

낙동강 하구의 조석변화에 따른 Heterotrophic Activity의 계절적 변화와 염분의 영향

안태영* · 박중찬 · 하 영철

*단국대학교 미생물학과
서울대학교 미생물학과

Seasonal Variation of Heterotrophic Activity in the Estuary of Nakdong River over Half Tidal Cycle and Salinity Effect

Ahn, Tae Young*, Joong-Chan Park and Yung-Chil Hah

*Department of Microbiology, Dankook University
Department of Microbiology, Seoul National University

ABSTRACT: Heterotrophic activity, total bacteria and salinity were determined seasonally in the estuary of Nakdong River over half tidal cycle. Heterotrophic activity was determined by the uptake of [$U-^{14}C$]glucose. Heterotrophic activity fluctuated with the tides and was decreased as salinity increased. The great activity occurred near low ebb tide at all seasons except summer. The main environmental factor affecting heterotrophic activity was the salinity rather than water temperature in the estuary of Nakdong River. In order to estimate the effect of salt, salt was added to estuarine water. V_{max} for glucose of salt-added water was 17% and 77% of original estuarine water at station 1 and 2 respectively and slight increase was observed at station 3. Respiration rate and $K_t + S_n$ for glucose of salt-added sample increased at all 3 stations. The increase of the K_t value implies the reduced affinity of bacterial population for glucose. The effects of salinity on the heterotrophic activity were more extensive in the upper region of estuary than at the mouth.

KEY WORDS □ Heterotrophic activity, half tidal cycle, salinity, estuary of Nakdong River

일반적으로 하구는 강상류로부터의 영양물질, 생활하수 및 공장폐수의 유입으로 인해 다른 수계환경보다 대체적으로 부영양화(eutrophication)되어 있으며, 세균의 활성도 높다. 그러나 하구수계에서는 담수의 유입, 조석(tide) 변화 및 계절적 요인 등에 의해 영양물질의 양과 종류, 염분, 수온, pH, 부유물질 등의 물리 화학적 환경요인들이 계속 변함으로 인하여 세균의 활성이 하루동안에도 크게 변화하며 세균활성의 변화는 하구 환경조건에도 영향을 미친다(Morita *et al.*, 1973). 이러한 점에서 Hanson 과 Wiebe (1977)는 하구 생태계의 세균의 활성을 측정하기 위하여 시료를 채수할 때 해수의 간만을 고려하여야 한다고 강조하였다. 특히 물리 화학적 환경요인중 염분은 규칙적인 조석으로 인하여 계속 변화하고 있으며 이로 인해 세균의 활성이 영향을 받는다고 알려져 있다(Hunter *et al.*, 1986; Compeau and Bartha, 1987). 또 미주

지역 여러 하구 생태계에서 염분 변화에 따른 세균의 기질 흡수능과 생산성의 변화가 관찰되었다(Wright, 1978; Ducklow, 1982; Rublee *et al.*, 1984). 그러나 이러한 염분의 영향을 하구수계 세균의 heterotrophic activity에 영향을 미치는 또다른 요인인 수온과 관련지어 연구한 실적은 미진하다.

본 연구에서는 조석변화가 크게 나타나는 낙동강 하구수계에서 염분변화에 따른 세균의 포도당 흡수능을 계절별로 관찰한 결과와 실험실 내에서 염분증가에 따른 세균의 포도당 이용에 대한 heterotrophic activity의 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

연구대상지역

연구대상지역(Fig.1)은 안동(1991)과 같다.

