원심분리를 실시한 후 상층액을 제거하고 침전물에 400 μL의 멸균된 PBS를 첨가한 후 재 부유시킨다. 이 중 100 μL를 4 mL의 액체배지(nutrient broth)에 첨가하여 37°C, 200 rpm으로 16시간 진탕 배양하였다.

### 2.4. 미생물 DNA 보관 및 추출

농축 후 진탕 배양된 4 mL의 시료 중 1 mL는 최종 농도가 20%가 되도록 멸균된 glycerol을 첨가하여 -70°C에 보관하고, 나머지 3 mL 중 각 1.5 mL씩을 그람음성, 그람양성 세균의 DNA를 추출하기 위한 샘플로 사용하였다. DNA 추출은 DNeasy blood & tissue kit(Qiagen, USA)를 사용하여 제조사의 지시를 따라 시행하였다(Riffon et al., 2001).

### 2.5. 16S rRNA 유전자 증폭 반응

추출된 DNA 샘플은 Table 1에 기재한 프라이머를 이용하여 유전자 증폭 반응(polymerase chain reaction, PCR)을 실시하였다(Chakravorty et al., 2007; Marchesi et al., 1998). 한 반응 당 template DNA 2.5 μL를 첨가하였고 Taq DNA polymerase(Bioneer, Korea)를 사용하여 증폭하였고 PCR 반응액 조성은 제조사의 지시에 따라서 시행하였다. 각각의 PCR 반응액은 중합효소연쇄반응기(Applied Biosystems 2720, USA)를 사용하여 실시하였으며, 프라이머 1 set과 프라이머 2 set으로 반응을 할 시 각 참고문헌에 기술된 PCR 반응 조성으로 각각 증폭하였다. 생성된 PCR product는 1% ethidium bromide stained agarose gel에서 100 V로 20~30분간 전기 영동하여 DNA image analyzer로 확인하였다.

**Table 1.** Primer sets for PCR amplification of 16S rRNA genes

Primer	Sequence (5' to 3')	Construct (s) generated size	Reference	
1set	63f	CAGGCCTAACACATGCAAGTC	1.3 kb	Marchesi et al. (1998)
	1387r	GGGCGGWTGTACAAGGC		
2set	V3F	CCAGACTCCTACGGGAGGCAG	203 bp	Chakravorty et al. (2007)
	V3R	CGTATTACCGCGGCTGCTG		

## 2.6. TA vector 클로닝(cloning) 및 염기서열분석

총 3번의 시료채수 중 2번째(12월 21일) 채수한 샘플에서 확보한 PCR 산물을 1% agarose gel에서 50 V로 전기영동한 후 gel extraction kit(QIAquick Gel Extraction Kit, Qiagen, USA)를 사용하여 추출하였다. 16S rRNA 유전자 염기서열분석을 위한 TA cloning은 생성된 PCR 산물을 pGEM T easy vector system(Promega, USA)를 사용하여 제조사의 지시에 따라 실시하였고 열에 의한 충격 방법(heat shock)을 통해 Top10 competent cell(Invitrogen, USA)에 형질변환(transformation)하였다. 37°C incubator에서 12 시간 정도 배양하였고 생성된 colony 중 white / blue selection을 시도하여 얻은 white colony를 3개(unit)를 각각 3 mL LB ampicillin broth에서 배양하였다. 총 36개의 배양된 샘플은 각각 plasmid miniprep kit(Labopass, Cosmo4, Korea)으로 재조합 플라스미드를 추출한 후 Cosmo4에 16S rRNA 유전자 염기서열분석을 의뢰하였다.

## 2.7. 계통학적 분석

63f / 1387r 프라이머로 얻은 16개의 16S rRNA 유전자 염기서열(1.3 kb)과, V3F / V3R 프라이머로 얻은 17개의 16S rRNA 유전자 염기서열(203 bp)를 미국국가생물공학센터(NCBI) BLAST를 이용하고 다른 염기서열정보와의 비교하여, 1차적인 확인을 하였다. 이를 토대로 MegAlign program(DNASTAR Inc., USA)에서 Crustal W 방법으로 정렬된 결과를 얻었고, neighbor-joining analysis 방법으로 계통수(phylogenetic tree) 결과를 얻었다(Saitou and Nei, 1987). 염기서열 분석 결과 36개 중 3개는 염기서열 정보가 나타나지 않아 계통학적 분석에서 제외하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. 지표미생물을 이용한 분변오염평가

