

## 이화학적 수질인자가 부영양화된 마산저수지의 세균분포에 미치는 영향

남귀숙\* · 손형식<sup>1</sup> · 차미선<sup>1</sup> · 조순자<sup>1</sup> · 이광식 · 이상준<sup>1</sup>

농업기반공사 농어촌연구원, <sup>1</sup>부산대학교 미생물학과

부영양화된 농업용저수지인 마산지(충남 아산)에서 DAPI와 fluorescent *in situ* hybridization 방법을 이용하여 세균분포의 변화와 이에 영향을 미치는 이화학적 수질인자를 상관관계분석을 통해 살펴보고자 하였다. 2000년 6월부터 11월 동안의 월평균 수온은 12.3~27.5°C, 수소이온농도(pH) 7.5~9.0, 용존산소량(DO) 7.1~12.8 mg/L의 범위를 보여주었다. 생화학적산소요구량(COD)(6.4~13.0 mg/L)과 엽록소 a(Chl-a)(30.5~99.0 mg/m<sup>3</sup>), 총질소(TN)(1.748~3.543 mg/L)는 7월, 8월에 높게 나타난 반면, 부유물질(SS)(7.5~25.7 mg/L), 총인(TP) (0.104~0.581 mg/L)은 9월에 가장 높게 나타나 강우의 영향과 퇴적층의 영향을 받고 있는 것으로 나타났다. 총세균수는 0.4~9.6×10<sup>6</sup> cells/ml로 총세균수를 기준으로 중영양-부영양상태를 나타내었으며, 총균수에 대한 Eubacteria의 비율은 67.6~88.0%로 높은 범위를 보여주었다. 총세균수 및 Eubacteria group의 분포에 영향을 미치는 이화학적 수질인자를 검토하기 위한 상관관계분석 결과 수온보다는 Org-N, Org-P 등 유기성의 영양염류가 세균군집크기와 상관성이 가장 높게 나타나 가장 큰 영향을 미치고 있는 요인으로 나타났으며, Proteobacteria group은 Org-P, Org-N과 가장 큰 영향을, 수온, 전기전도도(EC), COD, 무기질소 등도 다소 영향을 미치는 것으로 나타났다. 반면에 C-F group은 Org-N에 HGC group은 수온에 가장 큰 영향을 받는 것으로 나타났으며, 그외 항목에서는 Proteobacteria group 보다 영향성이 크지 않은 것으로 나타났다. pH, DO, BOD, SS 등의 항목에 대해서는 서로 영향을 미치지 않았으며, Chl-a와는 유의성있는 상관성이 전혀 없어 서로 영향을 미치지 않는 것으로 나타나 다른 마산지에서는 식물플랑크톤보다는 강우현상과 그에 따른 유기물질의 영향을 크게 받는 것을 알수 있었다. 따라서 농업용저수지인 마산저수지의 세균군집의 계절적 분포는 수생태계내의 식물플랑크톤의 변화보다 강우현상 및 호소내부의 유기오염물질변화, 수온 등의 환경요인에 더 크게 영향을 받는 것으로 판단되며, 향후 오염된 농업용저수지에서 세균군집 변화에 대한 좀더 면밀한 검토가 이루어져야 할 것으로 사료된다.

Key words □ bacterial community, correlation coefficient, fluorescent *in situ* hybridization (FISH), Masan reservoir

### 서 론

우리나라는 화성암지형의 특성상 자연호수의 발달이 매우 빈약한 반면, 예로부터 농업용수의 확보를 위하여 평야지역에 크고 작은 많은 인공호수들을 건설하여 왔다(4). 특히, 우리나라의 농업용 저수지들은 중산간지역에 축조되어 있으며 대부분이 노후화되어 평균수심이 얕고 체류일수가 긴 편으로 호소에 유입되는 오염물질 등 영양염류에 의한 부영양화 발생 등 오염에 매우 취약한 구조적 특성을 지니고 있다(7). 조사 대상지인 마산저수지(충남 아산) 역시 축조된 지 50년이 넘는 노령화된 농업용저수지로서 평균수심(3.3 m)이 낮고 퇴적물질의 양이 많아 수질악화가 심화될 가능성이 높은 부영양상태의 호소이다(3).

호소의 수생태계에서 미생물은 대개 분해자로 작용하여 생태계내의 각종물질을 분해·순환시킴으로써 무생물적요소와 생물적요소를 연결시키며, 수환경에 유입되는 각종오염물질 및 물리화학적 환경요인과 함께 식물플랑크톤, 동물플랑크톤 군집변화에 민감하게 반응한다(20).

본 연구에서는 부영양화된 저수지의 수생태계의 이화학적 특성에 따른 세균의 분포 및 군집구조의 변화를 DAPI법과 fluorescent *in situ* hybridization법을 이용하여 살펴 보았으며, 이화학적 수질인자에 의한 영향성을 상관관계 분석을 통해 검토하였다. FISH기법은 원핵생물의 16S rRNA 염기서열의 상보적인 oligonucleotide에 형광물질을 부착한 것을 탐지자(gene probe)로 하여 세포내 rRNA에 hybridization 함으로써 배양을 통하지 않고 현상시료의 세균을 직접 형광현미경을 이용해 동정하고 계수하는 방법이다(18). 이 기법은 Eubacteria, Archaeobacteria 등의 영역에서부터 중수준에 이르기까지 다양한 분류수준의 동정이 가능케 하므로 다양한 생태계의 특정 세균군집을 파악하는데 효과적으로 이용되고 있다(24).