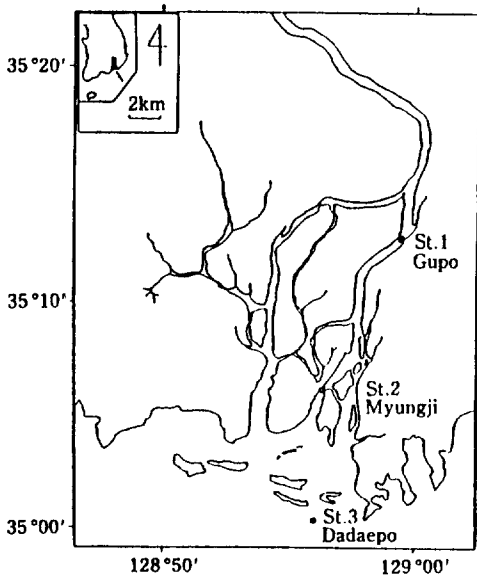


Fig. 1. Sampling stations in the estuary Nakdong River

염분변화에 따른 세균의 heterotrophic activity의 변화

조사정점은 을숙도와 명지사이의 감조수역으로 연간 염분의 변화가 5-24‰로 변화하는 정점 2를 대상으로 하였다. 조사시기는 각 계절별로 1 회씩 총 4 회(1986년 5월, 8월, 10월과 12월)를 실시하였고, 매 시기마다 반 조석주기동안 6~7 회 채수하여 실험하였다. 시료의 채수 방법은 Van-Dorn 채수기를 이용하여 수심 1m 깊이에서 채수하였고, 채수시 T-C-S meter(Temperature-conductivity-salinity meter, YSI model 33, USA)로 수온과 염분을 측정하였다.

Heterotrophic Activity의 측정은 Gocke (1977)의 방법에 의하여 수행하였다. *in situ* 실험을 위해 채수한 시료는 먼저 52 μm sieve로 부유물질을 걸른후, 멸균된 100 ml 암병(dark bottle)에 시료 50 ml 씩을 넣었다. 사용된 기질은 $[U-^{14}\text{C}]$ glucose (271 mCi/mole, ICN Biomedical, USA)를 사용하였으며, 가해준 동위원소의 양은 각각 0.5, 1.0, 1.5, 2.5, 5.0, 10.0 $\mu\text{g-C/l}$ 이었다. 방사능량의 측정은 liquid scintillation counter (Beckman LS 9800, Beckman Instrument, USA)로 측정하여 dpm 값으로 환산하였다. 사용된 cocktail의 조성은 다음과 같다: 2,5-diphenyloxazole (PPO) 5.0 g; 1,4-2-(5-phenyloxazole)-benzene (POPOP) 0.1 g; toluene 1.0 liter. 자료의 계산은 microcomputer 를 이용한 heterotrophic activity file에 의해서 처리되었다.

총 세균수 측정을 위한 시료는 100 ml 암병에 채취하였다. 채취한 시료는 0.2 μm pore size의 membrane filter (Gelman, USA)로 여과한

formalin 으로 고정한 후 냉장보관하여 실험실로 운반하였다. 고정된 시료는 Sudan Black B (Merck, Germany)로 염색한 0.2 μm pore size의 polycarbonate filter (Gelman, USA)로 여과한 후, 1% acridine orange (Sigma) 용액 1 ml로 3 분간 염색하였다. 염색된 polycarbonate filter 를 형광현미경 (Nikon Labphot, Japan)을 이용하여 20 fields 를 검경하였다 (Hobbie *et al.*, 1977).

염분증가에 따른 세균의 heterotrophic activity의 변화

시료는 1987년 9월 27일 세 조사정점의 수면하 1 m에서 Van-Dorn 채수기를 이용하여 채수하여 멸균된 용기에 남아 냉장상태로 실험실로 운반하였다. 채수시 T-C-S meter를 이용하여 수온과 염분을 측정하였다. 운반된 시료를 즉시 3 μm pore size membrane filter로 여과하였다. 각 정점의 시료를 대조군으로하고, NaCl 을 첨가하여 각각 10‰의 염분을 증가시켜 실험군으로 하였다.