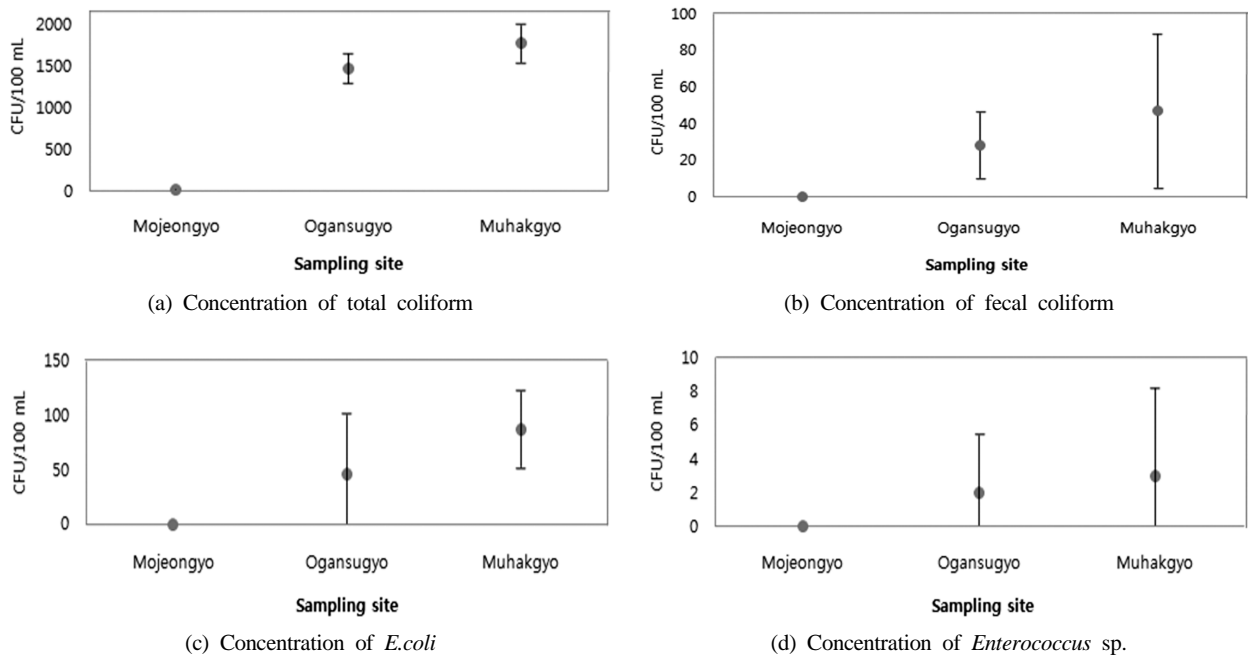
청계천으로 유입되기 전 뚝도 정수장에서 정수가 완료된 물에서는 지표미생물이 전혀 검출이 되지 않았다. 모전교, 오간수교, 무학교에서 얻은 결과는 다음과 같다. 모전교에서 1차 채수한 표본에서의 총대장균군의 수는 12 CFU/100 mL이었고, 두 번째와 세 번째의 표본수에서는 1~2 CFU/100 mL로 비교적 낮은 농도로 검출되었다. 그러나 분원성 대장균군, 대장균, 장내구균은 검출되지 않았다. 중류인 오간수교의 경우, 총대장균군은 1274~1587 CFU/100 mL로 3회 채수된 표본수에서 비슷한 양상으로 나타났고, 분원성 대장균군과 대장균은 각각 9~44 CFU/100 mL, 10~109 CFU/100 mL로 채수 회차에 따른 표본수마다 결과의 차이가

크게 나타났다. 장내구균은 1차 표본수에서는 6 CFU/mL를 나타냈으나 두 번째와 세 번째 표본수에서는 검출되지 않았다. 하류인 무학교의 경우, 총대장균군은 1553~1986 CFU/100 mL, 분원성대장균군 9~44 CFU/100 mL, 대장균은 52~122 CFU/100 mL로 나타났고, 장내구균의 경우 1차 채수 표본수에서만 9 CFU/100 mL로 검출되었다(Table 2). 평균값을 비교하면 상류지점인 모전교에서는 총대장균군의 농도는 5 CFU / 100 mL로 나왔을 뿐 분원성대장균군, 대장균, 장내구균의 검출은 되지 않았다. 반면 중류와 하류지점인 오간수교와 무학교의 경우 비교적 높은 농도를 보이고 있다. 총대장균군은 각각 1474 CFU/100 mL와 1776 CFU/100 mL, 분원성대장균군은 28 CFU/100 mL와 47 CFU/100 mL, 대장균은 46 CFU/100 mL와 87 CFU/100 mL, 장내구균은 1 CFU/100 mL와 3 CFU/100 mL로 검출되었다(Fig. 2). 이는 청계천의 흐름에 따라 분변오염의 가능성이 고려된다고 볼 수 있다.

