

## 낙동강 상·중·하 수역에서의 질화세균군의 변화

이영옥<sup>†</sup>

대구대학교 생명과학부

### Changes of Nitrifying Bacteria in the Different Zone (Upper·Mid·Lower Part) of the Nak-Dong River

Young-Ok Lee<sup>†</sup>

Division of Life Science, Daegu University

(Received 18 January 2008, Accepted 10 March 2008)

#### Abstract

Nitrifying bacteria were detected by fluorescent *in situ* hybridization (FISH) method at 6 sampling sites with different eutrophication degree in the Nak-Dong River and their tributaries. And conventional physico-chemical parameters including NH<sub>4</sub>-N, NO<sub>3</sub>-N, and TN were determined concurrently. In rainy period (July), there was no noticeable difference between the number of ammonia/nitrite-oxidizing bacteria detected at each site except Sang-Ju and the ratio of nitrifying bacteria to total counts stained by DAPI varied in 6~33%. By contrast, in the dry period (October), both of bacterial population was increased differently and the ratio of nitrifying bacteria to total counts ranged more widely from 6% in heavily polluted water zone, Hwa-Won to 60% in upper tributary with high agricultural land use, Byung-Sung-Chun. In January, the numbers of ammonia-oxidizing bacteria was reduced up to one tenth, while those of nitrite-oxidizing bacteria was apparently increased maybe due to high DO and low DOC.

**keywords** : Agricultural land use, Eutrophication degree, Fluorescent *in situ* hybridization (FISH), Nak-Dong river, Nitrifying bacteria

#### 1. 서론

생태계에서 분해자로서 물질순환의 고리(loop) 역할을 담당하는 세균의 군집구조를 분석한 자료는 수계의 유기물 오염정도 및 오염원의 정성적 분포양상을 파악하는데 유용한 정보를 제공하기도 한다(김동주 등, 1999). 이에 따라 종전에는 수계 오염양상을 파악하기 위해 BOD, COD, 질소 및 인 등의 영양염류 함량 이외에도 수계생태계를 대변하는 수온, pH, 부유물질(SS), DO 등의 이화학적인 환경인자들을 측정함과 동시에 해당 수계에 서식하는 단백질, 지질 등 특정 유기물질을 분해하는 세균군을 배양기법으로 검출하여 수질을 평가하였다. 그러나 배양기법에 의해 검출할 수 있는 세균군집의 크기는 실제로 해당 생태계에 존재하는 세균의 1% 미만에 불과함(Amann et al., 1995) 밝혀졌고 또한 질화세균과 같이 느린 생장을 하는 화학독립 영양세균(Belser, 1979)의 해당생태계에서의 분포양상을 배양기법으로 파악할 경우, 해당 세균의 생장을 유도하지만 그 외의 세균군의 생장은 제한하므로 그 결과는 실제 환경에서의 세균군집구조를 반영하지 못한다. 그러므로 근래에는 강과 호수 등 자연생태계 뿐 아니라 하수처리장의 슬러

지 등에서도 Fluorescent *in situ* Hybridization(FISH)과 같은 분자생물학적인 연구기법을 연구대상인 세균군집의 크기를 정량화하는데 사용하는 추세이다(이동훈과 김상중, 1997; Amann et al., 1995; Lee and Fuhrmann, 1990; Wilderer et al., 2002). FISH법은 세포 내에 다량으로 존재하면서 변이가 심하지 않은 rRNA에 gene probe 즉, 이미 알려져 있는 rRNA database를 이용하여 제작한 다양한 세균군의 single strand DNA (oligonucleotides probes, 약 17~34 nts)를 교잡시켜(hybridized) 배양을 통하지 않고 현장 그대로(*in situ*)의 세균군집의 개체수를 직접 계수하는 방법이다.

그러나 FISH법으로 검출된 각종 세균군들이 오래전부터 수질모니터링에 사용되어 온 이화학적인 환경요인과 어떠한 관련이 있는지에 관해서는 아직 명확하게 밝혀지지 않았다. 특히 수계의 질소순환을 담당하는 질화세균군이 수계의 부영양화 정도를 측정하는데 오래전부터 사용해 온 BOD, TOC, 질소, 인과 같은 영양염류 등을 포함한 이화학적인 환경인자들의 변화에 따라 어떠한 양상을 보이는지에 관한 연구는 거의 없었다. 화학독립 영양세균인 질화세균은 느린 생장으로 3주간 이상의 장기간 배양을 요할 뿐 아니라(Matulewich et al., 1975) 배양기법으로 도출된 결과가 실제 환경을 반영하지 않으므로 FISH법으로 검출이 가능

<sup>†</sup> To whom correspondence should be addressed.  
ecolomi@daegu.ac.kr

한 질화 세균군(Schramm et al., 1998; Wagner et al., 1996)의 수계에서의 동태를 파악할 필요가 있다.

따라서 본 연구에서는 환경부에서 낙동강의 수질을 개선하고자 설정한 42개의 목표수질지점 중 비교적 청정한 수역으로 판단되는 상류, 3개의 수역(안동4, 영강2, 병성천)과 오염정도가 상류에 비해 심할 것으로 판단되는 3개의 중하류수역(상주3, 화원나루, 삼랑진)에서 수계의 부영양정도를 파악하기 위해 측정하는 BOD, TOC, 총질소, 암모니아성 질소, 질산성 질소 등의 이화학적인 환경요인을 측정하고 아울러 수계의 질소원의 산화에 관여하는 질화 세균군을 FISH법으로 동시에 정량화함으로써 이들 간의 상관성여부를 알아보하고자 하였다.