Heterotrophic activity의 측정은 $[U-^{14}\text{C}]$ glucose를 기질로하여 Gocke(1977)의 방법에 따라 수행하였다. 세포내에 assimilation되는 포도당의 양은 전술한 것과 같은 방법을 사용하였다. 호흡량의 측정은 멸균된 100 ml Erlenmeyer flask에 시료 20 ml 을 넣고 0.15 μCi 의 $[U-^{14}\text{C}]$ glucose 를 주사한 후, 고무마개로 뚜껑을 덮어 밀폐시킨 후 진탕 배양기에 넣고 암실에서 150 rpm 으로 회전시키며 30 분간 배양하였다. 배양의 중지와 용존된 CO_2 를 추출하기 위하여 1 N HCl 1 ml 을 고무마개를 통해 주사하였다. CO_2 의 포집은 ethanalamine을 이용하였으며, 포집된 방사능 양을 측정하였다. 3조의 시료를 만들어 실험하였으며 배양온도는 모두 *in situ* 온도(20 $^{\circ}\text{C}$)를 유지하였다.

Colony forming unit(CFU)는 salinity를 맞춰준 nutrient agar 배지를 이용하여 시료의 희석농도 별로 각각 3조의 배양접시에 시료를 접종한 후, 25 $^{\circ}\text{C}$ 에서 5 일간 배양 하였다. 배양후 30-300 개의 집락(colony)을 나타내는 희석농도에서 집락수의 평균값을 구하였다.

결 과

감조수역인 정점 2에서 반조석 주기동안 염분변화에 따른 세균의 포도당의 최대흡수속도와 총 세균의 변화를 계절별로 조사하였다. 1986년 5월에 관측한 결과로는 만조에서 간조로 진행되면서 염분이 19‰에서 7.0‰로 낮아지는것에 반비례하여 최대흡수속도는 증가하고 있다. 총 세균역시 염분감소에 따라 증가하는 경향을 보이나 변화폭은 최대흡수속도에 비해 적다(Fig. 2). 1986년 8월(Fig. 3)에는 5월과 다른양상을 나타내고있다. 만조시에 포도당의 최대흡수속도가 최고치를 나타내며 그후 감소하기 시작하여 만조후 3시간 후에 최저치를 나타내었다. 이때 염분의 변화는 만조후 1.5 시간 후에 최고치를 보이며 최대

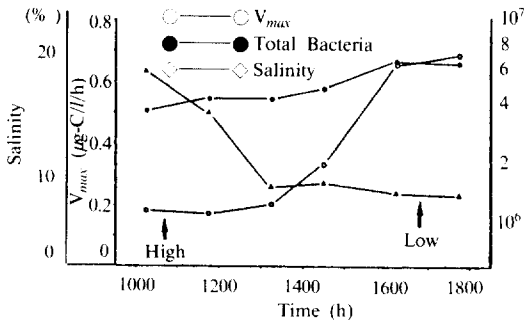


Fig. 2. Change of V_{max} , total bacteria and salinity at station 2 in the estuary of Nakdong River over half tidal cycle on 25 May, 1986.

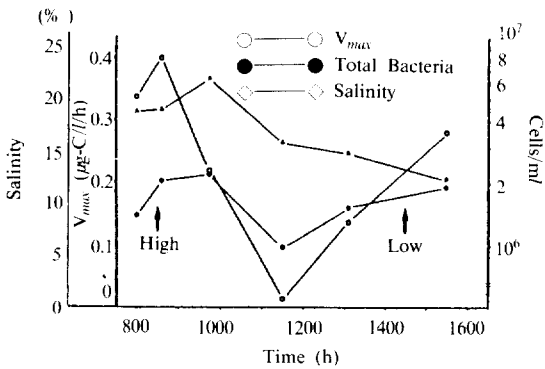


Fig. 3. Change of V_{max} , total bacteria and salinity at station 2 in the estuary of Nakdong River over half tidal cycle on 4 Aug., 1986.

