

남해해역 퇴적토의 탄화수소 분해세균 분포

김상진* · 최성찬¹

한국해양연구소 해양미생물 연구실

¹ Rutgers Univ. Dept. of Biochemistry and Microbiology

1988. 7. 31.~8. 10 동안 남해해역의 북위 32°30'~34°30', 동경 123°30'~128°30' 내에서 정점 0101~0921로부터 퇴적토 시료를 채취하여 총 종속영양 세균, 담수 종속영양 세균, 탄화수소 분해세균의 분포를 조사하였다. 각각의 분포는 $3 \times 10^5 \sim 9.2 \times 10^6$ CFU/cm³ sediment, $3 \times 10^3 \sim 2.1 \times 10^6$ CFU/cm³ sediment, $2 \times 10^4 \sim 6.2 \times 10^6$ CFU/cm³ sediment 범위로 나타났다. 총 종속영양 세균에 대한 탄화수소 분해세균의 백분율은 0.7~73.2%로 다른 해양 퇴적토에서 보고된 값보다 높았다. 한편 상관관계 분석을 통하여 총 종속영양 세균에 대한 탄화수소 분해세균 비율과 담수 종속영양 세균 비율 사이에 $r=0.60058(n=34)$ 의 상관계수를 보였고 99.9% 수준 이상에서 유의성을 나타냈다. 이와 같은 결과는 해상에 분포하는 담수 종속영양 세균이 해양으로 유입되는 담수의 영향을 받는 것과 같이 탄화수소 분해세균의 분포 또한 육지로부터 유입되는 담수의 영향을 받는 것을 시사한다. 즉 남해해역 퇴적토의 탄화수소 분해세균 분포는 강을 통하여 육지로부터 해양으로 공급되는 석유 탄화수소에 의한 영향을 받는 것으로 사료된다.

KEY WORDS □ South Sea, sediment, hydrocarbon degrading bacteria

현대산업의 발전과 아울러 석유 탄화수소의 소비가 급증하며 이에 따른 해양환경으로의 석유 탄화수소 유입량이 전 세계적으로 연간 약 600만톤 이상으로 추정되고 있다(11). 대기로부터 유입, 해저 유정으로 부터의 자연적 유출 외에 유류수송 또는 저유, 정유 과정에서 많은 유류가 해양으로 유입되고 이중 강을 통해서 바다로 유입되는 양은 약 30%로 추정하고 있다. 해양에서의 석유 탄화수소 분포는 주로 지형학적, 수리학적인 요인에 의해 결정되므로 대부분의 석유 탄화수소는 선박항로 부근, 항만, 강하구에 많이 분포된다.

1946년 ZoBell에 의하여 미생물의 탄화수소에 대한 작용을 고찰한 이래 많은 미생물이 탄화수소를 유일한 에너지와 탄소원으로 사용할 수 있는 능력이 있음이 알려졌고 이와 같은 미생물은 자연계에 널리 분포되어 있다고 인식되었다(16). 일반적으로 탄화수소 분해세균 집단의 분포와 총 세균수에 대한 비율은 탄화수소의 오염정도를 나타내는 환경지표로 볼 수 있다(5). 즉 탄화수소에 의해 오염되지 않은 생태계의 경우에 탄화수소 분해세균 수는 총 세균수의 0.1% 미만을 나타내고 유류에 의해 오염된 지역에서는 총 종속영양 세균의 100%를 차지하는 경우도 있다(9, 15). 따라서 총 세균에 대한 탄화수소 분해세균의 비율은 탄화수소의 오염에 대한 정도를 정량적으로 표시할 수 있으므로 매우 유용한 환경인자로 사용된다.

본 연구에서는 한국 남해역 퇴적토를 대상으로 탄화수소 분해세균의 비율을 살펴봄으로써 이 해역의

탄화수소 오염정도를 파악하고자 본 실험을 수행하였다.

재료 및 방법

조사대상해역

한국 남해해역의 북위 32°30'~34°30', 동경 123°30'~28°30'지역을 중심으로 북위 34°30'부터 위도 30' 간격으로 01, 03, 05, 07, 09 정선을 잡고 동경 128°30'부터 경도 30'간격으로 01에서 21까지 정점을 설정하였다(Fig. 1). 따라서 시료채취 정점번호는 Fig. 1에 표시한 점의 가장 우측에 위치한 각 정선번호에 각 점의 바로 위에 표시한 번호를 일련번호로 부쳐 4단위의 번호를 이룬다(예: 제주도 우측해역의 정점은 05 정선번호에 07 정점번호이므로 0507). 퇴적토 시료는 van Veen grab sampler를 사용하여 채취하였다(2). 시료채취기간은 하계철인 1988. 7. 31.~8. 10. 사이였고 조사해역의 해양학적 특성은 김과 이(1)에 기술되어 있다.

