

## 동해 연안역의 박테리아 생산력과 유기물질의 분해능

이기성\* · 고동규<sup>1</sup> · 김근호 · 이영근<sup>2</sup> · 최정일<sup>3</sup> · 최영길<sup>1</sup>

(\*배재대학교 생물학과, <sup>1</sup>한양대학교 생물학과/<sup>3</sup>지구해양학과,  
<sup>2</sup>한국원자력연구소 방사선 동위원소 방사선응용연구팀)

**적 요** - 동해 연안역의 부영양화 상태 및 종속영양세균에 의한 유기물질 분해능을 조사하기 위해서 대진, 갈남, 포항, 울산의 4개 지역의 연안역을 대상으로 1994년 7월부터 1995년 4월까지 4회에 걸쳐 종속영양세균군집, 오염의 신호화합물, 세균의 생산력, 종속영양활성도 및 세포의 효소활성도 등을 분석하였다. 중금속내성균의 수는 포항에서 가장 높게 나타났으며, 각종 유기인을 이용하는 세균군집을 조사한 결과 유기인(C-P) 화합물이 많이 포함될 것으로 예상되는 산업폐수, 가정하수 및 농업폐수 등이 많이 유입되는 정점에서 이들 유기인 화합물을 분해하고 산화환원시키는 세균군집이 높게 나타났다. 이들 세균의 출현빈도는 산업폐수, 가정하수 그리고 농업용수의 유입예측지표로 활용될 수 있으리라 생각된다. 세포의 효소활성도는 울산 처용암에서 가장 높았으며 대진에서 가장 낮게 나타났다. 이러한 결과는 종속영양 세균수와 세균의 생산성 등과 정의 상관관계를 나타내었다. Poly-P와 DNA의 경우, 정점별로는 포항이 가장 높았고, 울산, 갈남, 대진 순으로 나타났다. 이는 종속영양세균의 분포양상과 매우 일치하는 것으로 조사되었다. 종속영양 활성도는 정점별, 계절별 변화가 매우 심하였다. 세균의 생산력은 하계에 가장 높고 추계와 동계에 낮았다가 춘계에 다시 높아지는 경향을 나타나 종속영양세균의 계절적 변화양상과 유사한 경향을 보였다. 결과적으로 세균의 군집, poly-P 함량, 세균의 생산력, 종속영양활성도 및 세포의 효소활성도 등의 분석자료는 부영양화 상태 및 유기물질의 순환과정을 파악할 수 있는 지표로 이용될 수 있다.

### 서 론

수계 생태계에서 미생물은 생태계의 유지를 위한 물질순환과 에너지흐름 과정에 매우 중요한 역할을 담당하고 있는데 (Dahle & Laake 1982; Fry & Zia 1982), 유기물의 분해, 무기물의 산화환원작용 및 재생과정은 거의 대부분 종속영양세균 (heterotrophic bacteria)에 의하여 수행되어진다 (Bratback 1985; Gocke 1977; Parson 1984). 따라서 해양을 포함한 생태계에서 세균의 생산력 (bacterial productivity)을 조사 측정하는 것은 생태계의 물질순환, 에너지 흐름, 물질의 산화환원 및 재생과정을 이해하는데 필수적이다.

생태계내 또는 생태계 외부에서 유입된 물질들(생체 고분자, 용존유기물, 영양염류)에 대하여 세포의 효소 혹은 미생물들이 분해 또는 광물화과정을 일으키고, 이들 분해산물을 도입하여 전환시키거나 동화시키며 생태계

내 미생물(종속영양세균)의 성장이 활발하게되는 일련의 과정이 진행되어 진다. 결국 이들 과정의 총화로 세균의 생산력은 계(system)내에 생육되고 있는 총 종속영양세균수로 나타낼 수 있다(Choi *et al.* 1995; Kott *et al.* 1997).

그러나, 하나의 계에서 이러한 일련의 과정은 매우 동적이고 다단계적으로 일어나므로, 종속영양세균의 생태계내 활성을 파악하는데, 단순히 종속영양활성도(영양물질의 도입, 전환율, 동화율)와 세균의 생산력을 분석하는 것만으로는 무리가 따른다. 따라서, 이러한 연구방법의 한계성을 극복하고 수계 생태계내의 정확한 물질순환과 에너지흐름의 과정을 파악하기 위해서는 무기영양염류와 유기물질의 동화, 분해, 광물화과정에 관여하는 세포의 효소활성도 및 영양염류를 산화환원시키는 세균의 군집분포 등을 측정 조사할 필요가 있다.

본 연구는 동해연안역을 대상으로 질소화합물과 더불어 부영양화에 가장 문제시되는 영양염류인 인화합물의

\*교신저자 : 전송 042) 520-5382, ks/ee@www.paichai.ac.kr

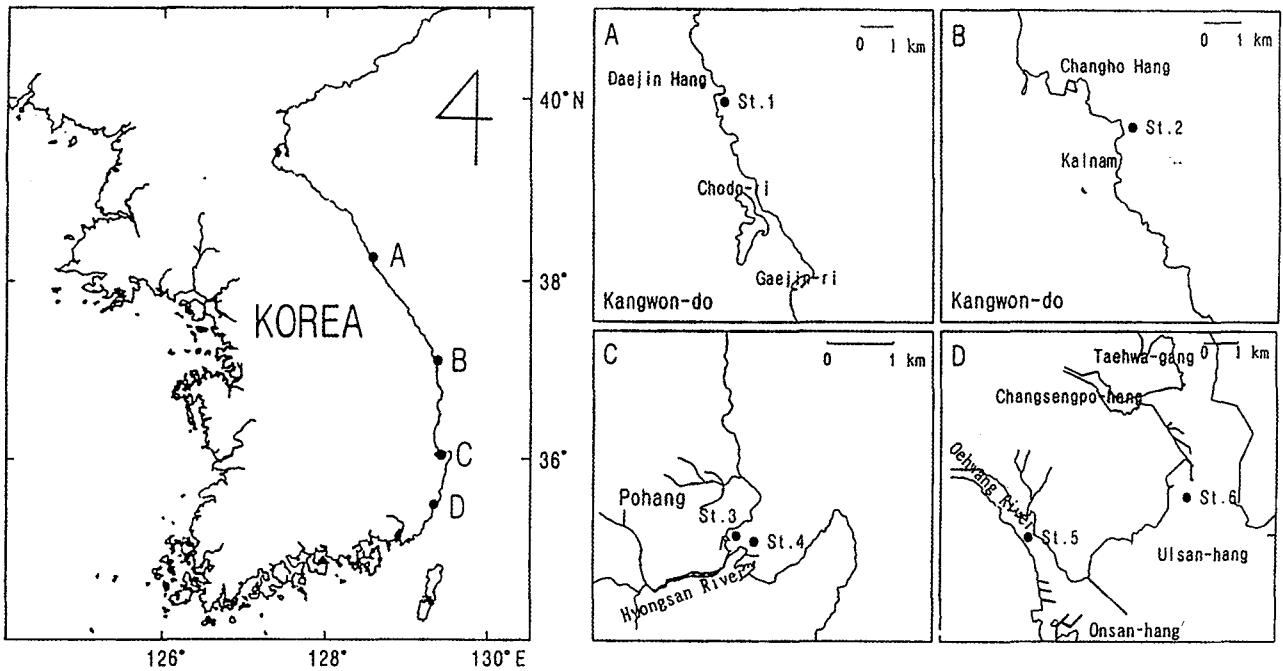


Fig. 1. Location of sampling sites in the costal area of East Sea.

