

남극 King George Island 토양의 종속영양 세균 분포상과 효소 활성도

김상진* · 이승복

한국과학기술연구원 유전공학센터

Distribution of Heterotrophic Bacterial Flora in Soil on the King George Island (Antarctica) and Their Enzyme Activities

Kim, Sang-Jin* and Seunghok Lee

Genetic Engineering Center, Korea Institute of Science and Technology,
Daeduk Science Town, Daejeon, Korea

ABSTRACT: To study distribution of bacterial flora and their biochemical characteristics in the Antarctic soil ecosystem, these experiments were performed during the austral summer (Feb., 1989) on the King George Island, Antarctica. The numbers of heterotrophic bacterial colonies and extracellular enzyme activities were estimated from the Antarctic terrestrial soils which were sampled from 17 different locations near Sejong station (Korea) and Teniente Jubany station (Argentina) on the King George Island.

The numbers of heterotrophic bacterial colonies were extremely variable with sampling sites and incubation temperatures. Arithmetic average numbers were 2.5×10^4 , 2.7×10^7 , 6.9×10^5 CFU/cm³ soil at the incubation temperature of 37°C, 25°C and 4°C, respectively. The activities of extracellular α -glucosidase, β -glucosidase and N-acetyl- β -glucosaminidase were shown as similar mean percentage in the colonies obtained at different temperatures. Mean value of protease activities, however, was remarkably higher (92%) in the colonies grown at 4°C.

KEY WORDS □ Heterotrophic bacterial number, Extracellular enzyme activities, King George Island, Antarctic soil.

남극의 육상 생태계는 비교적 단순한 생태계로서 초식 순환계는 거의 존재하지 않는 특징을 갖고 있으며 먹이 사슬이 매우 짧아 무척추 초식단계에서 끝나는 경우가 많다. 이와 같은 환경에서 영양물질의 생물학적 순환과정 중 부식자에 의한 역할은 매우 중요하다(Smith, 1985).

토양 세균 분포와 주위환경인자에 대한 연구는 Syowa 기지 주변(Yamanaka and Kagawa, 1984) 또는 Victoria Land의 Dry Valleys(Benoit and Hall, 1970; Cameron *et al.*, 1970 a, b; Horowitz *et al.*, 1972; Ingham *et al.*, 1974) 등에서 이루어졌다. 한편 Herwig and Staley(1987)는 펭귄 서식지 토양

에서 chitin 분해 미생물을 분리하고 분해능 조사 및 효소에 관한 연구를 하여 토양생태계에서 생물고분자물질의 순환에 대한 이해를 시도했다.

그러나 현재까지 King George Island에 대한 토양 미생물의 분포 또는 다양한 효소활성력을 측정하여 극지생태계에서 영양물질 순환을 파악하려는 시도는 전무한 실정이다. 따라서 본 연구에서는 남극 King George Island의 세종기지과 Teniente Jubany기지 주변의 토양 17점을 채취하여 배양 온도에 따라 종속영양 세균의 분포와 그들의 체외 효소활성도에 대한 실험을 수행하였다.

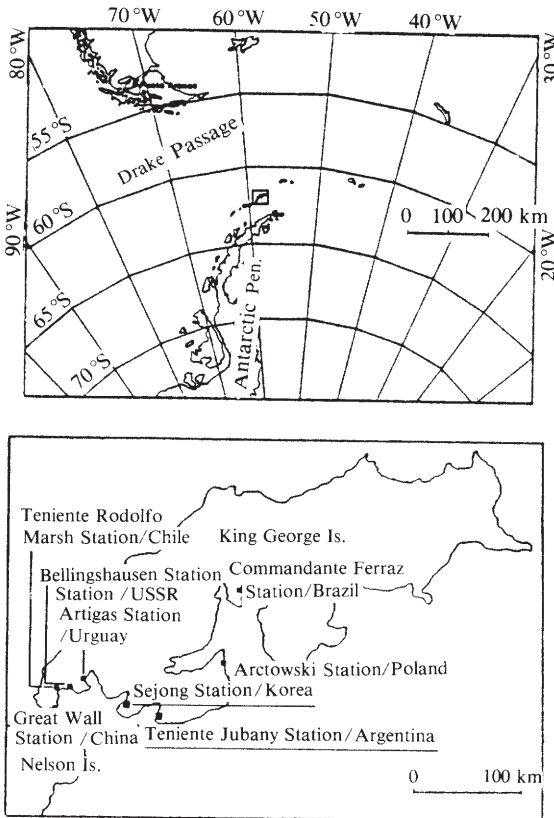


Fig. 1. Top: Map of the Antarctic Peninsula and the Drake Passage (A middle positioned rectangle indicate the King George Island).