세균수 측정 및 통계분석방법

채취한 해양 표층퇴적토 시료는 숙성해수로 조제한 ZoBell 2216E 고체 평판 배지(ZS)와 증류수로 조제한 ZoBell 2216E 배지(ZL)를 사용하여 25°C에서 2주 일간 배양한 후 코로니를 계수하였다(12).

해수 ZoBell 2216E 고체 평판배지(ZS)에서 2주일 간 배양한 후 형성된 코로니 수를 계수하여 총 종속영양 세균수로 하였고 증류수 ZoBell 2216E 배지

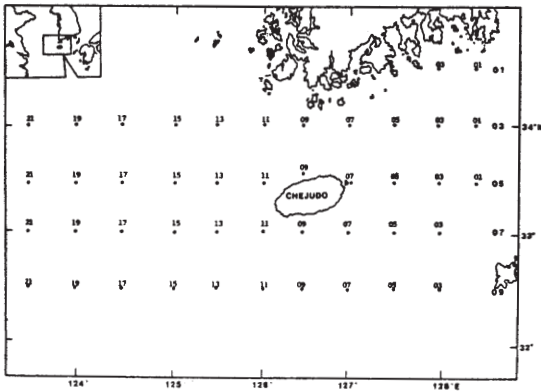


Fig. 1. Map of research area including sampling stations

(ZL)에서 자란 코로니를 담수 종속영양 세균으로 간주하였다. 한편 탄화수소 분해 세균수 측정은 위에서 사용한 시료를 무기영양염 배지(NH_4Cl 0.5 g, Na_2HPO_4 2.5 g, Agar 15 g, Aged sea water 1 l)에 접종하여 desiccator에 넣고 25°C 에서 4주간 배양한 후 코로니를 계수하였다. 이때 desiccator 안에는 탄화수소 분해세균이 탄소원으로 이용할 수 있는 crude oil(Kuwait, sulfur content; 2.54%) : n-Hexdecane = 1 : 1 비율로 섞은 탄화수소 증기를 포화시켰다(6). 위의 결과는 각각 총 종속영양 세균수에 대한 담수 종속영양 세균과 탄화수소 분해세균의 백분율로 나타내었다. 해수배지에서 자란 총 종속영양 세균에 대한 담수배지에서 자란 담수 종속영양 세균 비율과 총 종속영양 세균에 대한 탄화수소 분해세균 비율 사이의 상관계수를 Pearson correlation coefficient로 99.9%의 유의수준에서 구하였다. 한편 각 인자들은 SAS(Statistical Analysis System) package를 사용하여 정규분포에 근사하도록 변환시킨 후 통계 분석을 수행하였다.

결과 및 고찰

남해역 퇴적토에서 총 종속영양 세균수, 담수 종속영양 세균수, 탄화수소 분해세균수 및 총 종속영양 세균수에 대한 담수 종속영양 세균과 탄화수소 분해세균의 백분율은 Table 1에 나타난 바와 같다.

총 종속영양 세균의 분포는 $3 \times 10^5 \sim 9.2 \times 10^6$ CFU/cm³ sediment로 나타났고 남해안 부근과 제주도 주변 및 제주도와 일본열도 사이의 해역에서 비교적 높게 나타났으며 제주도 서쪽 해역 일원에서는 0517 정점을 제외하고는 3×10^6 CFU/cm³ sediment 이하의 낮은 분포를 나타냈다.

숙성해수 대신 증류수로 만든 ZoBell 2216E 배지에서 자란 담수 종속영양세균의 분포 결과는 제주도 주변과 제주도와 일본 열도사이의 해역에서 비교적

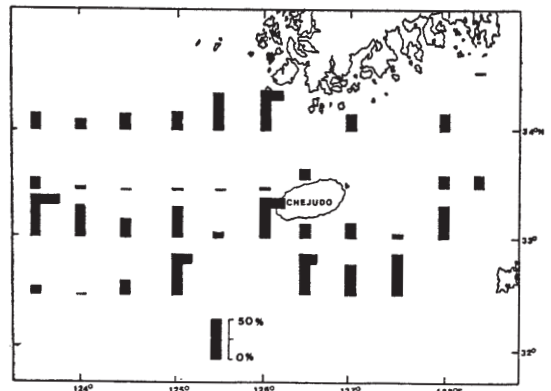


Fig. 2. A map showing the percent of hydrocarbon degrading bacteria against total heterotrophic bacteria at each sampling stations in South Sea.