## 2. 연구방법

### 2.1. 시료채취 및 이화학적인 환경요인

시료는 환경부에서 설정한 42개의 목표수질지점 중 낙동강 상류 3개 정점(안동4, 영강2, 병성천), 중류 2개 정점(상주3, 화원나루), 하류 1개 정점(삼랑진) 총 6개의 정점에서 2006년 7월부터 2007년 1월까지 채수하였다(Fig. 1). 수온, pH, DO는 현장에서 바로 측정하였고 SS(suspended solid)와 Chl-*a*는 APHA(1995)에 준해 측정하였으며 용존유기물량(Dissolved Organic Carbon, DOC)은 여과된 시료를 Total Organic Carbon Analyzer(TOC 5000A, Shimadzu, Japan)로 정량하였다. 아울러 BOD<sub>5</sub>와 무기 영양염류인 암모니아성 질소(NH<sub>4</sub>-H), 질산성 질소(NO<sub>3</sub>-N)와 인산염 인(PO<sub>4</sub>-P), 총 질소(TN), 총인(TP) 등은 수질오염 공정시험법(환경부, 2004)과 APHA(1995)에 준해 시료당 각각 3회씩 측정하여 그

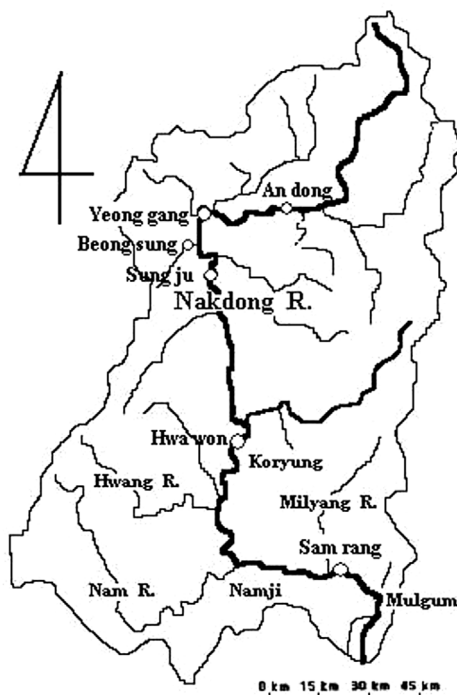


Fig. 1. Sampling sites in the Nak-Dong River and tributaries.

평균값을 결과치로 산정하였다.

### 2.2. FISH법을 이용한 질화세균군 측정

#### 2.2.1. 시료 고정

각 정점에서 채수한 시료를 바로 4% paraformaldehyde solution(시료 : 고정액 = 3:1)으로 24시간 이상 고정하였다. 고정된 시료를 polycarbonate membrane filter(pore size 0.2 μm, φ25 mm)에 5 mL씩 여과한 후, phosphate buffered saline(1×PBS) 1 mL로 고정액을 세척하였다. 여과된 filter는 50%, 80%, 99%의 ethylalcohol 0.5 mL로 차례로 각각 3분 동안 담구어 탈수한 후 filter를 공기 중에 건조시켰다.

#### 2.2.2. gene probe

암모니아를 아질산으로 산화시키는 암모니아 산화균과 아질산을 질산으로 산화시키는 아질산 산화균을 계수하기 위해 사용한 탐침 유전자 NSO190(5'-CGATCCCTGCT-TTTC TCC-3')와 NIT3(5'-CCTGTGCTCCATGCTCCG-3')의 염기 서열은 각각 Schramm 등(1998)과 Wagner 등(1996)이 사용한 것과 동일하며 형광물질, CY3 (indocarbocyanine dye)로 표지한 probe를 주문 제작(TaKaRa, Japan)하여 사용하였다.

#### 2.2.3. In situ Hybridization

Ethylalcohol이 완전히 건조되었을 때 미리 예열시켜 둔 16 μL의 hybridization solution[0.9 M NaCl, 20 mM Tris-HCl(pH 7.4), 0.01% SDS, formamide(NSO190: 55%, NIT3: 40%)]에 각각의 gene probe(100 ng/μL) 3 μL를 첨가해 잘 섞은 후, 46°C에서 90분간 hybridization chamber에서 배양하였다. 아질산산화세균 동정 시에는 mismatching을 방지하기 위해 gene probe, NIT3에 동일한 양의 CNIT3 probe를 첨가하여 교배시켰다(Wagner et al., 1996). 배양 후 세척은 배양온도보다 2°C 높은 온도인 48°C에서, 15분 동안 행했는데 이때 사용하는 washing solution (20 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA, 0.01% SDS, 0.056 mM NaCl)은 미리 예열시켜 사용하였다. 세척 후, 총세균수 측정을 위한 DAPI (4'-6-diamidino-2-phenylindole) 염색 (0.11 μg/mL)을 5분간 암실에서 실행한 후(Hicks et al., 1992) 형광현미경(Axioplan 2, Zeiss)으로 관찰·계수하였다.