미생물에 의한 순환과정 및 산화환원 과정을 해석하는 한편, 중속영양세균의 군집크기 및 활성도 변화(세포의 효소활성도, 중속영양 활성도, 세균의 생산력) 그리고 오염의 지표미생물군집 등을 조사함으로써 해수 생태계내 영양염과 유기물질의 순환과정을 미생물군집의 활성도와 연관지어 해석하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 조사시기 및 연구대상지역

본 연구는 동해연안역을 대상으로 1994년 7월, 10월, 1995년 1월, 4월에 대진(A; 1S), 갈남(B; 2S), 포항(C; 3S, 4S)과 울산(D; 5S, 6S)의 6개 정점을 대상으로 해수의 표층에서 시료를 채취하였다(Fig. 1).

### 2. 중속영양세균군집의 분석

중속영양세균의 측정은 멸균해수로 희석한 시료를 해수를 사용한 nutrient agar 배지에 0.1ml씩 접종한 후, 25°C에서 5일 이상 배양하여 나타난 균체 [colony forming unit (CFUml<sup>-1</sup>)]를 계수하였다.

### 3. 오염의 지표미생물 계수

1) 분변성 대장균의 측정은 막여과법(membrane filter method)에 의하여 준비된 시료 100 ml를 Nuclepore

filter(구경 0.2  $\mu$ m, 직경 47 mm)로 여과시킨 후, 필터를

EC배지(Difco, USA)에서 37°C로 24시간 배양한 후 형성된 콜로니 중 황금색 금속광택의 균체를 계수하였다.

2) 중금속 내성균의 분리는 cadmium (Cd)과 mercury (Hg)를 각각 0.2 mM (Aiking *et al.* 1984), 0.1 mM (Mahler *et al.* 1986) 되도록 첨가한 Zobell배지, EC배지 혹은 NA배지에 채취된 시료 0.1 ml를 평판도말하거나 혹은 막여과법으로 적량의 시료를 여과시켜 30°C에서 48시간 배양한 후에 형성된 균체를 계수하였다.

3) 항생제내성균의 군집분석은 항생제(Sigma Co.)의 농도를 NSSLS (Thornsberry *et al.* 1985)에서 권고하는 MIC 농도(Ampicillin 100  $\mu$ g/ml, Chloramphenicol 25  $\mu$ g/ml, Tetracycline 15  $\mu$ g/ml, Kanamycin 50  $\mu$ g/ml, Streptomycin 100  $\mu$ g/ml)로 NA배지에 평판도말하여 30°C에서 48시간 배양한 후 형성된 균체를 계수하였다.

### 4. 인의 산화환원세균 계수

인의 생물학적 순환에 관련된 미생물 군집의 분석은 P source가 결핍된 Glu-MOPS 최소배지에 hypophosphite (HPt), phosphite (Pt), aminoethyl phosphonate (AEPn), methyl phosphonate (EPn) 및 inorganic phosphate (Pi)를 각각 0.1 mM씩 첨가한 고체배지에서 형성된 균체를 30°C에서 5일간 배양한 후 계수하였다(Lee

et al. 1992).

### 5. 종속영양세균의 세포의 효소활성도

본 연구에서는 methylumbelliferyl (MUF)을 기질로 이용하여 상대적인 세포의 효소활성도를 측정하였다. 측정에 사용된 효소의 종류 및 반응기질은 다음과 같다. Exo-amylase는 4-methylumbelliferyl- $\alpha$ -D-glucoside, exo-chitinase는 4-methylumbelliferyl-N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminide, exo-glucosidase는 4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-glucoside, exo-cellulase는 4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-cellobioside, exo-phosphatase는 4-methylumbelliferyl-phosphate를 사용하였다. 반응기준은 기질을 각 5 mM 되게 methylcellosolve에 녹여 -20°C에서 보관하였으며 활성도 측정은 막여과를 통해서 준비된 각각의 biontic 및 abiontic시료 5 ml에 각 반응기질 용액을 25  $\mu$ M되게 첨가하고 암처리 조건하에서 4시간 동안 실온에서 반응시킨 후 효소활성에 따른 형광을 spectrofluorometer (Hoefer, TKO100, excitation 365 nm, emission, 465 nm)을 이용하여 측정하였다 (Sinsabaugh 1994). 각 효소의 활성단위 (unit)는 아래의 방식으로 산출하였다.

$$\begin{aligned} \text{효소활성 (unit)} &= \text{Emission Intensity} \times 1000 / S \cdot T \\ &= \text{Emission Intensity} \times 10 / \text{mM hr} \\ (S : \text{기질의 농도, } 25 \mu\text{M}, T : \text{반응시간, } 4\text{hr}) \end{aligned}$$

### 6. 세균의 생산력 측정

세균의 생산력을 측정하기 위해 52  $\mu$ m filter로 사전 여과한 시료를 10 ml dark bottle 4개에 20 ml씩 담고 [methyl-<sup>3</sup>H]-thymidine (NEN, specific activity 72.5 Cimmole<sup>-1</sup>)을 최종농도가 5 mM이 되도록 넣었다. 대조구로서 하나의 bottle에는 4% formalin 0.5 ml를 넣었다. 1시간동안 현상온도에서 배양한 후 4°C로 냉각된 10% trichloroacetic (TCA) 용액 20 ml를 첨가하여 5분간 냉각시킨 후 0.45  $\mu$ m membrane으로 여과하였다. Bottle 및 filter set는 5% TCA 용액 5 ml씩으로 세척하여 여과하였다. 세균 생산력은 incorporation된 thymidine 1 mole 당  $1.4 \times 10^{18}$  cells이 생산되고, 세포당  $2.1 \times 10^{-13}$  g-C으로 하여 환산하였다 (Bratback 1985).

### 7. 종속영양활성도 측정

측정은 52  $\mu$ m filter로 사전 여과한 시료를 100 ml dark bottle 6개에 20 ml씩 담고 기질 [<sup>14</sup>C]-glucose (ICN, specific activity 25~50 Cimmole<sup>-1</sup>)를 0.5  $\mu$ g-Cl<sup>-1</sup> 되게 처리하였다. 방사능 양의 측정은 liquid scintillation counter system (Beckman LS 9800, Beckman

Instrument Inc. USA)으로 측정하여 dpm (disintegration per minute) 값으로 환산하였다 (Gocke 1977).

### 8. 오염의 신호화합물분석

생체내 poly-P와 DNA 함량은 aromatic fluorescent dye인 DAPI (4',6'-diamidino-2-phenylindole)를 사용하여 형광분석법으로 측정하였다. DNA는 456 nm에서, poly-P는 526 nm에서 최대 형광방사량을 보였다. 여과법에 의하여 채취된 생물시료를 20 mM 농도의 DAPI가 첨가된 3 mM Tris-maleate (pH 5.0) 완충용액에 0.1% (wet weight)되도록 하고, spectrofluorometer (Edinburgh, FS-900CD)로 형광스펙트럼을 조사하였다 (Lee et al. 1995).