### 재료 및 방법

#### 조사지역 및 시료채취

마산저수지는 저수용량 3×10<sup>6</sup> m<sup>3</sup>, 유역면적 17.7 km<sup>2</sup>, 관개면적 5.66 km<sup>2</sup>의 농업용수원으로, 저수지 유출수는 삼교담수호로 유입되는 곡교천의 지류인 오목천에 합류된다. 조사는 마산저수지 중앙지점에서 2000년 6월부터 11월까지 월별로 실시하였으며,

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 031-400-1838, Fax: 031-400-1889  
E-mail: leo612@karico.co.kr

시료의 채취는 수심 측정 후 수면하 0.5 m부터 1~1.5 m 간격으로 구분하여 Vandon 채수기로 채수하였다. 세균분석을 위한 시료는 멸균된 1 L 채수병에 무균적으로 취했으며, 수질이화학분석을 위한 시료는 전처리과정을 고려하여 1 L와 2 L 폴리에틸렌병에 각각 취하였다.

### 이화학적 수질분석

수온, pH, EC, DO 등은 시료채취와 함께 현장에서 바로 측정하였으며, COD는 산성망간법(16)으로, TN, 암모니아성 질소( $\text{NH}_4\text{-N}$ ), 아질산성 질소( $\text{NO}_2\text{-N}$ ), 질산성 질소( $\text{NO}_3\text{-N}$ ), TP, 인산염 인( $\text{PO}_4\text{-P}$ ), SS, Chl-a 등은 Standard Method 제19판(19)의 방법에 준해 분석하였다.

### 총세균수 및 세균 군집구조 분석

총세균수를 측정하기 위한 DAPI와 세균군집구조를 위한 FISH법의 fluorescent oligonucleotide의 dual stain은 Hicks 등(22)의 방법에 준하여 실시하였다. 고정된 시료는 시료 1 volume에 ethanol 1 volume을 첨가하여  $-20^\circ\text{C}$ 에 저장하였고, 총세균수는 고정된 시료 2  $\mu\text{L}$ 를 silane coating slide glass위에 떨어뜨린 후, DAPI(1  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )를 50  $\mu\text{L}$  첨가하여 5분간 염색한 후, 멸균 증류수로 세척하여 형광현미경과 scanning confocal laser microscopy를 사용,  $\times 400$  또는  $\times 1,000$ 의 배율에서 field에 나타난 세균을 20번 이상 반복 계수하여 그 평균값으로 나타내었다(5). 세균군집별 Eubacteria 수는 고정된 시료 2  $\mu\text{L}$ 를 saline coating slide에 spot하여 공기 중에서 건조시키고 이 slide를 50, 80, 96% ethanol에 각각 3분간 담근 후 건조하여, hybridization 용액(0.9 M NaCl, 20 mM Tris-HCl [pH 7.4] 0.1% SDS, formamide 농도:EUB, 20%; ALF, 20%; BET와 GAM, 35; C-F, 15%; HGC, 20%) 8  $\mu\text{L}$ 와 probe로 사용되는 oligonucleotide (5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) 1  $\mu\text{L}$ 을 잘 섞은 혼합액을 상기의 slide glass에 떨어뜨려  $46^\circ\text{C}$ , 90분간 반응시키고, 미리  $48^\circ\text{C}$ 로 예열된 세척용액(20 mM Tris-HCl [pH 7.4], 5 mM EDTA, 0.1% SDS, NaCl 용액농도 : EUB, 0.9 M; ALF, 0.225 M; BET와 GAM, 80 mM; CF, 80 mM)에 15분간 담근 후 증류수로

세척하여 공기 중에서 건조시킨 다음 DAPI법과 동일하게 측정하였다(5). 사용된 probe인 rRNA-targeted oligonucleotide는 Table 1과 같다.

## 결과 및 고찰

### 기상 및 이화학적 수질인자

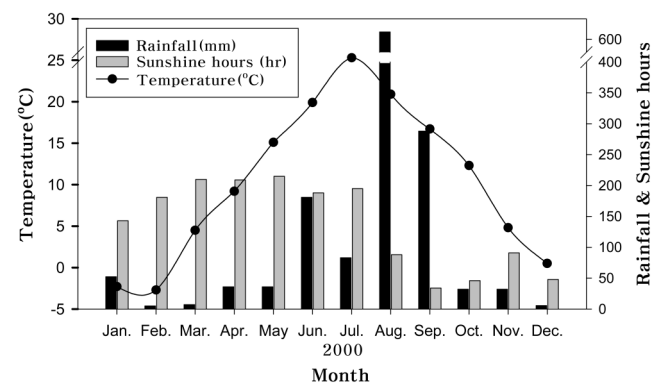
충남 아산시는 비교적 서해바다와 가까운 중부내륙에 위치하고 있어 다른지역에 비해 한서의 차가 심하지 않은 서해 해양성 기후지역에 해당한다(연평균기온  $11.5^\circ\text{C}$ , 평균 강수량 1,219 mm, 평균상대습도 77.2%, 한국기상대 아산관측소). 2000년의 강수변화(총 1,387 mm)는 6월 장마를 시작으로 하여 8월에는 태풍으로 인해 600 mm 이상의 최고 강수량을 보였고, 9월에는 300 mm의 강우가 집중해 6월~8월 사이에 전체강우의 80%를 차지하고 있었다(Fig. 1). 일조시간은 9월에 가장 짧게 나타났으며, 4~7월 사이에는 월 200시간 이상을 보였다.