Bottom: Map of the King George Island with Sejong Station and Teniente Jubany station.

재료 및 방법

시료 채취 지역 및 방법

King George 섬은 남극 반도에 대략 평행한 South Shetland 군도에서 가장 큰 섬으로 남위 61° 51' - 59° 00', 서경 57° 30' - 59° 00' 사이에 위치하며 폭은 30 km, 길이는 80 km 정도이다 (Fig. 1).

시료로서는 1989년 2월, 남반구의 여름동안 King George 섬의 한국세종기지과 아르헨티나 Teniente Jubany 기지 주변의 표층토양을 무균적으로 17점 채취하여 사용하였다. 채취된 토양을 멸균된 vial에 넣어 실험에 사용하기 전까지 냉동에서 보존하였다.

총속영양 세균수 측정

토양을 끝이 잘려진 주사기를 이용하여 1 cm³ 취한 후 멸균된 증류수 10 ml에 넣어 충분히 진탕시켰다. 진탕액을 적절히 희석하여 Rila marine mix를 포함하지 않은 변형된 Lib-X 고체배지 (Ta-

Table 1. Composition of the modified Lib-X medium

Yeast extract (Difco)	1.2g
Trypticase (BBL)	2.3g
Sodium citrate	0.3g
L-glutamic acid	0.3g
Sodium nitrate	0.05g
Ferrous sulfate	0.005g
Distilled water	1L
pH	7.5

Table 2. Total number of heterotrophic bacterial colonies from each sample incubated at different temperatures

Incubation temperature	37 °C	25 °C	4 °C
Sampling site			
01J	0.02	688.0	105.0
08	0.02	738.0	39.0
17	0.08	25.0	0.9
21	1.47	54.0	20.0
28	0.32	492.0	151.0
31	0.01	50.0	30.0
32	0.01	16.7	4.0
38	0.37	288.0	26.0
44J	0.05 >	1060.0	11.0
45	0.08	1762.5	95.0
46J	22.60	116.7	—
47J	2.12	542.0	10.0
48J	6.83	20850.0	100.0
50	0.03	167.0	8.0
55J	7.39	18040.0	481.0
60J	1.30	250.0	19.0
61J	0.08	41.7	0.9
Mean value	2.52	2657.8	68.8

× 10⁴ CFU / cm³ soil.

J: around the Teniente Jubany Station

ble 1)에 접종하여 각각 4°C, 25°C, 37°C의 온도로 암소에서 2주간 배양하였다. 접종시 희석액, 고체배지 및 모든 실험기구들은 미리 4°C로 냉각하여 사용하였다. 배양기간동안 배지에 나타난 colony를 계수하여 총 총속영양 세균수로 나타내었고 여기서 얻은 colony를 직접 세포의 효소 활성력 측정에 이용하였다.

세포의 효소활성 측정

Kim and Hoppe(1986) 방법에 따라 세균의 세

Table 3. Percent value of enzymatically active bacterial colonies to total tested bacterial colonies

Incubation temperature	37°C				25°C				4°C			
	α -Glucosidase	β -Glucosidase	N-Acetyl- β -Glucosaminidase	Protease	α -Glucosidase	β -Glucosidase	N-Acetyl- β -Glucosaminidase	Protease	α -Glucosidase	β -Glucosidase	N-Acetyl- β -Glucosaminidase	Protease
Sampling sites												
01J	0(%)	100(%)	100(%)	0(%)	53(%)	42(%)	6(%)	78(%)	10(%)	5(%)	10(%)	100(%)
08	50	0	50	50	84	2	0.5	0.5	9	0	13	100
17	22	56	11	11	50	0	0	50	—	—	—	—
21	0	0	4	0	64	36	14	64	0	40	17	100
28	46	61	21	55	0	11	5	4	0	9	0	36
31	8	8	77	92	47	53	13	60	0	30	14	100
32	100	100	0	100	0	0	0	0	—	—	—	—
38	48	58	8	45	43	19	1	88	17	100	63	100
44J	—	—	—	—	100	0	0	0	0	0	0	67
45	43	29	14	57	21	0	13	13	56	7	0	100
46J	27	0	7	40	13	8	0	53	—	—	—	—
47J	2	2	0	0	100	36	8	100	0	0	0	100
48J	4	0	0	0	0	6	0	44	90	80	13	100
50	100	94	83	100	75	50	13	88	25	0	0	100
55J	4	6	0	0	0	0	5	0	24	28	2	91
60J	79	10	0	87	21	71	50	64	20	25	20	100
61J	18	9	0	55	67	67	0	100	—	—	—	—
Mean value	32	31	12	42	45	26	7	43	25	30	11	92

포의 효소 α -glucosidase, β -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase, protease 활성을 정성적으로 측정하였다. 측정된 총 colony수에 대한 각 효소 활성을 나타내는 colony수를 퍼센트로 하여 결과를 표시하였다.