## 결과 및 고찰

### 1. 미생물 군집의 변화

#### 1) 종속영양세균

정점별 종속영양세균은 처용암 (5S)이  $1.04 \times 10^4 \sim 2.00 \times 10^4$  CFUml<sup>-1</sup>로 가장 많았고, 포항 I (3S), 포항 II (4S), 장생포 (6S), 갈남 (2S)의 순이었으며 대진 (1S)이  $0.38 \times 10^3 \sim 1.03 \times 10^3$  CFUml<sup>-1</sup>으로 가장 낮았다 (Table 1). 계절별로는 하계 (94년 7월)에  $1.03 \times 10^3 \sim 10.44 \times 10^3$  CFUml<sup>-1</sup>로 가장 높았고, 추계 (94년 10월)에  $0.48 \times 10^3 \sim 2.88 \times 10^3$  CFUml<sup>-1</sup>, 동계 (95년 1월)  $0.21 \times 10^3 \sim 3.90 \times 10^3$  CFUml<sup>-1</sup>, 춘계 (94년 4월)  $0.1 \times 10^3 \sim 2.4 \times 10^3$  CFUml<sup>-1</sup>으로 나타났다. 이는 하계의 많은 일조량과 알맞은 수온으로 인하여 유기물을 합성하는 식물성플랑크톤이 증식된 결과로 여겨진다. 그러나 5S와 6S (울산근해)에서는 하계에 비해 추계에 오히려 종속영양세균의 생균수가 많아졌는데, 세포의 효소, 특히 exo-chitinase와 exo-glucosidase의 활성도가 추계에 높아지는 현상과 관련이 있을 것으로 생각되어진다 (Table 1, Fig. 2).

#### 2) 오염의 지표미생물

오염의 지표미생물로서의 분변성 대장균은 생활하수의 유입을 예측하는데 도움을 주고, 중금속 및 항생제 내성균은 중금속과 항생제의 생태계내 분포정도를 예측할 수 있다. 대장균의 출현빈도는 5S (처용암)에서 95년 4월에  $1.1 \times 10^2$  CFUml<sup>-1</sup>로 다른 정점에 비해서 높았고, 1S (대진)과 2S (갈남)에선 조사기간 동안 검출되지 않을 정도로 저조한 것으로 보아 (Table 1) 5S지역이 주위환경으로부터 유입되는 생활하수의 영향을 받은 것으로 사료된다. 중금속내성세균 (Cd, Hg)은 모든 정점에서 하계 (94년 7월)에 많은 수가 검출되었다. 카드뮴내성세균

**Table 1.** Population sizes of heterotrophic bacteria, pollution indicating microbes such as *E. coli*, antibiotics (Amp, Cm, Km, Tc) or heavy metal (Cd, Hg) resistant bacteria, and phosphorus redox bacteria (AEPn, Hpt, MPn, Pt) in the coastal area of East Sea from July, 1994 to April, 1995.  $\times 10^3$  CFUml<sup>-1</sup>

Site	Date	NA	EC	Cd	Hg	Tc	Amp	Km	Cm	AEPn	MPn	Pt	HPt
Site 1	94. 7	103	NG*	59	2	2	9	2	NG	7	2	3	3
	94. 10	48	NG	NG	NG	NG	6	1	NG	NG	NG	NG	1
	95. 1	38	NG	7	NG	4	4	4	8	NG	NG	1	5
	95. 4	10	NG	1	NG	NG	1	1	NG	1	NG	NG	NG
Site 2	94. 7	286	NG	48	5	10	17	9	NG	14	7	5	7
	94. 10	75	NG	1	NG	18	27	10	NG	8	5	5	12
	95. 1	21	NG	NG	NG	7	5	NG	3	2	1	1	1
	95. 4	51	NG	NG	NG	7	1	8	NG	1	NG	NG	NG
Site 3	94. 7	1056	NG	340	190	201	146	95	2	115	79	90	85
	94. 10	238	1	2	NG	45	23	23	12	70	80	90	80
	95. 1	390	2	19	NG	95	67	18	6	88	31	55	69
	95. 4	99	2	NG	NG	5	11	34	2	NG	NG	6	5
Site 4	94. 7	444	NG	64	15	39	16	1	43	81	55	30	23
	94. 10	288	2	6	NG	23	7	8	NG	50	20	60	80
	95. 1	23	NG	NG	NG	6	18	1	3	2	2	1	2
	95. 4	240	NG	NG	NG	6	12	64	14	41	21	15	16
Site 5	94. 7	1044	NG	109	59	121	105	17	1	138	52	85	23
	94. 10	2000	2	9	44	36	49	22	25	20	NG	20	10
	95. 1	165	NG	1	NG	58	7	4	NG	13	4	10	11
	95. 4	1400	11	NG	NG	296	90	82	45	43	1	2	NG
Site 6	94. 7	116	NG	24	7	33	23	4	2	9	5	4	2
	94. 10	668	NG	12	14	50	22	7	1	20	10	10	30
	95. 1	39	NG	NG	NG	7	NG	NG	NG	2	4	2	4
	95. 4	72	2	NG	NG	9	5	3	1	4	9	1	2

\* NG : No growth.

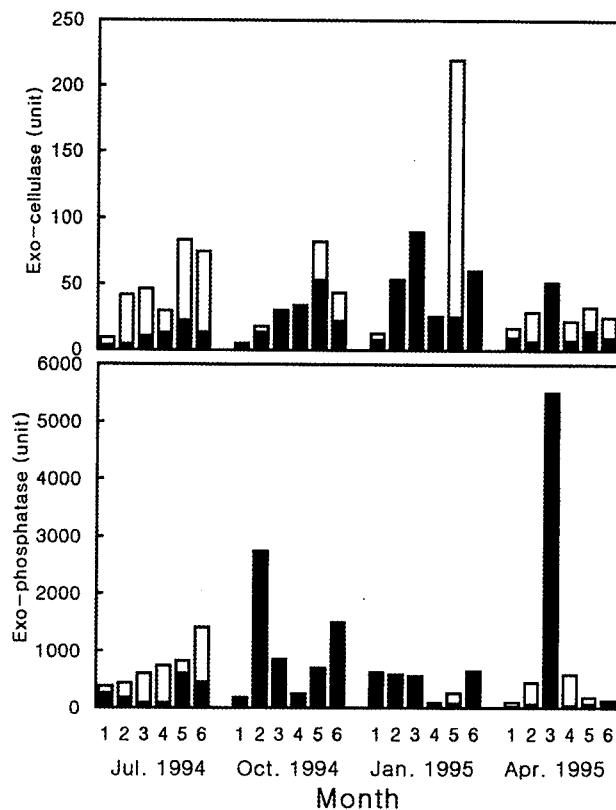
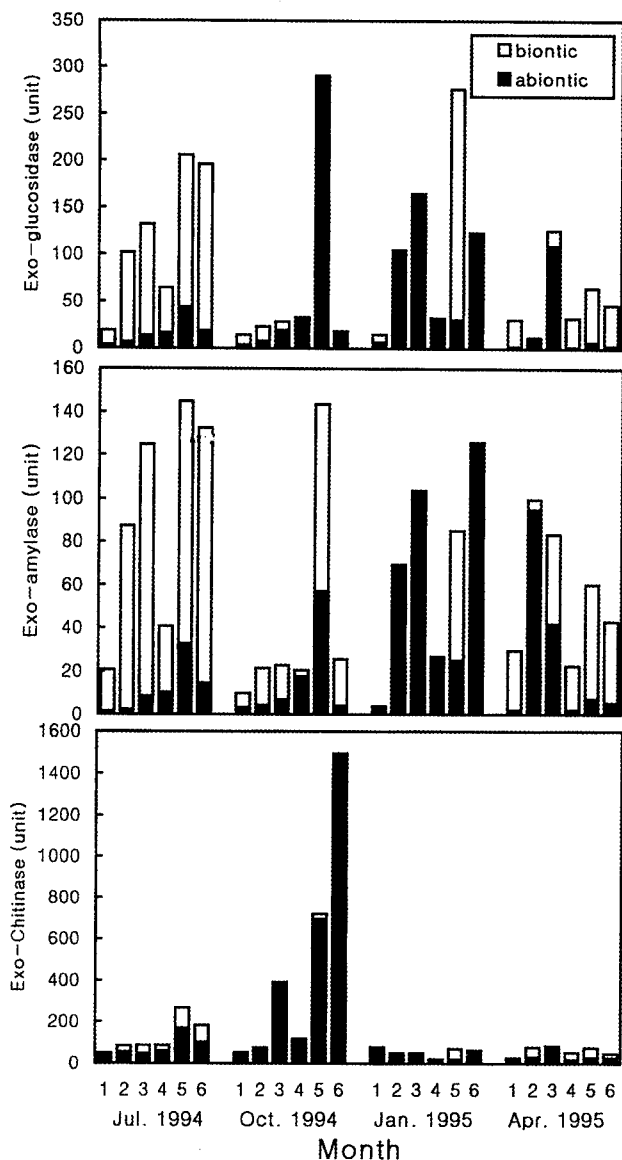
의 경우 3S(포항I)가  $3.4 \times 10^3$  CFUml<sup>-1</sup>로 가장 많았고 수은내성세균의 경우 1S, 2S, 3S, 4S에서는 하계에서만,  $0.2 \times 10^2 \sim 19 \times 10^2$  CFUml<sup>-1</sup>로 검출되었으며 3S가  $1.9 \times 10^3$  CFUml<sup>-1</sup>로 가장 많았다. 따라서 3S(포항I)지역이 주위환경으로부터 중금속을 포함한 산업폐수가 유입되었을 것으로 추정되었다.