마산저수지의 6월~11월의 수온, pH, DO, COD 등의 수층별 이화학적 변화를 평균하여 Table 2에 나타내었다. 수온은 7월에 평균  $27.5^\circ\text{C}$ 로 가장 높았으며, pH는 강수량이 많았던 8월과 9월에 현저히 감소하여 나타났다. EC는 6월을 기점으로 점차 감소하여 9월에는  $95 \mu\text{S}/\text{cm}$ , 2.9 mg/L로 최소 값을 보인 후 다시 점차 증가하였다. 이는 6월 말 장마를 시작으로 9월 집중강우 등 강우 현상의 직접적인 영향을 보여주는 것으로 초기강우 이후에 저수지로 유입된 강우수가 희석수로서 작용하였음을 직접적으로 나타내고 있다. COD는 6월 이후 7월과 8월에 증가한 후 9월에 최저치를 보여주었는데 이는 강우와 함께 유입된 육상기원의 토양입자에 부착된 유기물질과 강우 현상 사이에 식물플랑크톤에 의한 생물합성의 결과로 판단된다.

TN은 6월 이후 점차 증가하여 8월에 가장 높은 수치를 보였으며, TP는 9월에 가장 높은 농도를 보여 EC와 전혀 다른 양상을 보여주었으며, SS도 TP와 같이 점차 증가하여 9월에 가장 높은 농도를 나타내었다. 특히, 유기성 질소와 암모니아성 질소, 유기성 인은 초기강우의 영향을 받고 있는 7월에 증가한 후 감소하였으며, 질산성 질소와 인산염인은 강우기 동안 점차 증가하여 9월에 최고 농도를 보여주고 있었다. 따라서 마산저수지에서 강

**Table 1.** Oligonucleotide probes

Probe	Sequence (5'-3')	Target position	Specificity
EUB	GCTGCCTCCCGTAGGAGT	16S, 338-355	Bacteria
ALF	CGTTCGCTCTGAGCCAG	16S, 19-35	$\alpha$ -subclass Proteobacteria
BET	GCCTTCCCACTTCGTTT	23S, 1027-1043	$\beta$ -subclass Proteobacteria
GAM	GCCTTCCCACATCGTTT	23S, 1027-1043	$\gamma$ -subclass Proteobacteria
C-F	TGGTCCGTGTCTCAGTAC	16S, 319-336	<i>Cytophaga-Flavobacterium</i>
HGC	TATAGTTACCACCGCCGT	23S, 1901-1918	Gram-positive with high DNA G+C content



**Fig. 1.** Monthly variations of air temperature, precipitation and sunshine hours in 2000 in Asan city.

**Table 2.** Monthly fluctuations of physicochemical factors in Masan reservoir from June to November 2000. Each data showed the mean±standard deviation.

Month		Summer season			Fall season		
		Jun.	Jul.	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.
Water temp.	(°C)	25.2±0.9	27.5±2.0	26.3±1.3	19.5±1.8	16.0±0.4	12.3±0.1
pH	(μS/cm)	9.0±1.0	8.6±1.5	7.5±1.0	7.6±1.4	8.9±0.2	8.61±0.1
EC	(mg/L)	220±10	203±16	170±6	95±4	127±0	142±1
DO		7.1±3.2	7.2±5.5	7.5±4.5	8.8±3.6	11.3±0.6	12.8±0.2
COD	(mg/L)	11.8±1.1	13.0±2.2	12.4±2.2	6.4±0.9	8.3±1.7	8.5±0.2
SS	(mg/L)	12.3±4.4	11.4±4.4	12.3±6.1	25.7±20.7	12.6±0.8	7.5±1.4
Chl-a	(mg/m <sup>3</sup> )	33.6±6.5	52.5±19.1	99.0±55.2	30.5±19.2	62.1±7.2	56.1±4.4
TN	(mg/L)	2.041±0.676	3.321±1.216	3.543±0.371	3.245±0.174	1.748±0.386	2.194±0.646
Org-N	(mg/L)	1.669±0.435	2.284±0.338	1.669±0.256	0.823±0.054	0.818±0.376	1.318±0.690
NH <sub>4</sub> -N	(mg/L)	0.161±0.223	0.657±0.965	0.417±0.206	0.199±0.191	0.227±0.010	0.082±0.031
NO <sub>2</sub> -N	(mg/L)	0.003±0.003	0.001±0.003	0.033±0.015	0.065±0.031	0.148±0.001	0.076±0.002
NO <sub>3</sub> -N	(mg/L)	0.209±0.063	0.380±0.024	1.425±0.391	2.158±0.240	0.556±0.030	0.719±0.014
TP	(mg/L)	0.118±0.015	0.232±0.233	0.270±0.061	0.363±0.019	0.143±0.006	0.085±0.027
Org-p	(mg/L)	0.118±0.016	0.200±0.179	0.147±0.025	0.105±0.010	0.121±0.010	0.068±0.028
PO <sub>4</sub> -P	(mg/L)	0.000±0.001	0.032±0.055	0.123±0.073	0.258±0.028	0.023±0.005	0.016±0.003

**Table 3.** Numbers of total bacteria and Eubacteria groups, and ratios of Eubacterial groups to total bacteria from June to November 2000.

Month	Bacterial numbers (×10 <sup>6</sup> cells/ml)								Eubacterial group/Total bacteria (%)						
	TB	EUB	ALF	BET	GAM	C-F	HGC	Other	EUB	ALF	BET	GAM	C-F	HGC	Other
Jun.	1.5	1.3	0.3	0.2	0.2	0.1	0.2	0.4	88.0	16.7	13.9	13.3	4.4	14.8	24.9
Jul.	9.6	6.5	1.5	1.5	1.5	1.5	0.4	0.1	67.6	15.2	16.1	16.0	15.1	4.6	0.6
Aug.	2.7	2.1	0.3	0.2	0.2	0.1	0.2	1.0	75.9	9.6	8.7	8.3	3.4	7.7	38.1
Sep.	1.5	1.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.2	0.5	80.1	10.7	10.7	8.9	4.3	14.2	31.4
Oct.	1.9	1.5	0.2	0.3	0.2	0.2	0.3	0.3	76.8	10.2	14.4	13.0	12.8	13.6	12.8
Nov.	0.4	0.4	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	86.1	21.6	14.7	12.0	16.7	19.1	2.0

TB; total bacteria, EUB; Eubacteria, ALF; α-Proteobacteria group, BET; β-Proteobacteria group, GAM; γ-Proteobacteria group, C-F; Cytophaga-Flavobacterium group, HGC; Gram (+) with high G+C content group, Other; unknown group

우의 집중으로 인해 EC는 감소하지만, COD 등 유기물질과 영양염류는 오히려 증가하여 나타나는 등 강우의 영향을 크게 받았다.