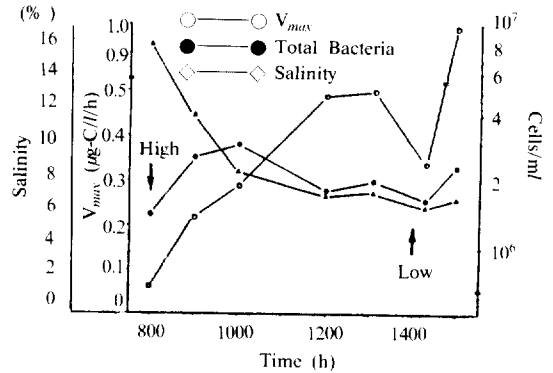


Fig. 4. Change of V_{max} , total bacteria and salinity at station 2 in the estuary of Nakdong River over half tidal cycle on 31 Oct., 1986.

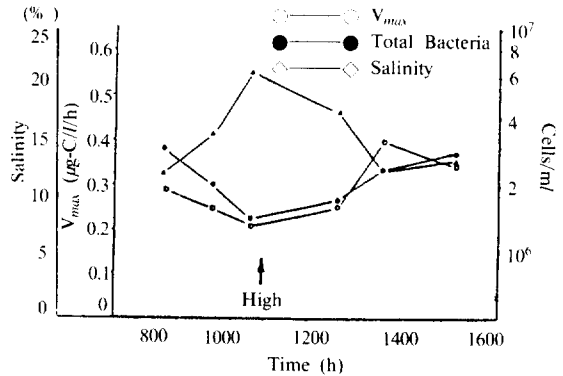


Fig. 5. Change of V_{max} , total bacteria and salinity at station 2 in the estuary of Nakdong River over half tidal cycle on Dec., 1986.

흡수속도는 최고치의 1/2정도 이다. 그이후 간조로 진행됨에 따라 염분은 계속 감소하는 반면 최대흡수 속도는 증가하는 양상을 보였다. 총 세균수의 변화는 최대흡수속도의 변화양상과 유사하게 변화하고 있다.

1986년 10월에 포도당의 최대흡수속도는 만조시에 최저치를 나타내고 간조후 1 시간후에 최고치를 나타내었다. 이러한 결과는 5월의 결과와 일치하지만 총세균의 변화양상은 달랐다. 만조후 2 시간 이후부터 총 세균은 감소하나 최대 흡수속도는 계속적인 증가를 보였다(Fig. 4). 이는 지금까지 최대흡수속도가 총 세균과 비슷한 변화양상을 보였던것과는 다른것으로 총 세균수가 최대흡수속도를 결정하는 요인뿐만은 아니라는 것을 예상할수 있다. 1986년 12월의 결과도 이전의 결과와 같이 염분이 감소함에 따라 최대흡수속도가 증가하며, 총 세균의 변화도 최대흡수속도와 유사한 양상을 보였다(Fig. 5).

포도당의 최대흡수속도, 총세균, 염분과 실험당시 측정했던 수온을 평균해서 각각의 평균값을 계절별로 정리하였다(Fig. 6). 포도당의 최대흡수속도가 수온이 높고 염분이 높은 여름에 최저치를 나타내고, 염분이 가장 낮은 가을에 최고치를 나타내며 수온이 최저인 겨울에 오히려 여름보다 높은 값을 나타낸다. 포도

당의 최대흡수 속도는 수온의 변화에는 무관하고 염분의 영향에는 반비례하는 양상이 뚜렷이 나타나고 있으며, 총 세균과는 비례하는 양상이나 변화정도는 일치하지가 않았다. 그러므로 감소수역에서 염분이 세균의 활성도에 미치는 중요한 환경요인이라 할 수 있다.