### 3) 항생제내성세균

항생제내성세균의 분포는 정점별로 큰 차이를 보였는데 조사된 4종류의 항생제 내성세균 중에서 1S와 2S에서는 Amp 내성세균, 3S, 4S, 5S, 6S에서는 TC 내성세균이 가장 많은 것으로 조사되었다. 그리고 항생제내성세균의 출현빈도는 3S와 5S에서 각각  $0.2 \times 10^2 \sim 20.1 \times 10^2$  CFUml<sup>-1</sup>와  $0.1 \times 10^2 \sim 29.6 \times 10^2$  CFUml<sup>-1</sup>로 나타나 가장 많았고, 1S가 가장 적었다. 따라서 포항과 울산근해(3S와 5S)에서 오염지표미생물의 출현빈도가 높았으며, 대진과 갈남근해(1S와 2S)는 상대적으로 낮은 출현빈도를 나타낸 것은 포항과 울산근해의 오염상태를 간접적으로 시사해 주었다.

### 4) 인 산화환원세균

각종 C-P 화합물을 분해하는 세균(AEPn, MPn, Pt, HPt)을 조사한 결과, 계절별·정점별로 다양한 변화양상을 보였다. AEPn 분해세균의 경우, 처용암(5S)이  $1.3 \times 10^2 \sim 13.8 \times 10^2$  CFUml<sup>-1</sup>로 가장 많았고, 대진(1S)이  $0.1 \times 10^2 \sim 0.7 \times 10^2$  CFUml<sup>-1</sup>로 가장 적었다. MPn 분해세균의 경우, 포항I(3S)과 포항II(4S)에서 많았고, 대진(1S)과 갈남(2S)이 적었다. Pt 이용세균의 경우, 포항I(3S)이  $0.6 \times 10^2 \sim 0.9 \times 10^2$  CFUml<sup>-1</sup>로 가장 많았고 대진(1S)이  $0.1 \times 10^2 \sim 0.3 \times 10^2$  CFUml<sup>-1</sup>로 가장 적었다. HPt 이용세균의 경우도 포항I가 가장 많았고 대진(1S)이 가장 적었다. 또한 각종 C-P 화합물을 이용하는 세균이 가장 많은 것으로 조사된 포항I(3S)의 경우 계절별 양상을 보면, 94년 7월(하계)에  $9.0 \times 10^2 \sim 11.5 \times 10^2$  CFUml<sup>-1</sup>로 가장 많았고 95년 4월(춘계)에는  $0 \sim 0.6 \times 10^2$  CFUml<sup>-1</sup>로 가장 적었다. 이러한 결과는 유기인(C-P) 화합물이 많이 포함될 것으로 예상되는 산업폐수, 가정하수 및 농업폐수 등이 많이 유입되는 정점에서, 역시 이들 유기인 화합물을 분해하고 산화환원시키는 세균군



**Fig. 2.** Seasonal variations of exo-glucosidase, exo-amylase, exo-cellulase, exo-phosphatase and exo-chitinase at each sites in the coastal area of East Sea from July, 1994 to April, 1995. Exo-enzyme substrate: exo-glucosidase, 4-methylumbelliferyl (MU)  $\beta$ -D-glucoside; exo-amylase, MU- $\alpha$ -D-glucoside; exo-cellulase, MU- $\beta$ -D-cellobiopyranoside; exo-phosphatase, MU-phosphate; exo-chitinase, MU- $\beta$ -D-glucosaminide. Y-axis represents unit/10

집이 높게 나타남을 알 수 있었다.

## 2. 세포의 효소의 활성도

세포의 효소는 유기물의 분해와 영양분의 순환에 대한 생체내 제한단계를 뛰어넘어 촉매하기 때문에 매우 중요하다(Sinsabaugh 1994). 또한 유기물질은 미생물의 세포의 효소활성에 의하여 분해되어 biomass로 전환되기 때문에 효소활성도는 수생태계내의 유기물질의 양과 조성 그리고 미생물의 군집밀도를 나타내는 지표로서 이용될 수도 있다(Fabiano & Danovro 1998). 본 연구에서 세포의 효소활성도를 abiontic exoenzyme과 biontic exoenzyme 활성도로 구분하여 조사한 결과는 Fig. 2와 같았다.

Exo-glucosidase, exo-amylase, exo-cellulase의 활성도는 계절별로 abiontic exoenzyme과 biontic exoenzyme 활성도가 차지하는 비율에 변화가 있었다. 이들 3종류의 exoenzyme들은 모두 수온이 가장 높은 7월에 biontic exoenzyme이 abiontic exoenzyme에 비하여 활성도가 높았으나, 94년 10월과 95년 1월에는 abiontic exoenzyme이 biontic exoenzyme에 비하여 활성도가 높게 나타났으며, 수온이 높아지는 95년 4월에 다시 biontic exoenzyme 활성이 더 높았다(Fig. 2). 이러한 결과는 수온이 높을 때 exoenzyme의 세포의 분비보다는 생체내 합성이 활발함이 예측되었고, 수온이 떨어질 때 exoenzyme의 세포내 합성 속도에 비하여 분비되는 속도가 높고 또한, 이미 존재하는 immobilized exoenzyme의 활

성도에 의존되는 것으로 사료되었다. 정점별로는 이들 3 종류의 세포의 효소활성도가 울산 처용암(5S)에서 가장 높았으며 대진(1S)에서 가장 낮게 나타났다. 특히 이들 3 종류의 효소는 모두 생태계내 탄수화물 중합체(다당류)를 분해하는 효소로서 수생태계내 “탄소” 순환에 매우 중요하다(Wirth & Wolf 1992; Sinsabaugh 1994). 본 연구에서, 유기 오염물질이 많이 생겨난 정점들에서 이들 다당류 분해 효소의 활성이 높았던 점은 매우 유의한 결과이다. 즉, 이들 효소의 합성과 기질로 쓰이는 유기물질들이 많이 유포되어 있음을 유추할 수 있다.