강우기 이후 10월과 11월에는 식물플랑크톤 등의 생물작용과 물리적 침강 등에 영향을 받아 COD 등 유기물질농도가 증가하고, TN, TP, SS는 감소하였다. 이시기 N, P 등 영양염류는 무기성 영양염류는 감소하였고, 유기성 영양염류는 증가하였는데, 이는 생물에 의한 유기화로 인한 결과로 판단된다.

식물플랑크톤의 현존량에 대한 간접지표인 Chl-a는 강우로 인해 증가된 영양염류와 높은 수온, 강우사이의 맑은 날 일사량으로 인해 점차 증가하여 8월에 99.0 mg/m<sup>3</sup>로 최고 농도를 보였으며, 집중강우가 계속된 9월에만 30.5 mg/m<sup>3</sup>로 감소하였고, 10월, 11월에 다시 증가하였다. 11월의 Chl-a의 감소는 수온감소때문으로 판단되며, 수층의 안정화로 특히 TP의 감소가 현저히 나타

났다.

### 총세균수와 Eubacteria의 분포특성

수심이 낮은 농업용 저수지인 마산지의 6월~11월(여름~가을)동안의 총세균수와 세균 군집구조의 변화를 수층별 평균값으로 나타내었다(Table 3). 총세균수는 0.4~9.6×10<sup>6</sup> cells/ml로 수온이 가장 높고 강우로 인한 오염물질이 증가한 7월에 급증하여 나타났고, 수온이 가장 낮았던 11월에 가장 최저치를 보여 주었다(Fig. 2). 수온이 높을수록 미생물의 성장은 빨라지는데, 대청호에서 총세균수는 7월에 큰 peak를 보였으며, 소양호에서의 세균군집구조에 가장 큰 영향을 미치는 요인은 수온이었다(6, 14). 마산지의 총세균수는 팔당호(0.59~8.10×10<sup>6</sup>), 소양호(0.18~3.10×10<sup>6</sup> cells/ml)보다는 상당히 높은 수준이고(11, 12), 저수지 규모와 오염특성이 유사한 문천지(0.8~1.5×10<sup>6</sup> cells/ml)보다도 이주 높게 나타났

으나(9), 오염수준이 심각한 천호지( $6.0\sim13.0\times10^6$  cells/ml)와 비교하면 비슷한 수준을 보여주고 있어 오염된 저수지에서 세균수의 분포가 높게 나타남을 알 수 있었다(15). 특히, 수질오염도나 영양상태를 나타내는 매우 유용한 도구로서 총세균수를 이용할 때 마산지는 중영양~부영양상태를 나타내고 있다(25, 27, 29).

Eubacteria의 분포는  $0.4\sim6.5\times10^6$  cells/ml로 총세균수와 같이 7월에 가장 높은 분포를 11월에 가장 낮은 분포를 보였다(Fig. 2). 총세균수에 대한 Eubacteria의 비율은 평균 67.6~88.0%로 6월에 가장 높은 비율을, 7월에 가장 낮은 비율을 나타내었다. 강우현상에 따른 총세균수 및 Eubacteria 분포의 변화를 보면, 초기강우 유출에 따른 육상기원의 유기물질 증가로 7월에 급격한 증가를 보인 후 8월에 감소, 집중강우가 있었던 9월에 더욱 감소하였으며, 강우기가 끝난 10월에 세균분포의 증가를 관찰할 수 있었다. 또한 수온의 감소로 인해 11월에는 세균수가 최저 수준을 보여주었다.

총세균수에 대한 Eubacteria의 비율변화는 세균분포가 높은 7월에 가장 낮고, 세균분포가 낮았던 6월, 9월, 11월에 높은 분포를 보여 주어 총세균수의 변동에 비해 Eubacteria의 변동이 다소 안정적인 것으로 나타났다. 또한, 농업용저수지인 문천지와 남매지에서 Eubacteria의 총세균수에 대한 비율이 남조류의 증식과 관련하여 남조류 증식시기에 격감하였으며(9, 10), 소양호에서 남조류 우점 시기에 Eubacteria의 총세균수에 대한 비율이 50% 이하로 감소한 이유로 남조류의 toxin이 세균성장을 저해하기 때문으로 추정할 바 있다(1). 본 연구에서도 Chl-*a*가 높은 7월, 8월, 10월에 Eubacteria의 비율이 낮게 나타나 남조류에 의한 영향이 있음을 추측할 수 있었다.

총세균수 중의 Eubacteria 군집의 비율을 군집구분별로 살펴본 결과(Fig. 3) 6월, 8월, 11월에는  $\alpha$ -Proteobacteria group이, 집중강우가 나타났던 9월에는 HGC group이, 10월에는  $\beta$ -group이 우점하여 나타났다. 세균분포가 급증하였던 7월에는 각  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -Proteobacteria group과 C-F group이 유사한 분포를 보여주었으며, 다른 시기에 비해 HGC group과 기타세균의 비율이 상당히 낮게 나타났다. Chl-*a*가 가장 높았고, 강우 유출수의 유입이 많았던 8월과 9월에는 7월과 달리 기타(other) 군집의 비율이 38.1%로 아주 높았으며, Proteobacteria group의 비율은 10% 내외로 낮은 편이었고, C-F group의 비율 역시 다른 시기에 비해 특징적으로 낮게 나타났다. 9월 우점 group으로 나타났던 HGC group은 수온이 높았던 7월과 8월에 낮은 분포를 보인 것을 제외하면, 13~19%의 비교적 일정한 분포를 보여주고 있었다.