결과 및 고찰

종속영양 세균의 분포

King George Island의 세종기지와 Teniente Jubany 기지 주변 대략 토양의 종속영양세균수를 시료 채취 지역과 배양온도에 따라 Table 2에 나타내었다. 각 온도에 따른 종속영양 세균의 수는 대략 토양 1 cm³ 당 37°C의 경우 $10^2 \sim 10^5$ CFU, 25°C는 $10^5 \sim 10^8$ CFU, 4°C는 $10^3 \sim 10^6$ CFU 범위에 놓여 있고 각 점점에 따라 매우 변화가 심함을 알 수 있다. 이것은 시료 채취지역마다 환경조건이 매우 다양한 이유 때문인 것으로 추측된다. Yamanaka and Nagawa(1984)에 의한 Syowa 기지 주변의 12개 토양 시료를 조사한 토양세균 분포결과는 토양 1g 당 $10^2 \sim 10^7$ 범위였다. 위 결과는 15°C에서 2주간 배양한 결과로서 본 실험의 25°C에서 얻은 결과보다는 낮고 4°C보다 약간 높음을 알 수 있다. 한편 Dry Valleys에서 조사한 결과(Cameron *et al.*, 1970)와 비교해 볼 때 역시 본 실험의 결과가 높은 것으로 보아 극지 토양 생태계의 토양세균 분포를 조절하는 유기물, 가용한 수분, 온도면에서 다른 지역보다 본 조사지역이 양호한 것으로 사료된다.

조사 전 점점의 종속영양 세균수를 평균하여 볼 때 25°C의 배양온도에서 2.7×10^7 CFU/cm³ soil로 가장 높은값을 보였고, 4°C, 37°C의 경우는 각각 6.9×10^5 CFU/cm³ soil, 2.5×10^4 CFU/cm³ soil로 나타났다. 이것은 25°C의 평균값을 100%로 하였을 때 4°C, 37°C 순으로 2.6%, 0.09%이다. Ramsay(1983)에 의하면 Cape Bird 표층토 온도는 하루 24시간 cycle 중 영하에서 10°C 사이로 변하나 예외적으로 매우

높은 표층토 온도가 Signy Island의 moss 군락지역에서 관찰되기도 했다(Walton, 1982). 남극 반도에 위치한 Almirante Brown 기지의 기상자료에 의하면 월평균 대기온도는 1.8~6.8°C 범위에 놓여 있다(Vincent, 1988).

이와 같이 연중 온도가 낮은 환경의 생태계에서 서식하는 미생물의 온도별 분포 결과는 4°C에서 37°C 배양온도보다 많은 수를 관찰할 수 있는 것은 당연한 일일 것이다. 그러나 25°C 배양온도에서 4°C보다 30배 이상의 종속영양세균 분포가 나타난 결과는 Morita(1975)가 얻은 결과와 유사한 경향을 나타내고 있다.

세포의 효소활성력 측정

총 종속영양세균에 대한 α -glucosidase, β -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase, protease의 세포 외 활성력을 갖는 세균의 비율을 Table 3에 나타내었다. α -glucosidase, β -glucosidase, N-acetyl- β -glucosaminidase의 온도에 따른 평균값은 모든 배양온도에서 대체적으로 N-acetyl- β -glucosaminidase가 활성이 제일 낮은 것으로 나타나고 다음에는 α -, β -glucosidase가 비슷한 경향을 보이고 있다.

한편 protease의 평균값은 37°C, 25°C에 비해 4°C에서 92%로 월등히 높게 나타났다. 낮은 온도에서 자라는 토양세균군이 25°C, 37°C에서 자랄 수 있는 세균군보다 특히 protease 활성도가 높은 결과는 Reichardt(1988)에 의한 고분자물질분해 세균의 cold adaptation은 단백질 분해와 매우 밀접한 관련이 있다는 관찰과 일치한다. 즉 psychrophilic 세균은 protease가 cellulase, chitinase에 비해 낮은 온도에서 가장 잘 작용할 수 있게 adaptation되어 있다. 반면 chitin, cellulose를 분해하는 효소는 대부분이 효소를 생산하는 세균의 적정성장온도보다 높은 온도에서 최적 활성도를 갖기 때문에 낮은 온도에서 생물 고분자 물질을 분해하기 위해서는 이들 세균은 효소의 생합성을 증가시켜 이러한 요인을 극복한다(Reichardt, 1988).