#### 2.2.4. 질화세균 및 총세균수 산출

질화세균군의 크기는 신뢰성 있는 결과를 얻기 위해 시료 당, 최소한 15개 이상의 임의적인 fields안에 존재하는 질화 세균과 DAPI로 염색된 세균수(총세균수)를 계수한 후 그 평균값을 여과시킨 시료의 양을 감안하여 mL당 해당세균수로 환산하였다(Glückner et al., 1999).

### 2.3. 상관관계 분석

BOD, TOC, 수온, pH, 용존성 인, 총인, 총질소, 암모니아성 질소, 질산성 질소 등의 이화학적인 환경요인과 총세균수 및 질화세균군 간의 상관성을 알아보하고자 Minitab (version 12.1)을 사용해 분석하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 3.1. 총세균수의 연중변화

총세균수는 비가 오지 않아 비교적 갈수현상을 나타냈던 10월에 상류 지류인 병성천에서 가장 적은 수치( $7.0 \times 10^5$  cells/mL)를 보인 것을 제외하고는 계절과 무관하게 모든 정점에서 비슷한 수치( $1.0 \sim 3.1 \times 10^6$  cells/mL)로 검출되었다. 상류지천으로서 유역면적( $914 \text{ km}^2$ )의 대부분이 산지이고 농경지로 이용되는 비율(21%)이 낮고(Table 3) 비교적 청정수역으로 간주되는 영강 2 정점에서의 총세균수도  $1.1 \sim 1.7 \times 10^6$  cells/mL의 범위에서 변화하였다. 이 수치는 낙동강 주요 오염수역에 속하는 중류의 화원나루 정점( $1.8 \sim 3.1 \times 10^6$  cells/mL)과 하류인 삼랑진( $1.7 \sim 2.4 \times 10^6$  cells/mL)에서 검출된 총세균수의 55~60%를 차지하는 것으로 큰 차이가 없었다. 화원나루(사문진교) 채수지점은 일일 52만여톤의 생활하수를 처리하는 S하수처리장의 방류수가 유입되는 진천천과 낙동강 중 가장 넓은 유역면적( $2,092 \text{ km}^2$ )을 가진 금호강이 합류하는 수역이고 하류인 삼랑진 수역 역시 넓은 유역면적( $1,422 \text{ km}^2$ )을 가진 밀양강이 합류한 후의 수역이다. 특히 우기였던 7월에는 수역별 오염도와 상관없이 정점 간 차이가 거의 없었는데( $1.3 \sim 1.8 \times 10^6$  cells/mL) 이는 하상계수가 높은 낙동강수계의 특성 및 유속 등과 연관이 있는 것으로 생각된다. 반면에 채수시기 전후로 상당기간 갈수현상을 나타냈던 10월 시료에서는 정점 간에 차이가 7월 시료에 비해 커서 금호강이 유입되는 수역(화원나루,  $3.0 \times 10^6$  cells/mL)에서 가장 높았는데 이때의 총세균수는 상류 지류인 병성천( $0.7 \times 10^6$  cells/mL)보다 약 4배 많은 값이다. 즉, 우기에 비해 갈수기에는 수역의 오염도에 따른 총세균수의 차이가 큰 편이었다.

#### 3.2. 질화세균 개체군의 변화

질화작용(nitrification)은 암모니아를 아질산으로 산화시키는 암모니아 산화세균군(ammonia-oxidizing bacteria)과 아질산을 질산으로 산화시키는 아질산 산화세균군(nitrite-oxidizing bacteria)의 연속적인 반응에 의해 일어난다(Wagner et al., 1996). 암모니아 산화세균군을 동정하는데 사용된 NSO190 probe로 검출이 가능한 세균은 *Nitrosomonas* sp., *Nitrosococcus mobilis*, *Nitrospira* sp. 등이며(Schramm et al., 1998) 이 세균군은  $\beta$ -subclass proteobacteria 속하는 것으로 알려져 있다(Kowalchuk et al., 1999). 반면에 아질산 산화세균을 동정하는데 사용한 NIT3 probe에 의해 검출이 가능한 세균들은 *Nitrobacter winogradsky*와 *N. hamburgensis* 등 *Nitrobacter* sp.로써  $\alpha$ -subclass proteobacteria에 포함되는 것으로 알려졌다(Schramm et al., 1998).

암모니아 산화세균의 정점별 개체수 변화를 보면, 우기였던 7월에는 낙동강 지류와 본류간의 차이는 컸으나 BOD<sub>5</sub> 등을 기준으로 구분하는 하천 수질등급에 기인한 차이가 크지 않았다(Table 1, Fig. 3). 즉 지류인 영강( $0.8 \times 10^5$  cells/mL)과 병성천( $0.3 \times 10^5$  cells/mL)에서는 낮은 값을 나타낸 반면 본류인 상류, 안동( $1.5 \times 10^5$  cells/mL), 중류인