다른 저수지 및 호소에서 Eubacteria의 시기별 군집구조의 특성을 본 연구와 비교해 보면, 소양호에서 봄  $\gamma$ -group, 여름  $\alpha$ -group이 우점하였으며, 가을에는 Eubacterial group의 비율이 상대적으로 낮아 other 군집이 우점하는 특성을 보고하였는데(1), 본 연구에서는 6월과 8월에 소양호와 같이  $\alpha$ -group이 우점, 7월에는  $\alpha$ -group 보다는  $\beta$ -,  $\gamma$ -group이 우점하였으며, 기타 group은 6월, 8월, 9월에 우점하였고, 11월에는 아주 낮은 분포를 보여 주어 소양호와 차이를 보여주었다.  $\beta$ -group은 *Nitrosomonas*, *Thiobacillus* 등 chemoautotrophs를 포함하여 빈영양상태의 호수,

활성슬러지에서 우점하거나 다량 검출되었고, 저온의 수계에서도 우점한다고 보고되었으나(17, 21, 23, 24, 26), 본 연구에서는 수온이 가장 높고, COD 농도가 높은 7월과 Chl-*a*의 농도가 증가한 10월에  $\beta$ -group이 우점하였다. 또한, 유기물과 관련된  $\gamma$ -group은 다수의 세균이 분해가 용이한 유기물질을 이용하여 빨리 성장하는 copiotrophs로서, 실제 수생태계에서는 4%미만의 비율을 차지하고 있으며(21, 24), 남매지의 연구에서도 10% 미만의 비율을 보고하였으나(12), 본 연구에서는 8~18%로 8~9월을 제외하면 10%를 초과하는 비율을 보여주었다. 남매지에서는 다양한 물질 대사능과 다양한 형태를 가진 세균군을 포함하여, 저농도의 유기물 이용능력이 다른 세균군에 비해 좋은  $\alpha$ -group이 많이 검출되면 C-F group도 많이 검출되는 경향을 보고하였는데(10), 마산저

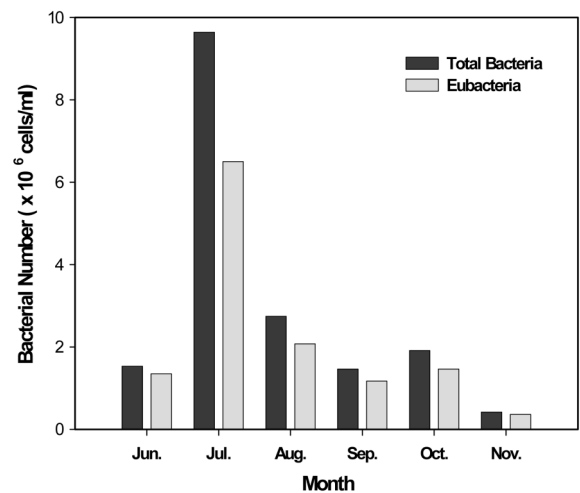


Fig. 2. Average variations of the number of total bacteria and Eubacteria in Masan reservoir.

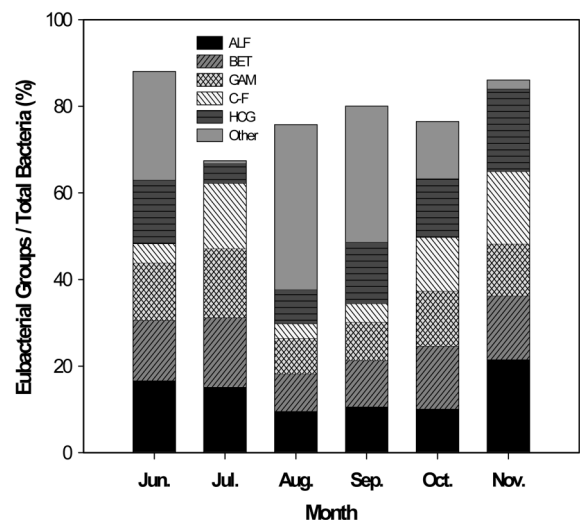


Fig. 3. Average variations of ratios of Eubacterial groups to total bacteria in Masan reservoir. ALF;  $\alpha$ -Proteobacteria group, BET;  $\beta$ -Proteobacteria group, GAM;  $\gamma$ -Proteobacteria group, C-F; Cytophaga-Flavobacterium group, HGC; Gram(+) with high G+C content group, Other; unknown group

수지에서는 11월  $\alpha$ -group이 우세할 때 C-F group이 높은 분포를 보였다. 또한 C-F group은 Chl-*a*가 증가했을 경우 우점하고 심수층에 존재하는 다양한 고분자 물질의 분해에 관여하는 것으로 알려져있는데(21, 26), 본 연구에서는 Chl-*a*가 높게 나타난 7월, 8월 10월중 7월과 10월에는 C-F group이 높은 비율을 차지하였으나, 8월에는 낮은 비율을 보인 반면, 수층이 안정화되고 수온의 감소에 따른 식물플랑크톤의 조성의 변화로 Chl-*a*의 농도가 감소한 11월에는 높은 비율을 보여주어 C-F group이 Chl-*a* 변화보다는 수층의 안정화가 이루어진 시기에 분포비율이 증가하고 강우 등 수층의 교란이 심각할 때 감소하는 것으로 판단되어졌다. 수층의 안정화는 Chl-*a*의 증가 요인으로 Chl-*a*는 C-F group과 유사한 변화를 보여주며, 6월에 C-F group의 비율이 높은 것도 같은 이유로 사료되었다.