높은 분포를 보였으며 정점 0507, 0711에서 각각 2.3×10^6 CFU/cm³ sediment, 2.1×10^6 CFU/cm³ sediment로 높은 값을 나타냈다. 반면 제주도 서쪽 해역의 정점은 대체적으로 낮은 분포 경향을 보였다. 총 종속영양세균에 대한 담수 종속영양 세균의 비율은 0101, 0315, 0711정점을 제외하고는 10% 미만만을 나타냈다.

조사해역 퇴적토의 탄화수소 분해세균 분포는 $2 \times 10^4 \sim 6.2 \times 10^6$ CFU/cm³ sediment 범위로 나타났고 총 종속영양 세균수에 대한 백분율은 0.7~73.2%의 분포를 나타냈다(Fig. 2).

해양의 수층에서 경우 탄화수소 분해 세균수의 총 종속영양 세균수에 대한 비율은 낙동강 하구에서는 0.01% 미만~0.16%(3) 서천 인근 해역에서는 0.01% 미만~0.031%(13)로 매우 낮은 경향을 보였고 삼천포 인근 해역(8)에서도 비슷한 결과를 관찰하였다. 또한 이(4)는 광양만, 고리, 군산항, 마산만, 인천항 등 한국 연근해역에서 0.01% 미만에서 0.18%로 낮은 비율을 보고하였다. 이상의 연구 결과들은 총 종속영양 세균은 본 연구과제와 같은 방법으로 수행하였으나 탄화수소 분해세균수 측정은 다른 방법인 MPN 방법을 사용하여 직접적인 비교는 할 수 없으나 전반적으로 본 연구의 결과 탄화수소 세균의 비율은 다른 해양 생태계에서 보고한 값보다 매우 높음을 알 수 있다.

Roubal and Atlas(14)에 의하면 Alaska Gulf의 Cook Inlet에서 해수시료보다 퇴적토 시료에서 더 높은 값의 탄화수소 분해세균수를 관찰할 수 있었다. 또한 이(4)는 부산 일대에서 채취한 beach sand 시료에서 높은 탄화수소 분해세균 분포를 보고하였다. Mulkins-Phillips and Stewart(10)는 북서 대서양의 해수와 연안 퇴적토의 탄화수소 이용세균 분포에 관한 연구를 하였는데 총 세균수에 대한 탄화수소 분해세균의 비율은 대부분 10% 미만이나 경우에 따라 유류오염이 발생한 지역에서는 100%까지 도달하는 결과

Table 1. Percents of bacterial colonies grown on the ZoBell 2216E agar medium with distilled water(ZL) and hydrocarbon medium against ZoBell 2216E agar medium with the aged sea water(ZS), respectively and their counts.

Sampling station	ZS medium ⁽¹⁾	ZL medium ⁽¹⁾	(2) —×10 (%) (1)	Hydrocarbon medium ⁽³⁾	(3) —×100 (%) (1)
0101	4.1	8.3	20	0.9	2.2
0303	5.9	5.1	0.9	11	18.6
0307	2.8	19	6.8	5.2	18.6
0311	2.6	2.3	9	17	65.4
0313	0.6	2.1	3.6	2.7	46.6
0315	0.3	4.7	14.2	0.8	23.9
0317	0.4	3.7	9.7	0.8	20.8
0319	0.3	0.9	2.9	0.4	12.5
0321	0.4	2.1	5.3	0.9	21.3
0501	5.2	24	4.6	7.8	15
0503	3.9	3.7	0.9	5.4	13.8
0509	7	5.6	0.8	9.4	13.4
0511	2.3	1.3	0.6	0.9	3.7
0513	2.8	1.1	0.4	0.4	1.6
0515	2	0.5	0.3	0.4	1.8
0517	8.3	1.7	0.6	0.6	0.7
0519	2.2	1.5	0.7	0.8	3.8
0521	0.8	1.2	1.4	1.2	14.3
0703	4.5	29	6.4	18	40
0705	1.9	1.2	0.6	1.0	5.3
0707	4.7	1.5	0.3	9.0	19.1
0709	3.4	3.0	0.9	5.8	17.1
0711	9.2	210	22.8	62	67.4
0713	1.3	0.3	0.2	0.9	7.2
0715	0.3	1.9	6.6	1.1	37.9
0717	2.9	6.8	2.3	6.7	23.1
0719	0.4	3.3	7.9	1.6	38.1
0721	0.6	3.1	5.5	4.1	73.2
0905	4.3	7.5	1.7	—	—
0907	3.9	18	4.6	15	38.5
0909	0.4	2.1	5.7	2.2	59.5
0915	0.3	1.8	5.6	2.0	62.5
0917	0.3	1.0	2.9	0.6	17.4
0919	1.6	1.6	1.0	0.2	1.2
0921	2.1	5.7	2.7	2.1	10