수환경내 생물체가 이용할 수 있는 인(P)의 형태는 인산염-인( $PO_4$ -P)으로써 유기화합물 중의 인은 phosphatase의 작용에 의해 인산염-인으로 전환된다. 따라서 수환경내 exo-phosphatase활성은 부영양화의 수준을 나타내는 지표로서 활용가능함이 제시되기도 하는데 이 효소의 생합성은 인의 함량이 부족한 조건하에서 세균 및 조류에 의해 이루어지는 것으로 알려져 있다. 따라서 본 연구대상지역의 exo-phosphatase 활성도를 측정하였는데, 계절별로 큰 차이를 보이지는 않았으나 94년 10월에 가장 높았다. 94년 7월에는 1S에서 6S로 갈수록 점차 활성이 높아졌으나 94년 10월에는 2S와 6S, 95년 4월에는 3S가 높았다. 이러한 독특한 활성도 변화양상은 다른 4가지 exoenzyme들은 세포의 유기물의 분해에 관여하는 효소인 반면에 exo-phosphatase는 인산에스테르 화합물에서 무기인산기를 유리하는 효소이기 때문에 비롯된 것으로 사료된다(Fig. 2). 특히 exo-phosphatase의 활성도와 P( $PO_4$ , T-P)의 함량은 매우 특이하게도 부의 상관관계를 나타내었다(Lee *et al.* 1999). 즉, P( $PO_4$ , T-P)의 함량이 모든 계절 그리고 모든 정점을 통해 가장 높은 5S(울산 처용암)에서 exo-phosphatase 활성이 매우 낮았으며, 상대적으로 P 함량이 적을 때 exo-phosphatase의 활성도가 높았다. 이는, 일반적으로 phosphatase는 무기인산( $PO_4^{3-}$ )의 함량에 절대적으로 그 합성과 활성이 반비례적으로 조절된다(Lee *et al.* 1992)는 것을 나타낸다. 즉, P 함량이  $10 \mu M$  이하의 농도로 존재할 때도 그 합성과 활성이 억제되며, 이용 가능한 P 함량이 거의 소모되었을 때 ( $1 \sim 2 \mu M$  정도)에 phosphatase의 합성과 활성이 유도된다고 할 때 본 연구결과도 일치하는 결과를 나타낸다. 따라서 이러한 결과로부터 exo-phosphatase의 활성도는 환경내 거대 영양소 중의 하나인 인(P) 화합물의 상대적 결핍, 제한 또는 부영양화를 나타내 주는 좋은 생물학적 지표로 활용될 수 있었다. 또 특기할 만한 사실로 인의 순환에 관여하는 exo-phosphatase는 bionic exo-phosphatase에 비하여 abiotic exo-phosphatase가 대부분을 차지하

고 있었다. 이는, 대부분의 미생물(세균, microlagae)들은 phosphatase의 활성이 세포 밖으로 분비(배출)할 때 효소의 활성이 나타난다는 사실과 유의하였다.

Exo-chitinase는 거대 영양소 중 하나인 N(질소화합물)의 순환에 관여한다(Sinsabaugh 1994). Exo-chitinase의 활성을 계절별, 정점별로 조사한 결과, abiotic exoenzyme 활성도가 높았고(Fig. 2), 94년 10월에 5S와 6S가 가장 높게 나타났다. 효소작용 후의 산물인 질소 영양염류 함량(Lee *et al.* 1999)과 exo-chitinase 활성도 변화는 대체적으로 부(-)의 상관관계를 나타내고 있어, exo-phosphatase 활성도가 그 효소의 산물인 영양염류 P( $PO_4$ ) 함량과 부(-)의 상관관계를 보이는 경우와 같았다. 생태내 유기질소 화합물은 핵산, 다당류, 단백질 등에 다양하게 존재하기 때문에 이들로부터 유리되는 질소화합물( $NH_4$ ,  $NO_3$ ,  $NO_2$ ) 등의 함량은 다양한 세포의 효소(protease, aminopeptidase, urease)들의 활성도를 측정하였을 때 정확한 상관관계를 분석할 수 있을 것이다. 반면에 exo-chitinase의 기질로 쓰일 수 있는 입자성 질소 유기물질(PON)(Lee *et al.* 1999)의 함량과 수온은 exo-chitinase의 활성도와 정(+의 상관관계를 나타내었다. 계절별 · 정점별 exo-chitinase 활성도는 1994년 10월에 5S와 6S가 가장 높게 나타났다.

Exo-glucosidase와 amylase는 94년 7월과 95년 1월, exo-chitinase는 94년 10월, exo-cellulase는 95년 1월에 높았다. 따라서, 유기물질 분해효소의 활성도는 계절별로 변하는 것을 알 수 있었다. Sinsabaugh(1994)의 모델에 따르면, 세포의 효소의 활성은 2단계로 조절된다. 생태계 수준에서는 미생물 활성도 정도에 의해서 효소의 생성이 결정되며, 미생물 활성도는 수온, 수심, 기질농도 등의 환경요인에 의해 영향을 받는다. 미소환경 수준에서는 이미 세포외로 분비된 효소의 활성이 환경요인에 의해 영향을 받는다. 한편, 해양 생태계에서는 육상 생태계에서 유입되는 유기물과 식물플랑크톤 및 해조류 등에 의해 자생되는 유기물로 인하여 다양한 종류의 유기물이 존재하게 된다. 94년 7월과 95년 1월의 경우 거대분자의 분해에 관여하는 exo-glucosidase, exo-amylase, exo-cellulase 등의 활성이 매우 높았는데, 이는 같은 시기에 종속영양활성도가 높았던 것(Fig. 4)과 유관하며, 종속영양활성도가 높아짐으로 해서 다시 세포의 효소의 생성이 증가한 결과라고 사료된다.

### 3. poly-P 및 DNA 함량

조사지역을 대상으로 poly-P와 DNA함량을 조사한 결과, 매우 유사한 변화양상을 갖는 것으로 나타났다(Fig. 3). 유입 및 자생된 유기물질이 많은 해수에서 각