마산저수지는 이제까지 많은 연구가 이루어진 소양호 등의 인공댐호에 비해 규모가 작고, 수심이 낮으며, 경사가 급한 중산간 지대를 유역으로 하는 농업용저수지로 관개기인 5~6월에 저수위 상태였다가 강우가 시작되면 저수량보다 훨씬 많은 물이 일시에 몰려드는 특성을 가지고 있다. 따라서 기존에 보고되어진 국내외 호소의 세균군집특성과 달리 식물플랑크톤의 영향과 함께 강우 특성 및 기타 저수지내부요소에 복잡하게 영향을 받고 있는 것으로 나타났다.

#### 세균분포와 이화학적 수질인자의 상관관계

마산저수지에서 이화학적 수질인자가 세균분포에 미치는 영향을 검토하기 위해 수질항목과 미생물군집간 상관관계를 Excell 2000을 이용하여 단순선형회귀분석(single linear regression analysis) 하였다(Table 4). 모집단의 크기인  $n$ 은 22이며, 상관계수에 대한 기각값은  $p < 0.05$ 의 양측검정수준에서  $r > 0.359$ 일 때

유의성을 가지고 있었다(13). 두 변수간의 상관성은  $\geq 0.75$ 를 강상관,  $0.75 > |r| \geq 0.25$ 를 중상관,  $|r| < 0.25$ 를 약상관으로 판정하였다(8).

마산저수지에서 총세균수의 변화에 영향을 미치는 이화학적 수질인자를 상관 관계를 통해 분석한 결과 수온과는 0.618으로 유의성이 있는 양의 중상관 관계를 보였으며, EC, COD, Org-N, Org-P의 상관계수가 0.509, 0.529, 0.656, 0.758로 유의성을 가지는 중상관~강상관 관계를 가지고 있었다. 식물플랑크톤의 현존량을 반영하는 Chl-*a* ( $r=0.012$ )와 총세균수는 상관성이 없는 것으로 나타났다. Eubacteria는 총세균수보다 수질인자와 더 강한 상관관계를 보여주었는데, 수온과 0.649의 상관계수로 유의성이 있는 양의 상관관계를 보였고, EC, COD, Org-N, Org-P는 0.523, 0.561, 0.666, 0.775로 유의성을 가지는 중상관~강상관 관계를 보여준 반면, 총세균수에서와 같이 Chl-*a* ( $r=0.024$ )와는 유의성이 없는 것으로 나타났다.

총세균수, Eubacteria 분포와 수질인자와의 상관관계 연구에서 수온은 세균군집에 가장 큰 영향을 미치는 요인으로 보고한 사례와 유사하게 나타났다(2, 10, 14), 수온보다는 Org-N, Org-P 등 유기성의 영양염류가 세균군집크기와 상관성이 가장 높게 나타나고 있어 세균군집에 가장 큰 영향을 미치고 있는 요인으로 나타났다. 또한, COD를 세균의 성장과 밀접한 관계를 가지는 용존유기물질(DOC)과의 상관관계 분석결과와 비교해서 적용해보면, 이 등(10)이 DOC와 분석한 총세균수( $r=0.534$ ,  $p < 0.01$ ), Eubacteria ( $r=0.455$ ,  $p < 0.01$ )와의 상관관계와 크게 차이나지 않았던 반면, 중부수성 호수에서 수화시 식물플랑크톤에 의해 유출된 유기물의 세균이용으로 세균수도 최대가 되는 보고(6, 28) 등 세균군집이 식물플랑크톤의 거동에 밀접한 관련이 있음을 보고한 여러 내용들과 달리 본 연구에서 Chl-*a*와 유의성 있는 상관관계

**Table 4.** Correlation coefficients ( $p < 0.05$ ,  $N=22$ ) between bacterial community and environmental factors in Masan reservoir from June to November 2000.

Bacterial groups	Total Bacteria	Eubacteria	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	C-F	HGC
Water temp. (°C)	0.618	0.649	0.585	0.563	0.553	0.482	0.619
pH	0.022	0.047	0.092	0.149	0.105	0.163	0.045
EC ( $\mu$ S/cm)	0.509	0.523	0.545	0.490	0.525	0.462	0.403
DO (mg/L)	-0.329	-0.314	-0.289	-0.218	-0.266	-0.179	-0.354
COD (mg/L)	0.529	0.561	0.527	0.525	0.505	0.474	0.446
SS (mg/L)	-0.101	-0.092	-0.123	-0.130	-0.108	-0.138	0.019
Chl- <i>a</i> (mg/m <sup>3</sup> )	0.012	0.024	-0.034	-0.017	-0.033	-0.028	-0.100
TN (mg/L)	0.358	0.356	0.305	0.237	0.316	0.228	0.204
Org-N (mg/L)	0.656	0.666	0.673	0.629	0.657	0.612	0.475
NH <sub>4</sub> -N (mg/L)	0.426	0.409	0.405	0.317	0.452	0.352	0.253
NO <sub>2</sub> -N (mg/L)	-0.490	-0.505	-0.521	-0.460	-0.474	-0.407	-0.333
NO <sub>3</sub> -N (mg/L)	-0.337	-0.337	-0.404	-0.402	-0.408	-0.424	-0.282
TP (mg/L)	0.120	0.116	0.071	0.007	0.111	0.014	0.055
Org-P (mg/L)	0.758	0.775	0.757	0.670	0.770	0.212	0.401
PO <sub>4</sub> -P (mg/L)	-0.200	-0.200	-0.258	-0.276	-0.250	-0.293	-0.142

가 없었던 것은 영양상태가 높은 마산저수지에서 세균군집의 변화는 식물플랑크톤이 분비하는 DOC 등 유기물질 보다 수중에 풍부한 유기물질에 더 크게 의존하고 있음을 추정케 해준다.