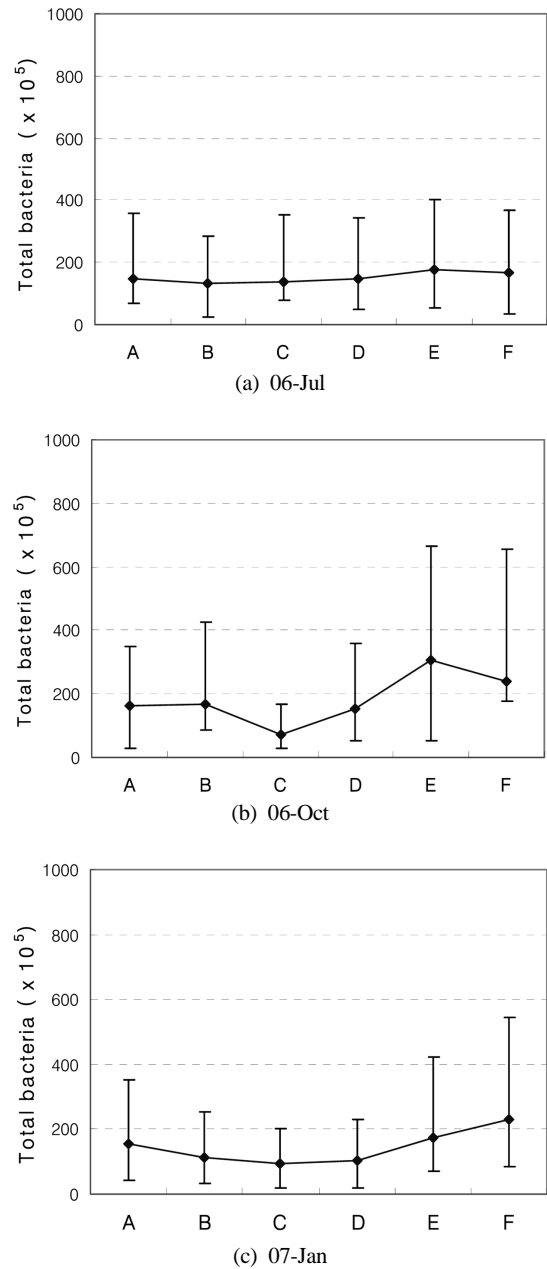


Fig. 2. The variations of total bacteria counted by DAPI-stained cells at each site (A: An-Dong, B: Young-River, C: Byung-Sung-Chun, D: Sang-Ju, E: Hwa-Won, F: Sam-Rang-Jin) of the Nak-Dong River.

화원나루( $1.5 \times 10^5$  cells/mL), 하류인 삼랑진( $1.5 \times 10^5$  cells/mL)에서는 지류보다 높았고 거의 동일한 수준으로 검출되었다. 그러나 농경지이용비율(Table 3)이 다른 수역에서 비해 높은 상주(낙단교,  $2.8 \times 10^5$  cells/mL)에서는 거의 2배에 가까운 수치를 보였는데 이때의 암모니아 산화세균이 총세균수에서 차지하는 비율은 26%였다. 이때 상주수역에서 암모니아 아성 질소가 거의 검출되지 않았다(Table 1). 아울러 아질산을 질산으로 산화시키는 아질산 산화세균군의 개체수도 상주( $1.3 \times 10^5$  cells/mL)와 하류인 삼랑진( $1.3 \times 10^5$  cells/mL)을 제외하고는 조사수역의 오염도와 무관하게 비슷한 수치( $0.4 \sim 0.7 \times 10^5$  cells/mL)를 나타냈다. 이는 강우 시 유량증

가에 의한 희석효과 등 수리적 요인이 작용했기 때문으로 사료된다. 결과적으로 우기에는 암모니아 산화세균수와 아질산 산화세균수를 합한 질화세균이 총세균수에서 차지하는 비율이 상주(33%)를 제외하고는 조사 수역 간에 차이가 없었고 그 비율(6~17%) 또한 낮았다.