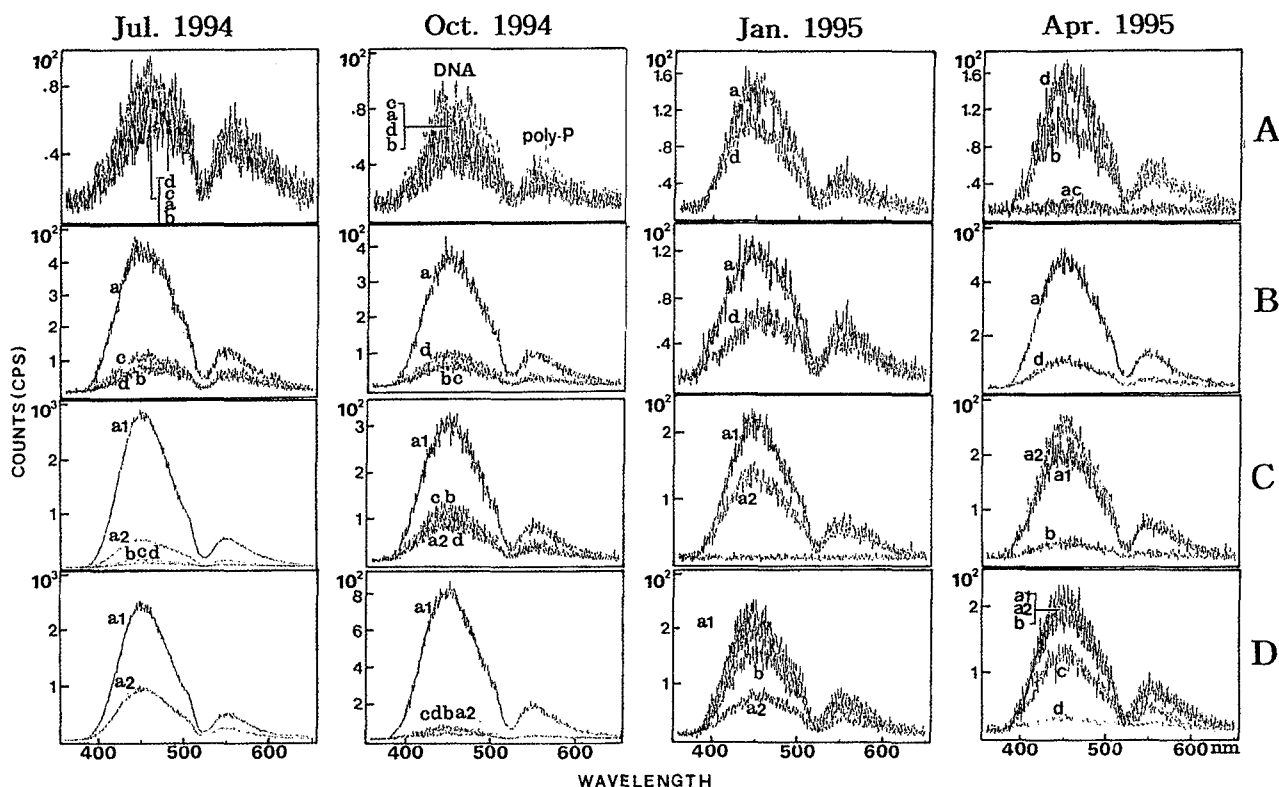


Fig. 3. Seasonal variations of DNA and poly-P at each sites in the coastal area of East Sea, from July, 1994 to April, 1995. A; Daejin, B; Kalmam, C; Pohang, D; Ulsan, a; coastal area, b; surface (0 m), c; middle (15 m), d; bottom (30 m).

중 미생물들이 증식되므로 DNA 함량과 오염의 지표 신호화합물로서의 적용이 가능한 poly-P 함량이 높아지는 것은 예측 가능했었던 결과였다 (Lee *et al.* 1992, 1993, 1994, 1995a, b, c).

계절별에 있어서는 포항과 울산 해변의 경우, 계절적 변화가 심해 하계의 값이 매우 큰 반면에 대진과 갈남에서는 그렇지 않았다. 정점별로는 포항이 가장 높았고 그 다음에 울산, 갈남, 대진 순으로 높았다. 이는 종속영양세균의 분포양상과 매우 일치하는 것으로 각 정점별 오염상태를 예측할 수 있는 요소중의 하나로 적용가능하였다.

4. 종속영양활성도 및 세균의 생산력

<sup>14</sup>C-glucose를 이용한 종속영양활성도를 조사한 결과 Fig. 4와 같았다. 1S와 5S의 경우에는 94년 7월, 95년 1월이 높았고, 2S와 3S의 경우에는 95년 1월, 4월이 높았으며, 4S와 6S의 경우에는 94년 7월이 가장 높았다. 이와 같이 정점별로 계절적 변화양상에는 차이가 있으나, 94년 7월에 1.35~6.08 nM glucose l<sup>-1</sup>hr<sup>-1</sup>로 가장 높고 94년 10월에 0.26~2.80 nM glucose l<sup>-1</sup>hr<sup>-1</sup>로 가장 낮은 활성도를 나타내었다. 그리고 정점별 종속영양활성도 역

시 4S에서 비교적 낮았다. 이와 같이 종속영양활성도가 종속영양세균의 생균수나 세균생산력의 계절적 변화 양상과는 다르게 나타난 것으로 보아 그밖의 미세 환경요인이 영향을 미쳤을 것으로 추론된다.

조사기간 중 조사정점에서 종속영양활성도와 세포의 효소활성도 (Fig. 2)를 비교해 보면, 94년 7월에 종속영양활성도가 높은 것은 높은 biontic exoenzyme 활성도에 의해 용존 유기탄소의 균형이 이루어지고 있으며, 역으로 종속영양세균의 활성도가 높음으로 해서 효소활성을 포함한 대사작용이 더불어 왕성해 지고 biontic exoenzyme 활성이 높아졌다고 유추할 수 있다.

95년 1월 (동계)에도 비교적 종속영양활성도가 높게 유지되는 것은 exo-glucosidase, exo-amylase 및 exo-cellulase의 활성이 매우 높음에 기인한 것이라고 보여진다. 또한 95년 4월의 경우에, 2S에서 종속영양활성도가 높은 것은 abiontic exo-amylase와 cellulase에 의해서 유지되며, 3S에서 높은 것은 abiontic exo-glucosidase, amylase 및 cellulase 등에 의해 균형이 이루어지고 있는 것으로 조사되었다. 식물플랑크톤의 배설물 또한 단량체 pool에 직접 제공될 수 있기 때문에 이러한 균형에 영향을 미칠 수 있다고 사료된다 (Hoppe *et al.*

**Table 2.** Correlation coefficients of seasons and each factor

	exo- amylase <sup>-a</sup>	exo- amylase <sup>-b</sup>	exo- chitinase <sup>-a</sup>	exo- chitinase <sup>-b</sup>	exo-phosphatase <sup>-a</sup>		exo-cellulose <sup>-a</sup>		exo-cellulase <sup>-b</sup>		heterotrophic activity	secondary productivity		
	summer	spring	summer	summer	winter	summer	winter	summer	autumn	summer	autumn	autumn	summer	autumn
population														
summer									<b>0.011</b> 0.788					<b>0.009</b> 0.762
autumn												<b>0.049</b> 0.974		<b>0.050</b> 0.827
exo-glucosidase <sup>-a</sup>														
summer			<b>0.008</b> 0.946	<b>0.034</b> 0.868		<b>0.007</b> 0.741						<b>0.012</b> 0.941		<b>0.014</b> 0.843
autumn						0.029 0.743								
exo-glucosidase <sup>-b</sup>														
summer				<b>0.047</b> 0.925						<b>0.018</b> 0.988	<b>0.003</b> 0.81			<b>0.001</b> 0.850
spring	<b>0.039</b> 0.838		<b>0.028</b> 0.827			<b>0.009</b> 0.796		<b>0.026</b> 0.822			<b>0.030</b> 0.761			
exo-amylase <sup>-a</sup>														
summer		<b>0.021</b> 0.764	<b>0.005</b> 0.960	<b>0.018</b> 0.889		<b>0.006</b> 0.781								<b>0.031</b> 0.842
autumn			<b>0.009</b> 0.863											
winter														<b>0.023</b> 0.807
exo-amylase <sup>-b</sup>														
summer										<b>0.029</b> 0.904				<b>0.001</b> 0.847
autumn			<b>0.027</b> 0.929			<b>0.009</b> 0.822					<b>0.041</b> 0.994			<b>0.044</b> 0.846
winter			<b>0.007</b> 0.900			<b>0.006</b> 0.766								
exo-chitinase <sup>-a</sup>														
summer					<b>0.005</b> 0.897	<b>0.026</b> 0.908		<b>0.004</b> 0.885	<b>0.018</b> 0.748	<b>0.048</b> 0.764	<b>0.004</b> 0.957	<b>0.002</b> 0.947		<b>0.002</b> 0.779
autumn										<b>0.046</b> 0.799	<b>0.038</b> 0.734			
winter							<b>0.005</b> 0.926							
exo-chitinase <sup>-b</sup>														
summer						<b>0.014</b> 0.812		<b>0.014</b> 0.859			<b>0.015</b> 0.945	<b>0.004</b> 0.866		<b>0.004</b> 0.878
exo-phosphatase <sup>-a</sup>														
summer										<b>0.006</b> 0.950	<b>0.005</b> 0.823			
winter														
exo-cellulase <sup>-a</sup>														
summer										<b>0.034</b> 0.942		<b>0.003</b> 0.842		<b>0.004</b> 0.804
autumn												<b>0.002</b> 0.783		<b>0.003</b> 0.780
exo-cellulase <sup>-b</sup>														
summer										<b>0.014</b> 0.867	<b>0.002</b> 0.755			<b>0.002</b> 0.840