(1): Number of bacterial colonies grown on the ZoBell 2216E agar medium with aged sea water(ZS) ($\times 10^6$ CFU/cm³ sediment)

(2): Number of bacterial colonies grown on the ZoBell 2216E agar medium with distilled water(ZL) ($\times 10^4$ CFU/cm³ sediment)

(3): Number of bacterial colonies grown on the inorganic salts medium under hydrocarbon vapor ($\times 10^5$ CFU/cm³ sediment)

를 보고하였다(9, 15). 한편 Nova Scotia의 Chedabucto만에서 유류유출 사고가 발생한 이후 퇴적토의 탄화수소 분해세균 비율은 최고 15%까지 달했고 18개월 후 1% 수준까지 떨어지는 분포변화가 관찰되었다(15). 그러나 Hood *et al.*(7)에 의하면 oil-field salt marsh와 청정지역 퇴적토의 탄화수소 분해세균수와 탄화수소의 양 간에 상관관계를 관찰하지 못하였고 총 중속영양 세균수에 대한 탄화수소 분해세균의

비율이 탄화수소 오염정도를 나타내는 유용한 microbial indicator라고 제안했다.

본 연구의 결과와 같이 높은 탄화수소 분해세균 비율은 우선 계절적 요인을 고려할 수 있을 것이다. 오(3)에 의하면 석유탄화수소 분해세균의 계절적 변화는 모든 정점에서 수온이 높은 8월과 9월에 최대치를 나타내었는데 이와 같은 결과는 하계에 수온의 증가에 따른 총 중속영양 세균의 증가에 비해 탄화

수소 분해세균수가 상대적으로 높은 증가율을 보인 것을 의미한다.

또한 이와 같이 높은 탄화수소 분해세균의 비율은 육지로부터 이 해역에 많은 양의 탄화수소가 유입되어 다른 생리적특성을 갖는 세균집단보다 탄화수소를 에너지 또는 탄소원으로 이용하는 세균집단의 우점을 시사한다. 따라서 본 실험에서 얻은 정점별 자료 간에 상관계수를 구한 결과 총 종속영양 세균에 대한 탄화수소 분해세균 비율과 담수 종속영양 세균 비율 사이에 $r=0.60058(n=34)$ 의 상관계수를 보이고 99.9% 수준 이상에서 유의성을 나타내었다. 담수 종속영양 세균의 비율과 탄화수소 분해세균의 비율이 상관관계가 높다는 것은 탄화수소 분해세균의 분포 또한 육지의 영향을 많이 받는다는 것을 시사한다. 따라서 이와 같은 결과는 남해해역 퇴적토에 분포하는 탄화수소 분해세균은 육지로부터 유입되는 탄화수소의 영향을 주로 받는 것으로 사료된다.

사 사

본 연구에 필요한 시료채취를 도와준 한국해양연구소 남해 종합해양자원도 탐사팀 해양생물연구실 직원께 감사드립니다.