세균군집구조와 수질인자간의 상관관계를 보면, 마산지에서 비교적 우세하게 나타난  $\alpha$ -group은 수온, EC, COD, Org-N,  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$  등과 유의성 있는 중상관관계를 가졌으며, Org-P와는 강상관관계를 보여주었다.  $\alpha$ -group보다는 다소 약한 중상관관계를 가진  $\beta$ -group은  $\alpha$ -group과 비교하여  $\text{NH}_4\text{-N}$ 에 상관관계가 나타나지 않았으며,  $\gamma$ -group은  $\alpha$ -group보다  $\text{NH}_4\text{-N}$ 과 Org-P와 더 높은 상관관계를 보여주었다. C-F group과 HGC group은  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -group보다 상관관계가 약하게 나타났으며, 특히 C-F group은 Org-P와 HGC group은  $\text{NH}_4\text{-N}$ ,  $\text{NO}_2\text{-N}$ ,  $\text{NO}_3\text{-N}$ 과 상관관계의 유의성이 없었다. 그러나, *Rhodococcus* sp., *Nocardia* sp., *Corynebacterium* sp., *Athrobacter* sp. 등 Gram(+) bacteria 중 높은 G+C 함량을 가진 group(5)인 HGC group은 수온과 0.619의 높은 상관관계를 보여주었다.

각세균군집과 수질인자간의 상관관계를 통해 상호 영향성을 검토한 결과 Proteobacteria group은 Org-P, Org-N과 가장 밀접한 관계를 가지는 것으로 나타났으며, 수온, EC, COD, 무기질소에 대해서도 상호 연관성이 나타남을 알 수 있었다. 반면에 C-F group은 Org-N에 HGC group은 수온에 가장 큰 영향을 받는 것으로 나타났으며, 그의 항목에서는 Proteobacteria group 보다 영향성이 크지 않은 것으로 나타났다. 또한, pH, DO, BOD, SS 등의 항목에 대해서는 서로 영향을 미치지 않았으며, Chl-*a*와도 유의성있는 상관성이 전혀 없어 서로 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

마산 저수지에서 세균분포의 변화와 이화학적 수질인자에 의한 영향은 기존에 보고되어진 국내외 호소의 연구 결과와 상이 하였는데, 김 등(2)은 소양호의 세균군집의 크기를 용존유기탄소, Chl-*a*, pH, 온도 등으로 설명가능한 정도는 43~58% 임을 지적한 바 있어 농업용 저수지에서 환경요인에 의한 세균군집의 변화에 대해 좀더 면밀한 검토가 필요할 것으로 판단된다. 따라서, 소양호, 대청호, 팔당호 등의 대형 인공담호에 대한 다각적 연구 못지 않게 전국적으로 18,000여 개소에 달하고 있는 중, 소규모의 농업용저수지에서 이화학적 환경요인, 동식물 플랑크톤의 천이 등과 관련한 각 세균군집의 생태학적 기능과 특성변화 등에 대한 이해가 중요한 것으로 판단되며, 이에 대한 체계적 연구가 계속 이루어져야 할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

본 연구는 농림부 · 농업기반공사의 농업용수 수질개선 시험연구사업의 일부과제로 수행되었음

## 참고문헌

1. 김동주, 홍선희, 안태석. 1999. 소양호에서 세균군집구조의 계절적 · 수직적 변화. 한국미생물학회지 35, 242-247.