적 요

남극 토양생태계 세균의 분포와 세균의 생화학적 특성을 알아보기 위해 King George 섬의 세종기지(한국)와 Teniente Jubany기지(아르헨티나) 주변의 토양 17점을 남극 하계기간(1989년 2월) 동안 채취하여 종속영양세균의 수와 체외효소활성도를 측정하였다.

종속영양 세균수는 시료 채취지역과 배양온도가 다른 조건에서 자란 세균의 경우에도 그 평균값이 비슷한 경향을 보이고 있으나 protease는 4°C에서 자란 세균의 경우 92%로서 특히 높게 나타났다. 배양온도에 따라 매우 변화가 컸으며 산술평균값은 배양온도 37°C, 25°C, 4°C에서 각각 2.5×10^4 , 2.7×10^7 , 6.9×10^5 CFU/cm³ soil로 나타났다.

사 사

실험에 사용한 시료를 제공해 주신 순천향 대

학교 이종화 교수께 깊은 감사드리며 이 실험이 가능하게 협조해 주신 한국해양연구소 소장, 극지연구부장, 극지연구실장, 1989년도 하계 및 동계

대원들께 사의를 표합니다.

참고문헌

1. **Benoit, R.E. and C.L. Hall**, 1970. The microbiology of some Dry valley soils of Victoria Land, Antarctica. *Antarctic Ecology*, Vol. 2, Ed. by Holdgate, M.W., London, Academic Press: 697-701.
2. **Cameron, R.E., J. King and C.N. David**, 1970a. Soil microbial ecology of Wheeler Valley, Antarctica. *Soil Sci.*, **100**, 110-120.
3. **Cameron, R.E., J. King and C.N. David**, 1970b. Microbiology, ecology and microclimatology of soil sites in Dry Valleys of Southern Victoria Land, Antarctica. *Antarctic Ecology*, Vol. 2, Ed. by Holdgate, M.W., London, Academic Press: 702-716.
4. **Herwig, R.P. and J.T. Staley**, 1987. Chitin degradation during the austral summer Antarctica. *Antarctic Journal of the U.S.*, **22**, 202-203.
5. **Horowitz, N.H., R.E. Cameron and J.S. Hubbard**, 1972. Microbiology of the Dry Valleys of Antarctica. *Science*, **176**, 242-245.
6. **Ingham, J.D., R.E. Cameron and D.D. Lawson**, 1974. Microbial abundance and thermoluminescence of Antarctic Dry Valley soils. *Soil Sci.*, **117**, 46-57.
7. **Kim, S.-J. and H.-G. Hoppe**, 1986. Microbial extracellular enzyme detection on agar plates by means of fluorogenic methylumbelliferyl-substrates. *Deuxième Colloque International de Bacteriologie marine-CNRS, Brest, IFREMER, Actes de Colloques*, **3**, 175-183.
8. **Morita, R.Y.**, 1975. Psychrophilic bacteria. *Bacteriol. Rev.*, **39**, 144-167.
9. **Ramsay, A.J.**, 1983. Bacterial biomass in ornithogenic soils of Antarctica. *Polar Biology*, **1**, 221-225.
10. **Reichardt, W.**, 1988. Impact of the antarctic benthic fauna on the enrichment of biopolymer degrading psychrophilic bacteria. *Microb. Ecol.*, **15**, 311-321.
11. **Smith, R.I.L.**, 1985. Nutrient cycling in relation to biological productivity in Antarctic and Sub-Antarctic terrestrial and freshwater ecosystems. In: Ed. by Siegfried, W.R., P.R. Condy and R.M. Laws, *Antarctic nutrient cycles and food webs (Proceedings of the 4th SCAR symposium on Antarctic biology)*. Springer-Verlag, Berlin: 138-155.
12. **Vincent, W.F.**, 1988. *Microbial ecosystems of Antarctica*. Cambridge University Press, Cambridge. 304.
13. **Walton, D.W.H.**, 1982. The Signy Island reference sites: XIII. Microclimate monitoring, 1972-1974, *British Antarctic Survey Bulletin*, **55**, 111-126.
14. **Yamanaka, M. and H. Kagawa**, 1984. Distribution and abundance of soil bacteria in the vicinity of Syowa station in Antarctica, with special reference to habitat conditions. In: Ed. by Hoshiai, T. and M. Fukuchi, *(Proceedings of the sixth symposium on polar biology) Memoirs of national institute of polar research special issue No. 32 pub. by National Institute of Polar Research*: 162-168.

(Received August 20, 1990)

(Accepted August 30, 1990)