Data represent:

p value  
r value

p &lt; 0.05: significant

p &lt; 0.01: very significant

p &lt; 0.001: extremely significant

a: abiotic

b: biotic



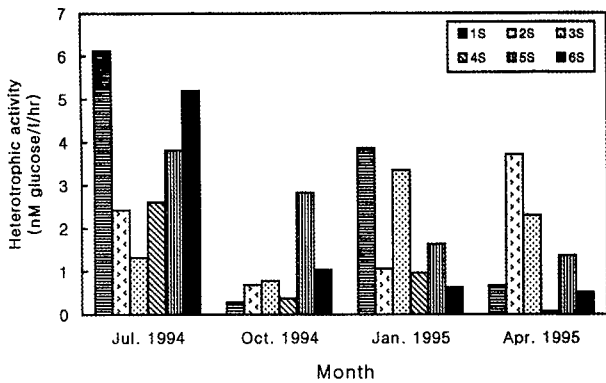


Fig. 4. Seasonal variations of heterotrophic activity at each sites in the coastal area of East Sea from July, 1994 to April, 1995.

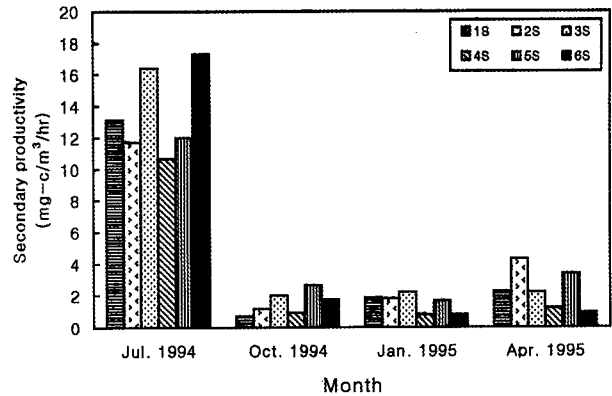


Fig. 5. Seasonal variation of bacterial secondary productivity at each sites in the coastal area of East Sea from July, 1994 to April, 1995.

1988; Ladd *et al.* 1982).

<sup>3</sup>H-thymidine 도입 실험방법이 세균의 생산력을 계산하는데 적합한 이유는 여러 가지가 있다. 첫째, DNA에 티미딘이 도입되는 속도는 티미딘 농도에 의존하지 않는 장점이 있고 둘째, DNA에 티미딘 도입속도는 세포내로 수송되는 속도에 제한 받지 않으며 셋째, 방사능 표지된 티미딘의 회석률도 계산될 수 있으며 넷째, 티미딘 도입속도는 정확히 세균의 세포 생성물로 전환될 수 있기 때문이다(Moriarty 1988). 정점 4S의 경우에는 조사기간 중에 다른 정점에 비해 비교적 낮은 값을 나타내었는데, 이는 각종 세포의 활성도가 정점 4S에서 낮았으며, 인의 양 및 총 particle volume이 4S에서 낮았던 것(Lee *et al.* 1999)과 유관할 것으로 사료된다. 계절별 종속영양세균 군집크기를 살펴볼 때, 수온이 높은 하계와 추계에 제일 높기 때문에 종속영양세균 군집의 크기를 제한하는 요인 중 하나가 온도라고 볼 수 있다. 또 티미딘 도입속도는 온도에 의존하기 때문에(Kaplan *et al.* 1992) 세균 군집을 크게 만드는 세균의 생산력 역시 온도에 의존되는 현상을 본 연구조사 정점에서 관찰할 수 있었다. 한편 [methyl-<sup>3</sup>H] thymidine을 이용한 세균의 생산력을 조사한 결과, 계절적으로 하계에 10.66~17.25 mg-C/m<sup>3</sup>/hr, 추계에 0.71~2.71 mg-C/m<sup>3</sup>/hr, 동계에 0.74~2.24 mg-C/m<sup>3</sup>/hr, 춘계에 0.94~4.39 mg-C/m<sup>3</sup>/hr로서 하계에 가장 높고 추계와 동계에는 낮았다가 춘계에 다시 높아지는 경향을 나타내었다. 이러한 세균 생산력의 계절적 추이는 종속영양세균(Table 1)의 계절적 변화양상과 유사한 경향을 나타내었다(Fig. 5). 즉, 1994년 7월의 세균 생산력은 94년 10월의 경우 보다 4.4~18.2배 높았으며, 1995년 4월에는 95년 1월에 비해 1~2.4배 높았다. 정점별로는 정점 4S가 조사기간 중에 다른 정점에 비해 비교적 낮은 값을 나타내었는데,

이는 각종 세포의 효소의 활성도가 정점 4S에서 낮은 것과 유관할 것으로 사료된다.

5. 계절 및 요인별 상관관계

조사지역을 대상으로 계절 및 요인별 상관관계를 살펴보면, 하계에 exo-cellulase (biontic)는 exo-glucosidase (biontic), exo-amylase (biontic) 그리고 exo-chitinase (abiontic)와 밀접한 상관관계를 보였다. 추계에 있어서는 종속영양세균과 exo-amylase (biontic)가 종속영양활성도 및 세균의 생산력에 대하여 정(+ )의 상관관계를 나타내었으며 또한 exo-chitinase (abiontic)와 exo-cellulase (biontic)의 활성도도 서로 연관성이 있는 것으로 분석되었다. 동계에는 exo-chitinase (abiontic)와 exo-phosphatase (abiontic)를 제외한 다른 요소들 간에는 상호 무관한 경향을 보였으며 춘계에도 유사하였다. 한편, 각 요인들 간에는 전반적으로 exo-cellulase와 exo-chitinase 그리고 exo-chitinase와 exo-glucosidase 상호간 양적인 상관관계를 보였다(Table 2). 유의성 검정은 Two-tailed P 값으로 평가하였고, 요인별 상관관계는 Spearman rank correlation (nonparametric) 방법으로 분석하였다.