염분의 변화가 실제로 세균의 포도당 흡수에 영향을 미치는지 알아보기 위하여 1987년 9월 시료를 채수하여 실험실내에서 염분을 증가시켜준후 염을 가해주지않은 대조군과 비교하여 보았다(Table 1). 이 실험은 앞의 반석주기동안의 최대흡수속도 변화를 관찰했던 정점 2 뿐만 아니라 그 상류지역인 정점 1과 하류지역인 정점 3의 시료에서도 동시에 수행하였다. 변형된 Lineweaver-Burk 식으로 부터 얻어진 최대흡수속도를 CFU로 나누어 V_{max} specific activity index(SAI) 로 표시하였으며(Wright, 1978), 흡수된 포도당이 대사과정을 통해 분해되는 정도(호흡률)와 세균의 포도당흡수에 대한 친화력(affinity)을 나타내는 $Kt + S_n$ (transport constant + natural substrate concentration) 값을 측정하였다.

Table 1. Effect of salinity on V_{max} respiration and $Kt+Sn$ of glucose by free-living bacteria in the Nakdong River estuarine water on Sep. 27, 1987^a.

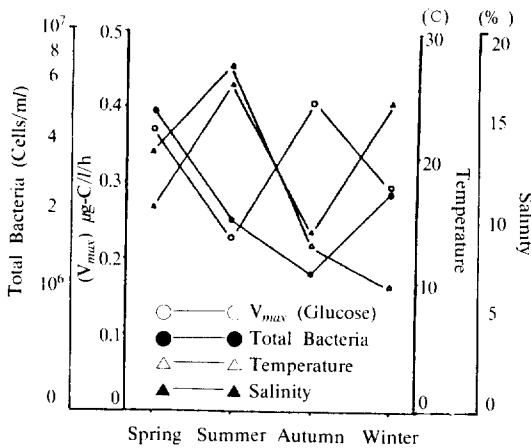
Station	V_{max} sp act index ^b			% Respiration ^c		Kt+Sn	
	+salt (S)	control (C)	ratio (S/C)	+salt (A)	control (B)	+salt (C)	control (D)
1	0.32	2.80	0.17	22.9	18.6	5.19	3.38
2	5.34	6.84	0.77	21.6	18.3	5.63	3.97
3	2.43	2.38	1.02	28.4	23.4	5.93	5.17

^aThe salinities of station 1, 2 and 3 in sample were 0‰ and 9‰, respectively. By the addition of NaCl, 10‰ of salinity was increased in the sample of "+salt"

^b V_{max} specific activity index = [V_{max} /CFU], 10^{-7} μ g-c/CFU/h.

^c% Respiration = [$\text{respiration}/(\text{assimilation} + \text{respiration})$] $\times 100$.

^dKt+Sn(μ g-c/l) is the sum of the transport constant and the natural substrate concentration.

**Fig. 6.** Seasonal change of V_{max} (glucose), total bacteria, temperature and salinity at station 2 in the estuary of Nakdong River.

그 결과 정점 1과 정점 2에서 염분증가로 인해 세균의 포도당 최대흡수속도가 각각 17%, 77%로 감소하는 것을 보였으나 정점 3에서는 거의 차이를 나타내지 않았다. 호흡률과 $Kt+Sn$ 값은 염분증가로 인해 정점에서 모두 증가하였다.

고찰

낙동강 하구수계에서 세균의 포도당흡수능은 조석 변화로 발생하는 염분의 변화에 반비례하여 영향을 받고 있음을 알 수 있었다(Fig. 2, 3, 4, 5). 각 계절별로 관찰된 세균의 포도당 최대흡수속도의 변화는 총 세균수의 변화양상과 정확히 일치하지않고 변화정도에서 큰 차이를 보이는 반면 염분의 증가에 반비례하여 변화하고 있다. 이러한 현상은 다른 감조수역에서도 보고되고 있으며(Hanson and Wiebe, 1977; Wright, 1978; Valdes and Albright, 1981), 감조수역에서 세균의 heterotrophic activity를 평가할때는 염분의 변화를 고려하여야 한다고 생각된다. Gocke(1977)는

Kiel Fjord에서 포도당 최대흡수속도의 변화가 수온의 변화와 일치한다고 보고하였으며, 수온이 세균의 heterotrophic activity에 영향을 미치는 중요한 인자이기는 하나 낙동강 하구에서는 수온보다 염분의 영향을 더 크게받고 있다(Fig. 6).