뚝도 정수장에서 정수과정을 거친 무균상태의 물이 청계천에 공급된 후, 하류로 갈수록 지표미생물이 증가되었다. 상류인 모전교에서는 총대장균군만 검출되었으나, 중류인 오간수교에서 모든 지표미생물의 급격한 증가가 관찰되었다. 총대장균군으로 비교하였을 때, 상류에서 중류사이의 증가량이 중류에서 하류 사이의 증가량보다 약 4.9배나 높았다(Table 2). 하류지점인 무학교 전후로 안암천과 정릉천이 청계천으로 유입되고 있을 뿐 모든 구간에서 정수된 물이 공급되므로, 이는 중류지점인 동대문 이전에서 오염이 시작됨을 예상할 수 있다. 일반적으로 청계천과 같은 조건의 하천에서는 지표미생물의 증식의 가능성은 낮으므로, 청계천 주위에 존재하는 비점오염원이 그 원인으로 추정된다. 이와 함께 한강수이 외의 다른 하수처리장 물 또는 지하수 등이 유입 등에 관련된 부분은 차후 연구가 진행되어야 할 것이다. 이번 연구에서는 그 정확한 오염원과 구체적 과정은 알 수 없었고, 단지 앞으로 미생물 오염원의 추적(microbial source tracking) 등의 추가적인 연구가 진행되어야 할 것이다.

청계천의 환경적 특성상 미생물의 측정값은 채수 당시 날씨 등의 환경에 영향을 받을 수 있다(Paerl et al., 2003). 오간수교와 무학교에서 대장균의 측정값이 3번째 시료에서 가장 높게 나타났다. 다른 두 시료와 비교할 때, 오간수교의 경우 5.7~10.9배, 무학교의 경우 1.4~2.3배 증가된 측정값이다. 이는 3번째 채수 전 15 mm의 비가 내린 점을 고려할 때, 날씨에 따른 차이로 의심할 수 있다. 총대장균군, 분원성대장균군, 그리고 장내구균과는 달리 대장균은 강우량 변화에 더 민감한 것으로 생각해볼 수 있다.

환경부에서 측정한 자료에 의하면, 2006년 11월에는 총



**Fig. 2.** Concentrations of fecal indicator microorganisms at different sampling sites. (N=3) (Filled-symbol: an average concentration of three samples; error bar: a standard error of three samples). Concentrations of fecal coliform, *E. coli*, and *Enterococcus sp.* at Mojeonggyo were each under 1 CFU / 100 mL. (a) total coliform, (b) fecal coliform, (c) *E. coli*, (d) *Enterococcus sp.*

**Table 2.** Concentrations of various fecal indicator microorganisms in different sites of Cheonggyecheon

	Mojeonggyo					Ogansugyo					Muhakgyo				
	1st	2nd	3rd	Mean	SD	1st	2nd	3rd	Mean	SD	1st	2nd	3rd	Mean	SD
Total coliform	12	2	1	5	6	1553	1597	1274	1475	175	1986	1553	1789	1776	217
Fecal coliform	0	0	0	0	0	9	31	44	28	18	52	86	3	47	42
<i>E. coli</i>	0	0	0	0	0	19	10	109	46	55	88	52	122	87	35
<i>Enterococcus sp.</i>	0	0	0	0	0	6	0	0	2	3	9	0	0	3	5

대장균과 분원성대장균의 측정값이 각각 1300 CFU/100 mL과 80 CFU/100 mL이었고, 2007년 11월은 500 CFU/100 mL과 2 CFU/100 mL였다(물환경정보시스템, 2007). 환경부의 청계천 채수 위치는 금번 연구에서 상류로 정한 모전교 부근과 하류로 정한 무학교 부근 2곳이다. 이번 연구의 측정값과 비교하였을 때, 2006년 11월보다 2007년 11월의 측정값과 큰 차이를 보이고 있다. 하지만 채수당일 환경이 고려되지 않았기 때문에 단순한 비교는 무의미하다. 또한 일반적으로 건조하고 강수량이 적은 가을인데도 불구하고 이번 연구에서는 채수일 전후로 0.3 ~ 15 mm의 눈 또는 비가 내리(기상청, 2007), 이번 측정값의 변수로 작용할 수 있기 때문에 월별 비교는 불가능하였다. 청계천의 분변오염도를 좀 더 명확히 파악하기 위해서는 일반 시민들의 청계천 물과의 신체적 접촉이 잦은 하절기조사, 건기와 우기시 각각의 오염양상, 또한 강우강도에 따른 오염 양상을 보다 면밀히 조사해야할 것으로 판단한다.