사 사

본 연구는 1994년도 교육부 학술연구조성비(해양수산 분야)에 의하여 수행된 연구의 일부임

참 고 문 헌

Aiking H, A Stijnman, C Garderen, H Heerikhuizen and J

- Riet (1984) Inorganic phosphate accumulation and cadmium detoxification in *Klebsiella aerogenes* NCTC 418 growing in continuous culture. *Appl. Environ. Microbiol.* **47** : 374-377.
- Bratback G (1985) Bacterial biovolume and biomass estimation. *Appl. Environ. Microbiol.* **49** : 1488-1493.
- Choi CI, KS Lee and YK Choi (1995) Bacterial productivity in the coastal area of East Sea. *Final report sponsored by Ministry of Education* (1994 Project). 1-8.
- Dahle AB and M Laake (1982) Diversity dynamics of marine bacteria studies by immunofluorescent standing on membrane filter. *Appl. Environ. Microbiol.* **43** : 169-176.
- Fabiano M and R Danovro (1998) Enzymatic activity, bacterial distribution and organic composition in sediments of the Ross Sea (Antarctica). *Appl. Environ. Microbiol.* **64** : 3838-3845.
- Fry JC and T Zia (1982) A method for estimating viability of aquatic bacteria by silde culture. *J. Appl. Bacteriol.* **53** : 189-198.
- Gocke K (1977) Heterotrophic activity. In *Microbial Ecology of a Blackish Water Environment*. (G. Rheinheimer ed.) pp. 198-222. Springer-Verlag, New York.
- Hoppe HG, SG Kim and K Gocke (1988) Microbial decomposition in aquatic environments : Combined process of extracellular enzyme activity and substrate uptake. *Appl. Environ. Microbiol.* **54** : 784-790.
- Kaplan LA, TL Bott and JK Bielicki (1992) Assessment of [<sup>3</sup>H]thymidine incorporation into DNA as a method to determine bacterial productivity in stream bed sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* **58** : 3614-3621.
- Kott Y, F Ribas, J Frias and F Lucena (1997) Comparison between the evaluation of bacterial regrowth capability in turbidimeter and biodegradable dissolved organic carbon bioreactor measurements in water. *J. Appl. Microbiol.* **83** : 347-352.
- Ladd TI, RM Ventullo, PM Wallis and JW Costerton (1982) Heterotrophic activity and biodegradation of labile and refractory compounds by groundwater and stream microbial population. *Appl. Environ. Microbiol.* **44** : 321-329.
- Lee KS, YS Park and GJ Han (1992) Self-clarification and degradation of organic compounds by microbial community in Kum River area. *Kor. J. Limnol.* **3** : 151-166.
- Lee KS, DK Ko, WC Choi, TY Oh, YS Park, CI Choi and YK Choi (1993) Distribution of antibiotics or heavy metal resistant bacteria, and frequency of multi-drug resistance in Kum River area. *Kor. J. Environ. Biol.* **11** : 131-144.
- Lee KS, DK Ko, WC Choi, YK Mun, YS Park, CI Choi and YK Choi (1994)  $\beta$ -Lactamase expression patterns of ampicillin resistant bacteria isolated from Kum River area. *Kor. J. Environ. Biol.* **12** : 13-24.
- Lee KS, DK Ko, YS Park, CI Choi and YK Choi (1995a) Degradability of organic compound and signal index of pollution in Daechung Reservoir lake and Kum River area. *Kor. J. Environ. Biol.* **13** : 27-44.
- Lee KS, DK Ko, YS Park, CI Choi and YK Choi (1995b) Vertical variation upon degradability of organic compound and signal index of pollution in Daechung Reservoir lake. *Kor. J. Limnol.* **28** : 241-251.
- Lee KS, TY Oh, YS Park, YS Kim, YC Kim, JY Lim, KH Min and CK Kim (1995c) Distribution and bio-degradability of microbes degrading recalcitrant agricultural chemicals. *Kor. J. Limnol.* **28** : 323-334.
- Lee KS, GH Kim, S Huh, YK Lee and CI Choi (1999) Distribution of nutritive salts and organic matters in the coastal area of East Sea. *Kor. J. Environ. Biol.* (in press).
- Mahler I, HS Levinson, Y Wang and HO Halvorson (1986) Cadmium and mercury resistant *Bacillus* strains from a salt Marsh and Boston Harbor. *Appl. Environ. Microbiol.* **52** : 1293-1298.
- Moriarty DJW (1988) Accurate conversion factors for calculating bacteria growth rates from thymidine incorporation into DNA : elusive or illusive? *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergeb. Limnol.* **31** : 211-217.
- Parson TR (1984). A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon press.
- Sinsabaugh RL (1994) Enzymic analysis of microbial pattern and process. *Biol. Fertil. Soils.* **17** : 69-74.
- Thornsberry C, J Anhalt, AL Barry, JL Cotton, EH Gerlach, RN Jones, RC Moelling and RA Norton (1985) Method for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that growth aerobically. NCCLS, Villanova. pp. 581-587.
- Wirth SJ and GA Wolf (1992) Micro-plate colourimetric assay for endo-acting cellulase, xylanase, chitinase, 1, 3- $\beta$ -glucanase and amylase extracted from forest soil horizons. *Soil Biol. Biochem.* **24** : 511-519.

## Bacterial Productivity and Degradability of Organic Compounds in the Coastal Area of East Sea

Ki-Sung Lee\*, Dong-Kyu Ko<sup>1</sup>, Guen-Ho Kim, Young-Keun Lee<sup>2</sup>,  
Chung-Il Choi<sup>3</sup> and Yong-Keel Choi<sup>1</sup>

(\**Department of Biology, Pai-Chai University, Taejon 302-735, Korea,*  
<sup>1</sup>*Department of Biology /*<sup>3</sup>*Earth & Marine Science, Hanyang University, Seoul /*  
*Ansan 133-791 / 425-791, Korea,* <sup>2</sup>*Radioisotope and Radiation Application Team,*  
*Korea Atomic Energy Research Institute, Taejon 305-600, Korea )*

**Abstract** - Bacterial population, signal compounds of pollution, bacterial productivity, heterotrophic activity and the activities of extracellular enzymes were analyzed four times from July 1994 to April 1995 at Daejin, Galnam, Pohang, and Ulsan in the coastal area of East Sea in order to investigate the state of eutrophication. The population of heavy metal resistant bacteria in Pohang was the highest among all stations. The bacterial populations which could utilize C-P compounds (phosphonate) showed the highest at Pohang that was expected for the industrial and agricultural effluents to in pour. It could be useful as an index of expectation about the influx of industrial sewages and agricultural effluents. The activities of extracellular enzymes for the degradation of organic matter were the highest in the Ulsan Chuyongam, but low in Daejin. These results showed positive relationship with the population of heterotrophic bacteria and bacterial productivity. The ratio of poly-P and DNA in Pohang was the highest, and that in Ulsan, Galnam, and Daejin consecutively, corresponding with the distribution of heterotrophic bacteria. In case of the heterotrophic activities, each of the stations gives difference of seasonal variation in heterotrophic activities. Bacterial productivity seemed to be dependent on seasons; the highest in summer and the lowest in fall and winter. These seasonal variations of bacterial productivity seems to be similar with those of heterotrophic bacteria. It is suggested that the state of eutrophication could be evaluated by the criteria of the population sizes and the productivities of microorganisms, the amount of poly-P, heterotrophic activity, the activities of extracellular enzymes, etc.