염분변화에 의한 세균의 포도당 최대흡수속도의 변화는 조석변화가 가져오는 세균의 구성요소가 변화하기 때문으로 해석될 수 있을 뿐만 아니라 염분증가로 인한 세균의 viability의 감소 또는 염분변화가 환경 stress로 작용하여 세균의 heterotrophic activity를 감소하기 때문인 것으로도 해석될 수 있다. 염분증가와 세균의 heterotrophic activity의 관계를 알아본 결과는 염분증가로 인하여 세균의 포도당 최대흡수속도가 감소하고 있으며 특히 담수의 성질이 큰 수계일수록 그영향이 컸다. 이는 염분의 증가가 담수기원 또는 담수성향인 세균의 heterotrophic activity에 영향을 미치고 있음을 보여주고 있다(Table 1).

세균의 heterotrophic activity의 변화가 다른 환경요인의 변화에 의해서도 보여지고 있으며(Goulder *et al.*, 1979; Tison and Pope, 1980; Griffiths *et al.*, 1978), 염분의 증가가 담수기원의 세균에 stress 요인으로 작용하여 세균의 호흡률이 증가하는것이 관찰되었다(Bell and Albright, 1981; Griffiths *et al.*, 1984). 이러한 현상이 본 실험의 결과에서도 보여지고 있으며(Table 1), 이또한 염분의 증가가 환경 stress로 작용하여 세균의 heterotrophic activity에 영향을 미칠 수 있음을 시사한다.

염분이 증가함에 따라 $Kt+Sn$ 값이 증가하는 것이 관찰되었다(Table 1). 이는 본 실험에서 Sn 이 일정하므로 염분증가로 인한 세균의 Kt 값이 증가되었다는 것을 나타내며, 이는 곧 세균의 기질에대한 친화력(affinity)이 감소하였다는 것을 의미한다. 염분변화로 인한 세균의 기질에대한 친화력의 변화는 여러가지 이유로 해석될 수 있으나 아직 잘 이해되지 않는 부분이며 생리학적 연구가 더 필요하다.

낙동강은 조석의 관점에서 수로 이므로 만조시간과

유속이 0 이되는 시간사이에는 2~3 시간의 차이가 있다(원 과 양, 1978; 유 등, 1985). 따라서 포도당의 최대흡수속도는 만조나 간조시에 각각 최저치와 최

고치를 나타내지 않고 조금 전이된 시점에서 결정된다.

적 요

낙동강 하구에서 반조석주기 동안 heterotrophic activity, 총세균과 염분을 계절별로 조사하였다. Heterotrophic activity는 $[U-^{14}C]$ 포도당으로 측정되었다. Heterotrophic activity는 조석변화에 따라 변화하였고, 염분이 증가하면 감소하였다. 최대의 활성은 여름을 제외한 모든 계절에 간조근처에서 관찰되었다. 낙동강 하구에서 heterotrophic activity에 영향을 미치는 중요한 환경요인은 수온보다는 염분이 우세하였다. 염분의 효과를 알아보기 위하여, 하구수(estuarine water)에 염을 가하였다. 정점 1과 2에서 염이 첨가된 물의 포도당 최대흡수속도는 각각 본래의 시료의 17%와 77%이었고, 정점 3에서는 약간 증가하였다. 호흡률과 $Kt+Sn$ 은 염이 가해진 물에서 3정점 모두 증가하였다. Kt 의 증가는 세균집단의 포도당에 대한 친화력이 감소하였음을 의미한다. Heterotrophic activity에 대한 영향은 하구쪽보다는 상류쪽에서 더 크게 나타났다.