2. 김동주, 홍선희, 최승익, 안태석. 2000. 소양호 세균군집구조와 그 구조에 영향을 주는 환경요인. 한국미생물학회지 36, 136-141.
3. 농림부 · 농업기반공사. 2000. 농업용수 수질개선 시험사업 보고서(IV). 37-42.
4. 류재근. 1992. 우리나라 수질오염현황과 수처리기술동향. 한국수자원공사. 물(가을호) 52호.
5. 박근태. 2000. 단일 및 혼합 미생물 개체군을 이용한 호기성 생물막의 폐놀폐수 처리와 특성. 이학박사학위논문. 부산대학교 대학원.
6. 방선혜, 이상옥, 황순진, 오인혜. 2002. 대청호에서 계절에 따른 세균군집 및 환경요인의 변화. 한국육수학회지 35, 71-78.
7. 윤경섭. 2000. 자연형 수질정화공법에 의한 농업용수 수질개선. p. 89-100. 농업기반공사. 환경친화적 농업생산기반정비 방안 세미나 발표집.
8. 왕창근, 구자용, 서정윤, 성낙창, 신재경, 이영형. 2000. 수질데이터의 통계적 해석. p. 71-92. 동화기술.
9. 이영옥, 이희순. 2002. 농업용저수지에서의 질화세균의 계절적인 변화. 한국육수학회지 35, 152-159.
10. 이희순, 박정원, 김미경, 이영옥. 2002. 남매지에서 Eubacteria 군집구조의 계절적 변화와 그에 영향을 미치는 환경요인. 한국미생물학회지 38, 31-37.
11. 석정현, 홍선희, 김범철, 안태석. 2001. 소양호에서 활성세균수의 계절적 · 수직적 변화. 한국미생물학회지 37, 242-247.
12. 신재기, 박경미, 황순진, 조경제. 2001. 경안천과 팔당호에서 총세균수의 분포 및 동태. 한국육수학회지 34, 119-125.
13. 정수일, 김봉선, 박상규, 유영관. 1995. 공업통계학. p. 594. 청문각.
14. 홍선희, 오덕화, 전선옥, 안태석. 2000. 팔당호에서 aggregates에 부착한 세균군집구조의 변화. 미생물학회지 36, 292-298.
15. 홍선희, 전선옥, 안태석, 안태영. 2002. 봄철 cyanobacteria가 우점한 천호지에서 세균군집구조의 변화. 한국미생물학회지 38, 287-292.
16. 환경부. 2000. 수질오염공정시험방법. 고시 제99-208호.
17. Alfrieder, A., J. Pernthaler, R. Amann, B. Sattler, F.O. Glockner, A. Wille, and R. Psenner. 1996. Community analysis of the bacterial assemblages in the winter cover and pelagic layers of a high mountain lake by *in situ* hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 2138-2144.
18. Amann, R., W. Ludwig, and K.H. Schleifer. 1994. Identification of uncultured bacteria: a challenging task for molecular taxonomists. *ASM News* 60, 360-365.
19. APHA. 1995. Standard methods for the examination of water and wastewater. 19th ed.
20. Azam, F., T. Fenchel, J.G. Field, J.S. Gray, L.A. Meyer-Reil and F. Thingstad. 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 10, 257-263.
21. Glockner, F.O., B.M. Fuchs, and R. Amann. 1999. Bacterioplankton compositions of lakes and oceans: a first comparison based on fluorescence *in situ* hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 3721-3726.
22. Hicks, R., R. Amann, and D.D. Stahl. 1992. Dual staining of natural bacterioplankton with 4', 6-diamidino-2-phenylindole and fluorescent oligonucleotide probes targeting kingdom-level 16S rRNA sequences. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 2158-2163.
23. Kampf, P., R. Erhart, C. Beimfohr, J. Bohringer, and M. Wagner.

1996. Characterization of bacterial communities from activated sludge: Culture-dependent numerical identification using group- and genus-specific RNA-targeted oligonucleotide probes. *Microb. Ecol.* 32, 101-121.
24. Manz, W., R. Amann, W. Ludwig and M. Wangner. 1992. Phylogenetic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of Proteobacteria : Problems and solutions. *Appl. Environ. Microbiol.* 15, 593-600.
25. Martins, M.T., M.I.Z. Sato, M.N. Sato, M.N. Alves, N.C. Stoppe, V.M. Prado, and P.S. Sanchez. 1995. Assessment of microbiological quality for swimming pools in South America. *Water Res.* 29, 2417-2420.
26. Pernthaler, J., F.O. Glockner, S. Unterholzner, A. Alfreider, R. Psenner, and R. Amann. 1998. Seasonal community and population dynamics of pelagic bacteria and archaea in a high mountain lake. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 4299-4306.
27. Rheinheimer, G. 1985. Aquatic microbiology. 3rd ed. John Wiley & Sons, Inc. Chichester. 158-159.
28. Simon, M. and M.M. Tilzer. 1987. Bacterial response to seasonal changes in primary production and phytoplankton and biomass in Lake Constance. *J. Plankton Res.* 9, 535-552.
29. Wetzel, R.G. 1983. Limnology. Saunders College Publishing. 487-518.

(Received March 3, 2003/Accepted June 16, 2003)

---

**ABSTRACT : Effects of Environmental Factors on the Bacterial Community in Eutrophic Masan Reservoir**  
**Gui-Sook Nam\***, **Hyeng-Sik Son<sup>1</sup>**, **Sun-Ja Cho<sup>1</sup>**, **Mi-Sun Cha<sup>1</sup>**, **Gwang-Sik Lee**, and **Sang-Joon Lee<sup>1</sup>** (Rural Research Institute, Korea Agricultural & Rural Infrastructure Corporation, Ansan, Kyonggi-Do 425-170, <sup>1</sup>Department of Microbiology, Pusan National University, Busan 609-735, Korea)

The total bacterial numbers, Eubacterial community structures and environmental factors which affect bacterial community were estimated monthly using DAPI and fluorescent *in situ* hybridization monthly, from June to November 2000 to evaluate the correlation between the bacterial community and environmental factors in eutrophic agricultural Masan reservoir in Asan. Average water temperatures varied from 12.3 to 27.5°C, pH 7.5 to 9.0, DO 7.1~12.8 mg/L, COD 6.4~13.0 mg/L, chlorophyll *a* 30.5~99.0 mg/m<sup>3</sup>, SS 7.5~25.7 mg/L, TN 1.748~3.543 mg/L, and TP 0.104~0.581 mg/L, respectively. Total bacterial numbers showed high ranges from 0.4 to 9.6×10<sup>6</sup> cells/ml, and these indicated the mesotrophic or eutrophic state. The ratio of Eubacteria to total bacteria was 67.6~88.0%, which was higher than that in other reservoir. The relationships of total bacteria and Eubacteria community were more significant with organic nitrogen (Org-N), and organic phosphorus (Org-P) than with water temperature. Proteobacteria groups showed strongly significant relationships with Org-P and Org-N and significant relationships with water temperature, conductivity, COD, and inorganic nitrogen. C-F group was the most significant with Org-N, and HGC group with water temperature. However, relationships of Chl-*a*, pH, DO and SS showed no significance with any bacterial community. These results were different from other studies, because of the specific characteristics of Masan reservoir such as old, shallow and eutrophic states. The seasonal variation of bacterial community in Masan reservoir does not seem to depend on phytoplankton dynamics but on storm event and organic materials from watershed and the sediment of reservoir.