### 3.2. 16S rRNA 유전자 증폭 및 계통학적 분석

이 연구에서는 16S ribosomal RNA(16S rRNA) 유전자의 분석방법을 통하여, 청계천의 위치별 존재하는 미생물들의

군집을 확인하였다. 이 16S rRNA 유전자는 대부분의 생물체에 존재하고 진화과정에서 매우 안정적으로 보존되어 있는 분자지표로 9개의 가변부위(variable region, V1 ~ V9)를 가지고 있고 미생물 종간의 다양성을 나타내고 있다(Van de Peer et al., 1996). 환경에서 분리 배양된 미생물의 16S rRNA 유전자의 염기서열 분석을 통해 생물학, 생태학, 환경학 등에서 군집의 구조 및 다양성에 관한 연구에 널리 이용되고 있다(김명 등, 2003; 한석균 등, 1998; Eichler et al., 2006; Jill, 2004; Weisburg et al., 1991).

16S rRNA 유전자 증폭 반응 결과 1set(63f/1387r)와 2set(V3F/V3R) 프라이머로 증폭된 PCR 산물은 모전교, 오간수교, 무학교 모든 표본수에서 확인할 수 있었다. NCBI의 BLAST 조사 결과 증폭된 16S rRNA 유전자의 부분염기서열은 *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Aeromonas*, *Exiguobacterium* 속과 높은 유사성을 보이고 있음을 1차적으로 확인하였다. 그리고 각각의 해당하는 미생물의 염기서열과의 비교를 통해 계통학적 분석이 이루어졌다. 63f/1387r와 V3F/V3R 프라이머로 분석한 계통수에서 모든 염기서열은 Gammaproteobacteria와 Firmicutes 강으로 나눌 수 있었다. 63f/1387r 프라이머로 분석한 16S rRNA 유전자의 염기서열을 바탕으로

로 만든 계통수에서 볼 때, 상류인 모전교의 경우 다섯 개의 염기서열이 Firmicutes 강(class)의 Bacillales 목(order) 속하는 *Bacillus* 속(genus)과 높은 유사성을 보고 있으며 나머지 한 개의 염기서열은 Gammaproteobacteria 강에서 속하는 Enterobacteriales 목(order)과 가장 높은 유사성을 보이고 있다. 일반적인 염소소독처리를 하는 처리수의 경우 잔류염소의 영향에 의해서 생존력이 강한 포자(spore)를 가지는 *Bacillus*가 그 외의 균에 비해서 염소소독에 대한 내성이 강하여 *Bacillus*가 우점종으로 나타날 수 있다. 그러나, 청계천의 원수는 *Bacillus*의 spore까지 효과적으로 처리할 수 있으면서 청계천 내 생물들에 미치는 위해성을 최소화하기 위해서 염소 소독 대신 오존 처리된다(Ishizaki et al., 1986). 그러므로 청계 상류 지점의 *Bacillus* 속은 청계천에로 방류 이후에 비점 오염으로 오염된 것으로 사료된다.

중류인 오간수교의 경우 다섯 개의 염기서열이 Gammaproteobacteria 강에서 속하는 *Acinetobacter* 속에 속하고 한 개의 염기서열은 *Aeromonas* 속에 속하고 있다. 하류인 무학교의 경우, 두 개는 *Acinetobacter* 속에, 한 개는 *Aeromonas* 속에, 나머지 두 개의 염기서열은 Enterobacteriales 목에 분포하였다. 동일한 방법으로 V3F/V3R 프라이머를 이용한 계통수를 분석하였다. 상류인 모전교의 미생물군 중

다섯 개는 Firmicutes 강의 *Bacillus* 속에 한 개는 Enterobacteriales 목에 포함되어 있었다. 중류와 하류인 오간수교와 무학교의 미생물군은 한 개의 염기서열이 *Exiguobacterium* 속에 포함되고 나머지는 모두 Gammaproteobacteria 강에 속하는 것으로 나타났다(Fig. 3, Fig. 4).