참 고 문 헌

1. 김상진, 이건형, 1992. 남해 퇴적토 종속영양세균의 분포 및 세포의 효소활성력. 한국미생물학회지. 30, 383-390.
2. 남기수 외 62인, 1989. 한국해역 종합해양자원도 작성연구 -남해(3차년도)- 한국해양연구소 보고서. BSPG 00091-251-7. p. 555.
3. 오영숙, 1988. 낙동강 하구에서 분리한 세균의 유류 분해능. 석사학위논문. 서울대학교. p. 86.
4. 이지영, 1989. 한국연안 해역에서 분리한 유류분해 세균의 특성. 석사학위논문. 서울대학교. p. 72.
5. Atlas, R.M., 1981. Microbial degradation of petroleum hydrocarbons: an environmental perspective. *Microbiological Reviews*, 45, 180-209.
6. Gunkel, W. and H.H. Trekel, 1967. Zur Methodik der quantitativen Erfassung Ölabbauender Bakterien in verölten Sedimenten und Böden, Öl-Wassergemischen, Ölen und teerartigen Substanzen. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* 16, 336-348.
7. Hood, M.A., W.S. Bishop, JR., F.W. Bishop, S.P. Meyers and T. Whelan III, 1975. Microbial indicators of oil-rich salt marsh sediments. *Appl. Microbiol.*, 30, 982-987.
8. Kim, S.J., K.J. Jhang, G.H. Lee and Y. Rhie, 1985. Abundance and distribution of petroleum-degrading bacteria in coastal waters of Korea. *Kor. J. Environ. Biol.*, 3, 21-28.
9. Mironov, O.G., 1970. Role of microorganisms growing on oil in the self-purification and indication of oil pollution in the sea. *Oceanology*, 10, 650-656.
10. Mulkins-Philips, G.J. and J.E. Stewart, 1974. Effect of environmental parameters on bacterial degradation of Bunker C oil, crude oils and hydrocarbons. *Appl. Microbiol.*, 28, 915-922.
11. National Academy of Sciences, 1975. Petroleum in the marine environment. Washington, D.C.
12. Rheinheimer, G., 1977. Regional and seasonal distribution of saprophytic and coliform bacteria: 121-137 In: Microbial ecology of a brackish water environment. Rheinheimer, G.(ed.) Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
13. Rhie, Y.S., S.J. Kim, Y.C. Hah and S.W. Hong, 1985. Potentiality of bacterial degradation of oil in coastal water. *J. Kor. Wat. Pollt. Res. Contr.*, 1, 1-8.
14. Roubal, G. and R.M. Atlas, 1978. Distribution of hydrocarbon-utilizing microorganisms and hydrocarbon biodegradation potentials in Alaska continental shelf areas. *Appl. Environ. Microbiol.* 35, 897-905.
15. Stewart, J.E. and L.J. Marks, 1978. Distribution and abundance of hydrocarbon-utilizing bacteria in sediments of Chedabucto Bay, Nova Scotia, in 1976. *J. Fish. Res. Board Can.*, 35, 581-584.
16. ZoBell, C.E., 1946. Action of microorganisms on hydrocarbons. *Bacteriol. Rev.*, 10, 1-49.

(Received August 3, 1992)

(Accepted August 17, 1992)

ABSTRACT: Regional Distribution of Hydrocarbon Degrading Bacteria in the Sediment of South Sea, Korea

Kim, Sang-Jin* and Sung-Chan Choi¹ (Korea Ocean Research and Development Institute, Marine Microbiology Lab., Ansan P.O. Box 29, Seoul 425-600, Korea, ¹Rutgers University, Dept. of Biochemistry and Microbiology, New Brunswick, NJ 08903, U.S.A.)

Sediment samples were collected from the stations 0101~0921 located between N 32°30'~34°30' and E 123°30'~128°30' during July 31~August 10, 1988. The distributions of total heterotrophic bacteria, freshwater bacteria and hydrocarbon degrading bacteria were studied. Each bacterial distribution was in the range of $3 \times 10^5 \sim 9.2 \times 10^6$ CFU/cm³ sediment, $3 \times 10^3 \sim 2.1 \times 10^6$ CFU/cm³ sediment and $2 \times 10^4 \sim 6.2 \times 10^6$ CFU/cm³ sediment, respectively. The percent of hydrocarbon degrading bacteria against total heterotrophic bacteria was 0.7~73.2 % which was much higher than other marine sediments reported. These values were statistically analyzed with the percent of freshwater bacteria against total heterotrophic bacteria. These two parameters were well correlated with the correlation coefficient $r = 0.60058$ ($n = 34$) and $P = 0.0002$. This means that the distributions of hydrocarbon degrading bacteria and freshwater bacteria in the research area were affected together by the fresh water discharge into the sea environment. Therefore it can be concluded that the distribution of hydrocarbon degrading bacteria in the sediment of South Sea was affected by petroleum hydrocarbon input from terrestrial region through rivers.