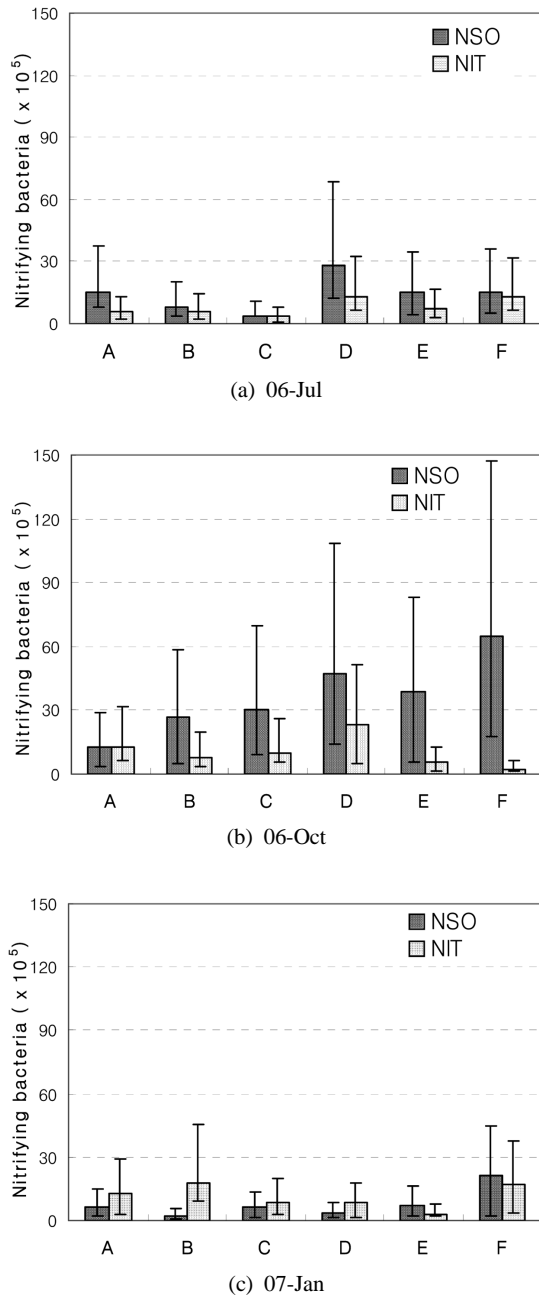
반면에 비교적 갈수현상을 보였던 10월에 검출한 질화세균의 수역별 분포양상을 보면 암모니아 산화세균수의 경우, 안동( $1.3 \times 10^5$  cells/mL), 청정수역으로 간주되는 영강( $2.7 \times 10^5$  cells/mL), 농경지 수역인 병성천( $3.0 \times 10^5$  cells/mL)과 상주( $4.7 \times 10^5$  cells/mL), 금호강 합류 직후의 수역인 화원나루( $3.9 \times 10^5$  cells/mL)를 지나 하류인 삼랑진( $6.8 \times 10^5$  cells/mL)에서 가장 많이 검출되었다. 즉 하류로 갈수록 증가하는 양상이었으나 이때 해당 수역에서 측정된 암모니아성 질소 농도는 병성천(0.08 mg/L)이 가장 높았고 그 외의 수역은 거의 비슷한 수준(0.02~0.04 mg/L)이었다(Table 1). 이와는 달리 아질산 산화 세균수는 하류인 삼랑진( $0.2 \times 10^5$  cells/mL)보다 농경지가 많은 상류 수역인 안동( $1.2 \times 10^5$  cells/mL), 영강( $0.8 \times 10^5$  cells/mL), 병성천( $1.0 \times 10^5$  cells/mL)과 중류인 상주( $2.3 \times 10^5$  cells/mL)에서 더 많이 검출되었으나 이때의 세균수 역시 해당 수역의 질산성 질소 농도와 비례하지는 않았다. 아질산 산화세균에 의해 생성되는 질산성 질소 농도가 하수처리장의 방류수가 유입되는 화원나루

(3.53 mg/L) 다음으로 상류이면서 농경지 이용비율이 높은 병성천(2.47 mg/L)에서 높았고 그 외의 수역에서는 비슷하였다(Table 1). 암모니아 산화세균수와 아질산 산화세균수를 합한 질화세균수가 총세균수에서 차지하는 비율은 집수 지역의 농경지 비율이 높은 병성천(60%)과 상주(50%)에서 높았고 영강(20%), 삼랑진(20%) 화원나루(17%), 안동(16%) 지점에서는 낮은 편이었다(Table 3).

수온이 낮은 1월에는 암모니아산화세균수가 하류인 삼랑진( $2.1 \times 10^5$  cells/mL)을 제외하곤 10월 측정치의 약 1/10로 감소하였고 조사수역 간에 별 차이 없는 수치( $0.2 \sim 0.7 \times 10^5$  cells/mL)를 나타냈으나 아질산산화세균의 경우에는 10월에 비해 증가하는 양상을 나타냈다(Fig. 3). 하수처리장의 방류수가 유입되는 진천천과 유역면적이 넓은 금호강이 합류하므로 조사수역 중 유기물 오염부하가 가장 높은 화원나루( $0.3 \times 10^5$  cells/mL)을 제외한 모든 조사 지점에서 아질산 산화세균수( $0.8 \sim 1.9 \times 10^5$  cells/mL)가 뚜렷하게 증가하였다. 이와 같은 아질산 산화세균수의 증가는 높아진 DO, 낮은 DOC와 관련이 있을 것으로 사료된다. DO는 암모니아 산화세균보다 아질산 산화세균의 활성화에 더 큰 영향을 미친다고 보고되었는데(Schramm et al., 1996) 이는 이들 세균군간의 산화-환원 지수(Oxidation-Reduction Potential, ORP)의 차이(암모니아 산화세균: + 0.34 V; 아질