중/하류의 우점종이었던  $\gamma$ -proteobacteria는 분해가 용이한 저분자 유기물을 이용해 빠른 속도로 성장하며 영양 배지로 배양이 가능한 중속영양세균의 대부분을 포괄한다. 이 세균군(Wagner et al., 1993)은 1%미만으로 청정호수에서는 존재하고, 일반적인 수계에서는 타 세균군에 비해 낮은 비율로 존재하고 있다고 보고되었다(박지은 등, 2006b; Glockner et al., 1999). 청계천의 상류보다는 중, 하류 지점에 이러한  $\gamma$ -proteobacteria가 주로 분포하는 결과는 청계천의 위치와 상황을 함께 고려하여 분석하여야 할 것이다. 청계천은 도심지역에 위치하고 있고, 송수된 원수 이외에 복원 구간 내에서 추가적 물 공급 시설이 없다는 정보를 바탕으로 도심지역의 경우 강우 시 지표면 유출수량이 농촌지역에 비해서 증가되고 이와 더불어 다양한 비점오염물질도 증가된다. 특히, 청계천이 위치하고 있는 지점 주변인 상업지역, 산업지역 그리고 자동차도로는 다른 토지이용보다 불투수지역과 대기오염물질의 배출이 많아 비점오염물

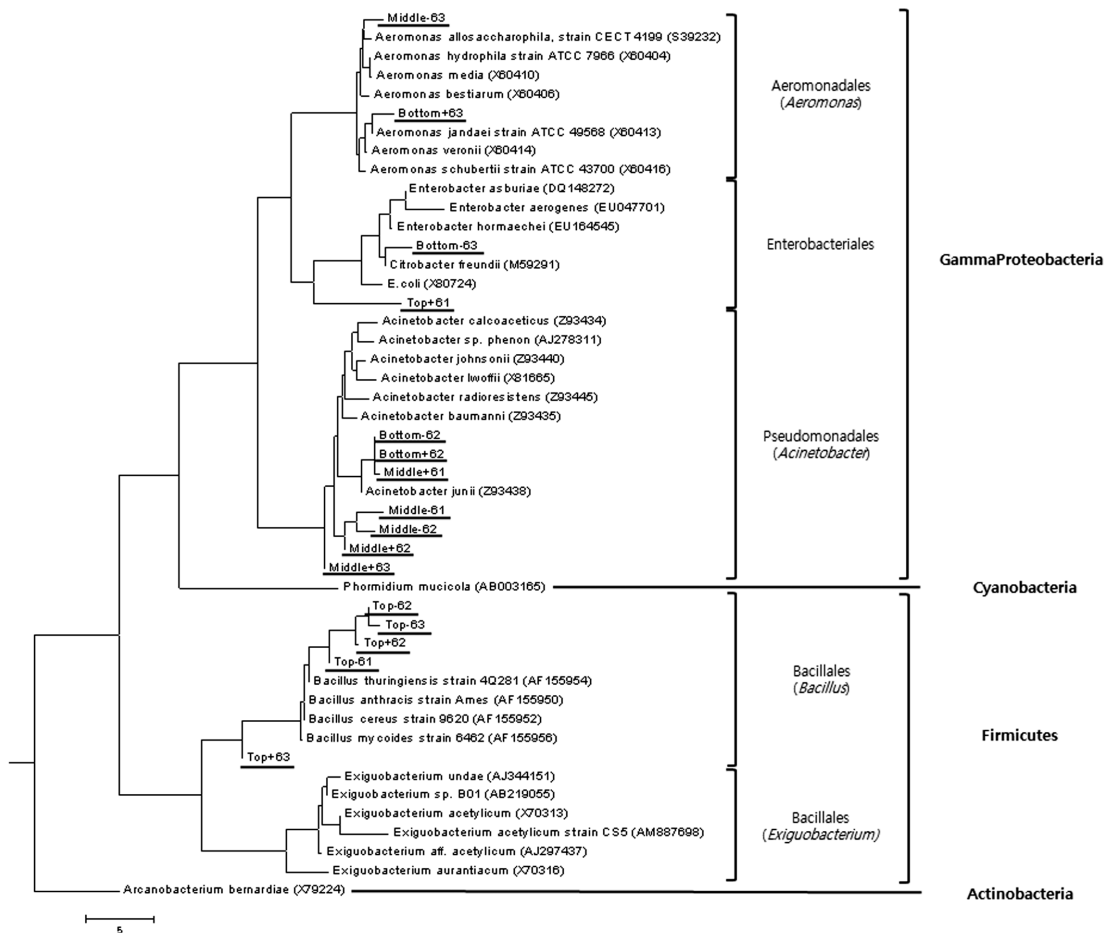
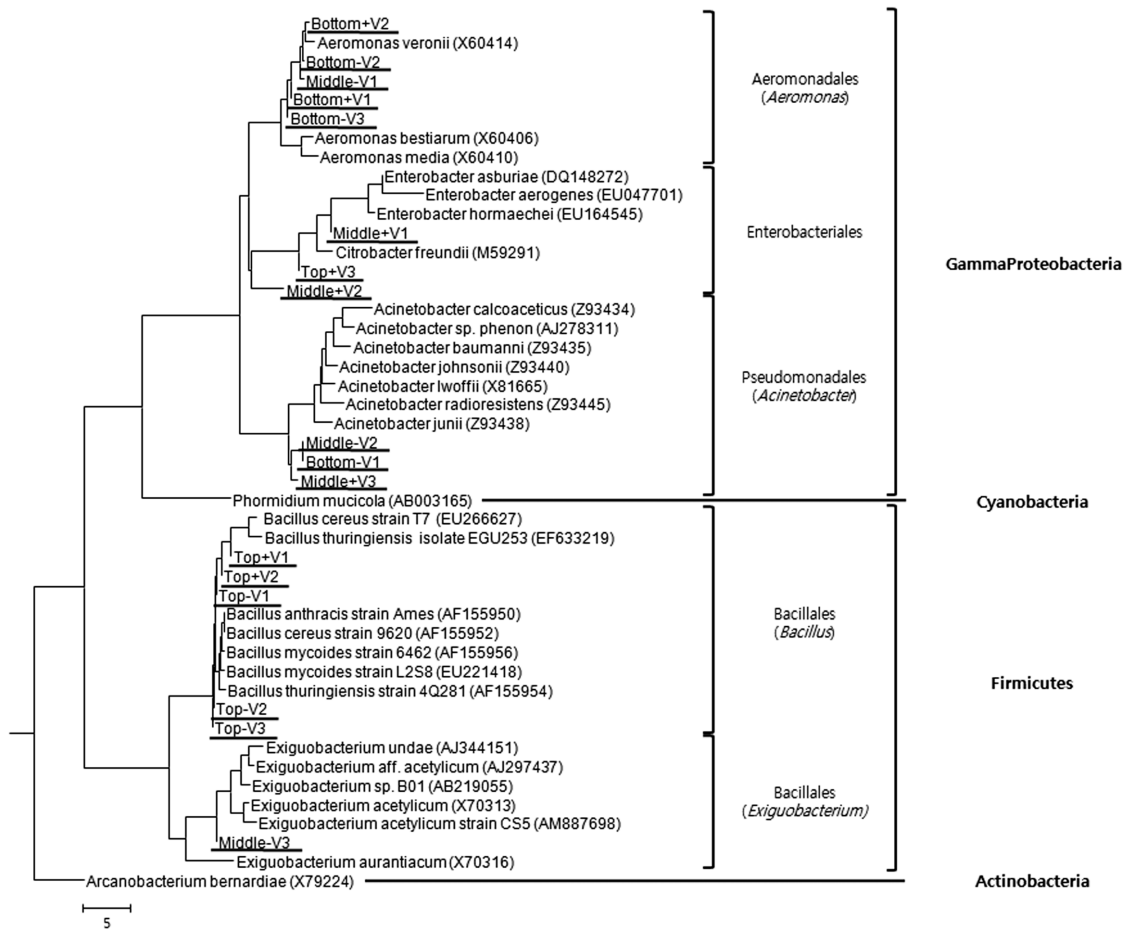