참 고 문 헌

1. 안태영, 조기성, 하영철 1991. 낙동강 하구의 세균 분포와 활성에 미치는 환경 요인. 한국미생물학회지 29, 328-337.
2. 원중훈, 양한섭, 1978. 낙동강 물금 취수장 상수도 원수의 염화이온농도 마그네슘 농도의 연강변동에 대하여(1974년-1975년). 한국수산학회지, 11, 103-109.
3. 유홍선 등, 1985. 낙동강하구에서의 하천수의 순환과 혼합의 물리적 특성. 한국 해양 대학 기초과학 연구소 논문집, 2, 1-17.
4. Bell, C.R. and L.J. Albright, 1981. Attached and free-floating bacteria in the Fraser River estuary. British Columbia, Canada. *Mar. Ecol-Prog. Ser.* 6, 317-327.
5. Compeau, G.C. and R. Bartha, 1987. Effect of salinity on mercury-methylation activity of sulfate-reducing bacteria in estuarine sediment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53, 261-265.
6. Ducklow, H.W. 1982. Chesapeake bay nutrient and plankton dynamics. I. Bacterial biomass and production during spring tidal destratification in the Yoke River. Virginia, estuary. *Limnol. Oceanogr.*, 27, 651-659.
7. Gocke, K. 1977. Heterotrophic activity. In *Microbial ecology of a brackish water environment*. G. Rheinheimer ed. pp. 198-222. Springer-Verlag, New York.
8. Goulder, R., A.S. Blanchard, P.L. Sanderson and B. Wright, 1979. A note on the recognition of pollution stress in population of estuarine bacteria. *J. Appl. Bact.*, 46, 285-289.
9. Griffiths, R.P., B.A. Caldwell and R.Y. Morita, 1984. Observations on microbial percent respiration values in arctic and subarctic marine waters and sediments. *Microb. Ecol.* 10, 151-164.
10. Griffiths, R.P., S.S. Hayasaka., T.M. McNamara and R.Y. Morita, 1978. Relative microbial activity and bacterial concentration in water and sediment samples taken in the Beaufort Sea. *Can. J. Microbiol.*, 24, 1217-1226.
11. Hanson, R.B. and W.J. Wiebe, 1977. Heterotrophic activity associated with particulated size fractions in a *Spartina alterniflora* salt-marsh estuary. Sapelo island, Georgia, USA and the continental shelf waters. *Mar Biol.*, 42, 321-330.
12. Hobbie., R.J. Delay and S. Jasper, 1977. Use of nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscope. *Appl. Environ. Microbiol.*, 33, 1225-1228.
13. Hunter, M., T. Stephenson, P.W.W Kirk, R. Perry and J.N. Lester, 1986. Effect of salinity gradients and heterotrophic microbial activity on biodegradation of nitrilotriacetic acid in laboratory simulations of the estuarine environment. *Appl. Environ. Microbiol.*, 51, 919-925.
14. Morita, R.Y., L.P. Jones, R.P. Griffiths and T.S. Staley, 1973. Salinity and temperature interactions and their relationship to the microbiology of the estuarine environment. In *Estuarine Microbial Ecology*. L.H. Stevenson and R.R. Colwell ed. pp. 221-232. Univ. South Carol. Press.
15. Rublee, P.A., S.M. Merkel, M.A. Faust and J. Miklas, 1984. Distribution and activity of bacteria in the head waters of the Rhode River, Maryland, USA. *Microb. Ecol.*, 10, 243-255.
16. Tison, D.L. and D.H. Pope, 1980. Effect of temperature on mineralization by heterotrophic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 39, 584-587.
17. Valdes, M. and L.J. Albright. 1981. Survival and heterotrophic activities of Fraser river and strait of Georgia bacterioplankton within the Fraser river plume. *Mar. Biol.*, 64, 231-241.
18. Wright, R.T., 1978. Measurement and significance of specific activity in the heterotrophic bacteria of natural water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 36, 297-305.

(Received October 15, 1991)

(Accepted November 3, 1991)