**Table 1.** Physicochemical environmental parameters at each site

Site	July 2006												
	WT (°C)	pH	EC (uS/cm)	DO (mg/L)	BOD <sub>5</sub> (mg/L)	NH <sub>4</sub> -N (mg/L)	NO <sub>3</sub> -N (mg/L)	TN (mg/L)	PO <sub>4</sub> -P (mg/L)	TP (mg/L)	SS (mg/L)	DOC (mg/L)	Chl- <i>a</i> (mg/m <sup>3</sup> )
An-Dong	22.3	7.5	188.40	8.4	1.71	0.00	2.80	4.21	0.01	0.08	9.20	7.98	4.70
Young-River	26.4	7.49	151.10	7.1	0.71	0.10	2.82	3.05	0.00	0.00	9.00	4.88	4.00
Byung-Sung-Chun	28.2	8.3	149.80	5.9	3.52	0.00	2.82	2.97	0.02	0.13	5.60	4.03	2.40
Sang-Ju	25.7	8	180.30	5.7	1.61	0.00	1.17	1.34	0.00	0.00	15.60	6.88	23.56
Hwa-won	24.3	7.37	288.00	10.6	2.52	0.37	1.77	2.56	0.02	0.07	24.40	8.87	3.74
Sam-Rang-Jin	23.9	7.52	208.00	9.6	0.86	0.09	1.12	1.48	0.00	0.00	16.80	7.05	2.14
Site	October 2006												
	WT (°C)	pH	EC (uS/cm)	DO (mg/L)	BOD <sub>5</sub> (mg/L)	NH <sub>4</sub> -N (mg/L)	NO <sub>3</sub> -N (mg/L)	TN (mg/L)	PO <sub>4</sub> -P (mg/L)	TP (mg/L)	SS (mg/L)	DOC (mg/L)	Chl- <i>a</i> (mg/m <sup>3</sup> )
An-Dong	17.7	7.4	326	9.7	2.11	0.03	1.50	2.42	0.01	0.03	7.00	4.16	5.80
Young-River	19.2	8.6	677	7.4	2.42	0.02	1.08	1.55	0.00	0.00	3.60	5.84	2.70
Byung-Sung-Chun	19.5	8.1	616	7.5	2.72	0.08	2.47	3.56	0.08	0.15	1.80	3.46	3.20
Sang-Ju	17.2	8.2	353	7.1	3.72	0.02	1.39	1.40	0.08	0.22	6.40	3.31	8.88
Hwa-won	17.5	7.9	1175	9.0	2.01	0.02	3.53	3.99	0.14	0.16	8.80	8.91	10.25
Sam-Rang-Jin	20.5	8.1	618	8.3	2.42	0.04	2.01	2.75	0.02	0.10	14.60	5.65	78.20
Site	January 2007												
	WT (°C)	pH	EC (uS/cm)	DO (mg/L)	BOD <sub>5</sub> (mg/L)	NH <sub>4</sub> -N (mg/L)	NO <sub>3</sub> -N (mg/L)	TN (mg/L)	PO <sub>4</sub> -P (mg/L)	TP (mg/L)	SS (mg/L)	DOC (mg/L)	Chl- <i>a</i> (mg/m <sup>3</sup> )
An-Dong	6.9	6.92	184	13.2	2.32	0.09	0.61	1.5	0	0.05	1.4	1.93	5.3
Young-River	5.5	7.72	343	14.8	3.22	0.39	1.12	2.78	0	0.07	1	1.62	7.8
Byung-Sung-Chun	7.9	7.57	337	12.3	2.82	0.09	2.25	3.12	0.24	0.45	10.4	2.04	8.2
Sang-Ju	4.8	7.69	220	12.0	2.21	0.10	1.17	1.87	0	0.08	2.2	1.74	8.8
Hwa-won	4	7.76	374	10.7	2.52	0.11	3.52	4.59	0.12	0.39	3.6	2.81	5.8
Sam-Rang-Jin	7.2	8.99	443	11.7	3.24	0.40	2.12	4.75	0.07	0.17	16.6	2.36	6.9



**Fig. 3.** Variations of ammonia-oxidizing bacteria (NSO) and nitrite-oxidizing bacteria (NIT) at each site (A: An-Dong, B: Young-River, C: Byung-Sung-Chun, D: Sang-Ju, E: Hwa-Won, F: Sam-Rang-Jin) of the Nak-Dong River.

산 산화세균: + 0.43 V)때문일 것으로 생각된다(Madigan and Martinko, 2006). 또한 낮은 DOC농도에서 아질산 산화세균이 증가한 이유는 용존유기물(DOC)이 감소됨에 따라 종속영양세균수가 줄어들었을 것이고 그에 따라 종속영양세균보다 산소에 대한 경쟁력이 없는 화학독립영양세균(Belser, 1979)인 아질산 산화세균의 서식조건이 유리해졌기 때문일 것으로 생각된다. 즉 수계의 자정작용에 따른 세균의 천이(succession) 결과로 생각된다. 농업용수용 저수지에서 수도이 낮고 DOC 농도가 감소했던 동절기에 암

모니아 산화세균은 감소하였고 아질산 산화세균수가 증가하는 양상을 나타냈다(이영옥과 이희순, 2002).

전반적으로 7월과 10월에는 암모니아 산화세균에 비해 성장수율(growth yield)이 낮은(Madigan and Martinko, 2006) 아질산 산화세균수가 적었으나 DO가 높고 용존 유기물(DOC)양이 낮았던 1월에는 암모니아 산화세균수는 감소하였고 아질산 산화세균수가 증가하는 양상을 나타냈다.

### 3.3. 총세균수, 질화세균과 이화학적인 환경 요인들 간의 상관성

3회에 걸쳐 6개의 조사수역에서 검출된 총세균수(TC), 질화세균인 암모니아산화세균(NSO)과 아질산 산화세균(NIT), 그리고 동시에 측정된 이화학적인 환경요인들과의 상관성을 선형회귀분석(linear regression analysis)으로 분석한 결과(Table 2), 총세균수(TC)는 이화학적인 환경요인들 중, 용존된 혹은 이온화된 이온의 총량을 대변하는 전기전도도(EC,  $r=0.619$ ,  $p<0.01$ ), 용존 유기물(DOC,  $r=0.482$ ,  $p<0.05$ )과 유의적인 상관성을 나타냈다(Table 2). 그러나 하천의 수질을 평가하는데 적용하는 BOD( $r= -0.060$ ,  $p=0.81$ )와는 비유의적이기는 하지만 반비례하는 양상을 나타냈다.