Fig. 3. Phylogenetic analysis of 16S rRNA partial gene sequences (1.3 kb in length by 63f/1387r primer). Each underlined Top is the upper stream (Mojeongyo), Middle is the midstream (Ogansugyo) and Bottom is the downstream (Muhakgyo).



**Fig. 4.** Phylogenetic tree showed the relation 16S rRNA partial gene sequences (203 bp in length by V3F/V3R primer) to reference major strains of domain *Bacteria*. *Phormidium mucicola*, *Arcanobacterium bernardiae* are outgroups as a each *Cyanobacteria* and *Actinobacteria*. Each underlined Top is the upper stream (Mojeonggyo), Middle is the midstream (Ogansugyo) and Bottom is the downstream (Muhakgyo).

질 유출량이 많다. 오염원으로는 기름방울, 식물류, 찌꺼기 등 폐기물을 포함한 각종 오염물질이 불투수성 표면에 축적되어 있다가 강우 시 씻겨나간다(최지용과 신은성, 1997). 이러한 내용을 바탕으로 실험자가 채수하였던 중류(오간수교)와 하류(무학교) 이전의 시점에서 해당 채수지점의 집수지역(watershed)인 상업지역, 도로 등으로부터 유기물 유입, 즉 비점오염원으로부터의 유기물이 유입되었기 때문으로 생각된다.

두 유전자증폭을 위한 프라이머를 사용한 계통학적 분석을 통하여, 상류의 미생물 분포가 중류와 하류의 미생물군과 차이를 보이는 것으로 확인되었다. 상류에는 주로 *Bacillus* 속과 높은 유사성을 보였다. 반면에 중류와 하류의 미생물군은  $\gamma$ -proteobacteria 강의 여러 속들과 높은 유사성을 보이고 있어 상류의 미생물군과 구분된다. 또한 상류는 대부분 *Bacillus* 속에 한정되어 있지만, 중류와 하류에서는 여러 속으로 나누어져 있어 더욱 다양한 군집을 형성하고 있음을 알 수 있다. 청계천 복원구간이 비록 짧지만 흐름에 따라 분포 미생물들의 다양성을 보여줌을 알 수 있다.

본 연구의 제한점으로는 샘플을 37°C에서 16시간 배양

후 얻은 총 핵산의 유전정보를 통해 실시한 것이기 때문에, 배양조건에 유리한 특정미생물에 편향될 가능성이 존재한다. 이는 각 샘플들이 모두 배양하지 않은 상태에서 PCR 증폭으로 유전자증폭결과를 얻을 수 없었기 때문에 이를 배양 후 실험으로 확인하였다. 그러나 본 연구의 목적은 청계천의 우점종을 확인하기보다는, 청계천의 하류로 가면서 분변오염의 가능성 및 미생물 군집 분포를 확인하는 것이다. 분변 오염의 가능성은 지표미생물에서 증가됨으로 확인하였으나, 군집분석에서는 우려할 만한 세균 군집은 검출되지 않았다. 이는 지표미생물만으로 분변오염정도를 측정하기에는 제한사항이 있다는 것을 나타낸다. 이러한 결과는 청계천의 상, 중, 하류에 존재하는 미생물을 연구하는 기초 자료로 사용될 수 있다.

#### 4. 결론

본 연구를 통해 청계천의 복원구간에 대하여 분원성대장균 등의 지표미생물을 분석하여 수질 오염의 정도를 위치별로 파악하였다. 이와 함께 16S rRNA 유전자의 유전자증폭을 이용한 미생물 군집을 계통분석학적으로 분석하였다.

- 1) 청계천 복원구간 내에서 유입수와 상류지역(모전교)은 미생물학적인 오염이 없거나 매우 낮으며, 청계천 중류(오간수교) 및 하류(무학교)로 갈수록 지표미생물 등의 오염도가 비교적 높게 나타났다. 상류에서 하류로 갈수록 분변오염을 지시하는 미생물이 증가한 것으로 보아 분변오염도가 높은 것으로 추측된다. 즉, 분변오염 지표 미생물이 중류(오간수교)부터 급증했는데, 이는 청계천 중류 이후에 비점오염원으로부터 분변오염물질이 유입됨을 시사하는 것이다.
- 2) 본 연구에서 상, 중, 하류에서 채수한 물의 16S rRNA 유전자의 염기서열을 분석하고 동정한 결과, 상류에 존재하는 세균의 종조성은 중, 하류에 존재하는 세균의 종류와 큰 차이를 나타냈다. 이는 청계천은 비록 짧은 인공하천이지만 미생물 군집이 위치에 따라 매우 다를 수 있다. 또한 청계천내 미생물 분포와 환경은 매우 다양한 것을 확인할 수 있었다. 이는 인공천인 청계천의 생태학적 특이성을 나타낸다.

## 사 사

본 연구는 환경부의 차세대 핵심환경기술개발사업 연구비 지원(과제번호 900-20080010)에 의해 일부 수행되었으며, 이에 감사를 드리는 바입니다.