암모니아를 아질산으로 산화시키는 *Nitrosomonas* sp. 등 암모니아산화세균도 전기전도도(EC,  $r=0.580$ ,  $p<0.01$ )와 염록소량(chl-*a*)과는 양의 상관성을 그리고, 용존 산소( $r= -0.458$ ,  $p<0.05$ )와는 유의적인 역상관성을 나타냈다. 또한 이들에 의해 소모되는 암모니아성 질소와 반비례하였지만 그 상관성이 유의적이지 않았다( $r= -0.280$ ,  $p=0.26$ ). 반면에 *Nitrobacter* sp. 등 아질산을 질산으로 산화시키는 아질산 산화세균의 경우에는 이 세균그룹에 의해 생성되는 수중의 질산성 질소농도와 모순되게도 역상관성( $r= -0.571$ ,  $p=0.02$ )을 보였다. 그러나 용존 유기물(DOC)과는 비유의적이지만 역상관성을 나타냈는데 이는 유기물을 분해하는 종속영양세균의 활성이 감소된 후에 화학독립영양세균인 질화세균이 활성화된다는 의미이므로 타당한 결과로 생각된다.

전체적으로 FISH법으로 검출한 질화세균과 질산성 질소 등 이화학적인 환경요인과의 상관성을 분석한 결과가 다소 이론에 부합하지 않았는데 이는 분석에 적용한 자료의 수(18개)가 적어서 도출된 오류일 가능성이 크다. 또한 위에서 기술한 총세균수와 질화세균의 분포양상에서 보듯이 우기의 세균 분포양상이 건기와 확연히 다르므로 장기간에 걸쳐 각기 건/우기별로 구분해서 분석한 많은 자료수를 상관성 분석에 적용해야 보다 유의적인 결과를 얻을 수 있을 것으로 사료된다. 김진호 등(2008)은 강우 강도 및 강우량에 따라 유역으로부터 BOD, 총질소, 총인과 SS 등 오염물질이 다른 유출 양상을 보인다고 하였는데 이와 마찬가지로 수계뿐 아니라 토양에 다수 존재하는 질화세균(Madigan and Martinko, 2006)이 질소원과는 다른 비율로 수계로 유입될 가능성도 배제할 수 없으므로 이들 간의 상관성에 영향을 미칠 것으로 생각된다.

아직은 질화세균과 같은 수계의 물질순환에 관여하는 세균군의 분포, 혹은 특정물질의 분해능 및 변환능이 있는

**Table 2.** Correlation coefficients between environmental parameters and total bacteria and nitrifying bacteria in the Nak-Dong River (TC: Total Bacteria; NSO: ammonia-oxidizing bacteria; NIT: nitrite-oxidizing bacteria)

	TC		NSO		NIT	
	r	p-value	r	p-value	r	p-value
WT	0.066	0.79	0.295	0.24	-0.277	0.26
pH	0.256	0.30	0.422	0.08	0.186	0.46
EC	0.619**	0.01	0.580**	0.01	-0.146	0.56
SS	0.406	0.09	0.261	0.29	-0.042	0.86
DO	-0.067	0.79	-0.458*	0.05	0.250	0.31
BOD	-0.060	0.81	0.102	0.68	0.343	0.16
TOC(DOC)	0.482*	0.04	0.632	0.14	-0.371	0.12
NH <sub>4</sub> -N	0.018	0.94	-0.280	0.26	0.340	0.17
NO <sub>3</sub> -N	0.295	0.23	0.046	0.85	-0.571*	0.02
TN	0.272	0.27	-0.078	0.75	-0.313	0.26
PO <sub>4</sub> -P	0.122	0.63	0.101	0.69	-0.029	0.91
TP	-0.008	0.97	-0.034	0.89	-0.083	0.74
Chl- <i>a</i>	0.368	0.13	0.694**	0.00	-0.243	0.33

\*\*p<0.01, \*p<0.05, N=18

**Table 3.** Ratio of agricultural using surface to watershed at each site (Lee et al., 2007)

Site	Watershed (A, km <sup>2</sup> )	Agricultural use (B, km <sup>2</sup> )	B/A (%)
An-Dong	980.41	283.07	29
Young-River	914.43	187.99	21
Byung-Sung-Chun	433.11	188.32	43
Sang-Ju	224.13	101.13	45
Hwa-Won	547.95	164.04	30
Sam-Rang-Jin	1,422.30	322.97	23

세균을 FISH법으로 수행한 연구결과가 많지 않을 뿐 아니라 연구가 수행되었더라도 그 결과가 기존의 배양법에서 사용하던 세균의 분류체계 및 명명법과는 달라 지난 세기 동안 축적된 세균에 관한 생태학적인 지식의 활용에 많은 혼란을 초래하기도 한다. 그러나 앞으로 해당생태계의 환경요인분석을 동시에 수행한 결과들이 축적되고, 또 probe 설계 등의 검출방법들이 개선된다면 FISH법 등 분자 기법을 이용하여 다양한 세균군집들의 생태적 기능을 보다 명료하게 규명할 수 있으리라 생각된다.