## 참고문헌

- 기상청(2007). <http://www.kma.go.kr>.
- 김명, 전은형, 안태영(2003). 삼교호의 세균 다양성과 계통 분류학적 분석. *한국미생물학회지*, **39**(4), pp. 272-276.
- 물환경정보시스템(2007). <http://water.nier.go.kr>.
- 박지은, 김선덕, 조주래, 김상현, 이혜진, 이영옥(2006a). 지표수에서의 분변오염지표세균(대장균군) 검출방법의 연구. *수질보전 한국물환경학회지*, **22**(6), pp. 1052-1059.
- 박지은, 여상민, 이영옥(2006b). FISH법으로 분석한 주요호의 세균군집구조. *한국유수학회지*, **39**(2), pp. 219-225.
- 정형미, 오상현, 박정환(2003). 상수원에서 바이러스와 분변오염지표세균의 계절변동. *수질보전 한국물환경학회지*, **19**(3), pp. 329-338.
- 청계천(2007). <http://cheonggye.seoul.go.kr>.
- 최지용, 신은성(1997). 도시지역 비점오염원 관리방안 연구. *한국환경정책평가연구원 연구보고서*, **2**, pp. 27-56.
- 한국수자원공사(2006). 환경정책기본법시행령.
- 한석균, 이일규, 안태영(1998). 16S rRNA 유전자 계통분석에 의한 한강수계의 세균 다양성. *한국미생물학회지*, **34**(4), pp. 194-199.
- 환경부(2002). 먹는물수질공정시험법.
- 환경부(2007). 제2007-147호 수질오염공정시험방법.
- Cabelli, V. J. (1983). Microbial indicator systems for assessing water quality. *Antonie van Leeuwenhoek*, **48**(6), pp. 613-618.
- Chakravorty, S., Helb, D., Burday, M., Connell, N., and Alland, D. (2007). A detailed analysis of 16S ribosomal RNA gene segments for the diagnosis of pathogenic bacteria. *J. Microbiol. Methods*, **69**(2), pp. 330-339.
- Clark, D. L., Milner, B. B., Stewart, M. H., Wolfe, R. L., and Olson, B. H. (1991). Comparative study of commercial 4-methylumbelliferyl-beta-D-glucuronide preparations with the standard methods membrane filtration fecal coliform test for the detection of *Escherichia coli* in water samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**(5), pp. 1528-1534.
- Clark, J. A. and El-Shaarawi, A. H. (1993). Evaluation of commercial presence-absence test kits for detection of total coliforms, *Escherichia coli*, and other indicator bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**(2), pp. 380-388.
- Eichler, S., Christen, R., Hölzle, C., Westphal, P., Bötel, J., Brettar, I., Mehling, A., and Höfle, M. G. (2006). Composition and dynamics of bacterial communities of a drinking water supply system as assessed by RNA- and DNA-based 16S rRNA gene fingerprinting. *Appl. Environ. Microbiol.*, **72**(3), pp. 1858-1872.
- Glockner, F. O., Fuchs, B. M., and Amann, R. (1999). Bacterioplankton compositions of lakes and oceans: a first comparison based on fluorescence in situ hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**(8), pp. 3721-3726.
- Ishizaki, K., Shinriki, N., and Matsuyama, H. (1986). Inactivation of *Bacillus* spores by gaseous ozone. *J. Appl. Microbiol.*, **60**(1), pp. 67-72.
- Jill, E. Clarridge 3rd (2004). Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. *J. Clin. Microbiol. Rev.*, **17**(4), pp. 840-862.
- Maier, R. M., Pepper, I. L., and Gerba, C. P. (2000). *Environmental microbiology*. Academic Press, San Diego, U.S.A..
- Marchesi, J. R., Sato, T., Weightman, A. J., Martin, T. A., Fry, J. C., Hiom, S. J., Dymock, D., and Wade, W. G. (1998). Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primers that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**(2), pp. 795-799.
- Paerl, H. W., Dyble, J., Moisaner, P. H., Noble, R. T., Piehler, M. F., Pinckney, J. L., Steppe, T. F., Twomey, L., and Valdes, L. M. (2003). Microbial indicators of aquatic ecosystem change: current applications to eutrophication studies. *FEMS Microbiol. Ecol.*, **46**, pp. 233-246.
- Park, S. J., Lee, E. J., Lee, D. H., Lee, S. H., and Kim, S. J. (1995). Spectrofluorometric assay for rapid detection of total and fecal coliforms from surface water. *Appl. Environ. Microbiol.*, **61**(5), pp. 2027-2029.
- Riffon, R., Sayasith, K., Khalil, H., Dubreuil, P., Drolet, M., and Lagace, J. (2001). Development of a rapid and sensitive test for identification of major pathogens in bovine mastitis by PCR. *J. Clin. Microbiol.*, **39**(7), pp. 2584-2589.
- Saitou, N. and Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, **4**(4), pp. 406-425.
- U.S EPA (2005). Microbial source tracking guide document.
- Van de Peer, Y., Chapelle, S., and De Wachter, R. (1996). A quantitative map of nucleotide substitution rates in bacterial rRNA. *Nucleic Acids Res.*, **24**, pp. 3381-3391.
- Wagner, M., Amann, R., Lemmer, H., and Schleifer, K. H. (1993). Probing activated sludge with oligonucleotides specific for Proteobacteria: Inadequacy of culture-dependent methods for describing microbial community structure. *Appl.*

- Environ. Microbiol.*, **59**(5), pp. 1520-1525.
- Weinbauer, M. G., Fritz, I., Dirk, F., Wenderoth, D. F., and Höfle, M. G. (2002). Simultaneous extraction from bacterioplankton of Total RNA and DNA suitable for quantitative structure and function analyses. *Appl. Environ. Microbiol.*, **68**(3), pp. 1082-1087.
- Weisburg, W. G., Barns, S. M., Pelletier, D. A., and Lane, D. J. (1991). 16S ribosomal DNA amplification for phylogenetic study. *J. Bacteriol.*, **173**(2), pp. 697-703.