#### 4. 결론

낙동강 본류와 지류 중 비교적 청정한 수역으로 판단되는 상류, 3개의 수역(안동4, 영강, 병성천)과 오염정도가 높은 3개의 중하류수역(상주3, 화원나루, 삼랑진)에서 배양기법으로는 정량화에 문제점이 많은 질화세균과 총세균수를 배양법이 아닌 직접 계수법으로 검출함과 동시에 BOD, TOC(DOC), 총질소, 암모니아성 질소, 질산성 질소 등의 이화학적인 환경요인들을 측정된 결과는 다음과 같다.

1) 우기에는 조사수역 간의 총세균수의 변화가 거의 없었으나 건기에는 차이를 나타냈는데 금호강이 유입되는 수역(화원나루)에서 검출된 총세균수( $3.0 \times 10^6$  cells/mL)는 상류 지류인 병성천( $0.7 \times 10^6$  cells/mL)에서 검출된

것보다 약 4배 많았다.

2) 질소순환에 관여하는 질화세균군의 분포양상이 우기에는 건기와 다른 조사수역별 변화양상을 나타냈다. 우기였던 7월에는 암모니아 산화세균과 아질산 산화세균수가 상주를 제외하고는 조사수역별 큰 차이 없이 거의 동일한 수준으로 검출되었고 이들이 총세균수에서 차지하는 비율이 6~33%로 변화하였다. 반면에 갈수기였던 10월에는 7월에 비해 두 세균 군 모두 거의 모든 조사 수역에서 증가하였고 조사수역별 수적인 차이가 커 이들이 총세균수에서 차지하는 비율이 더 큰 폭(16~60%)으로 변화하였으며 암모니아 산화세균의 경우, 하류로 갈수록 증가했으나 아질산 산화세균은 오히려 하류보다 중상류에서 더 많이 검출되었다. 역시 갈수기였고 높은 DO와 DOC가 낮았던 1월에는 암모니아 산화세균은 10월의 약 1/10로 감소한 반면, 아질산 산화세균은 증가했다.

#### 사 사

본 연구는 2006학년도 대구대학교 학술연구비 지원으로 수행되었습니다.

#### 참고문헌

김동주, 홍선희, 안태석(1999). 소양호에서 세균군집구조의 계절적·수직적 변화. *한국미생물학회지*, **35**, pp. 242-247.  
 김진호, 한국현, 이종식(2008). 농촌지역의 강우사상별 농업 비점원오염물질 유출특성. *한국물환경학회지*, **24**, pp. 69-77.  
 이동훈, 김상중(1997). 수계생태계에서의 세균군집 구조의 분자생물학적 분석. *한국미생물학회지*, **33**, pp. 55-67.  
 이영옥, 이희순(2002). 농업용 저수지에서의 질화세균의 계절적인 변화. *한국육수학회지*, **35**, pp. 152-159.  
 이영옥, 조주래, 김상현, 김선덕(2007). 위해성 미생물 동태 및 상수원수 관리에 관한 연구. *낙동강환경기초조사사업 보고서*, 환경부.

- 환경부(2004). 수질오염공정시험방법. 환경부 고시 제2004-188호.
- Amann, R., Ludwig, W. and Schleifer, K. H. (1995). Phylogenetic and *In Situ* Detection of Individual Microbial Cells without Cultivation. *Microbiol. Rev.*, **59**, pp. 143-169.
- APHA, AWWA, WEF (1995). *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 19th ed. American Public Health Association, Washington, DC.
- Belser, I. W. (1979). Population Ecology of Nitrifying Bacteria. *Ann. Rev. Microbiol.*, **33**, pp. 309-333.
- Glöckner, F. O., Fuchs, B. M. and Amann, R. (1999). Bacterioplankton Compositions of Lakes and Oceans: a First Comparison Based on Fluorescence *In Situ* Hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.*, **65**, pp. 3721-3726.
- Hicks, R., Amann, R. and Stahl, D. A. (1992). Dual Staining of Natural Bacterioplankton with 4, 6-diamidino-2-phenylindole and Fluorescent Oligo-nucleotide Probes Targeting Kingdom Level 16S rRNA Sequences. *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, pp. 2158-2136.
- Kowalchuk, G. A., Naoumenko, Z. S., Derikx, P. J. L., Felske, A., Stephen, J. R. and Arkhipchenko, I. A. (1999). Molecular Analysis of Ammonia-Oxidizing Bacteria of the  $\beta$  Subdivision of The Class Proteobacteria in Compost and Composted Materials. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **65**, pp. 396-403.
- Lee, S. H. and Fuhrman, J. A. (1990). DNA Hybridization to Compare Species Compositions of Natural Bacterioplankton Assemblages. *Appl. Environ. Microbiol.*, **56**, pp. 739-746.
- Madigan, T. M. and Martinko, J. M. (2006). *Block Biology of Microorganisms*. 11th ed. Pearson Prentice Hall, Pearson Education International.
- Matulewich, V. A., Strom, P. F. and Firnstein, M. S. (1975). Length of Incubation for Enumerating Nitrifying Bacteria Present in Various Environment. *Appl. Microbiol.*, **29**, pp. 265-268.
- Schramm, A., DE Beer, D., Wagner, M. and Amann, R. (1998). Identification and Activities *In Situ* of *Nitrosospira* and *Nitrospira* spp. as Dominant Populations in a Nitrifying Fluidized Bed Reactor. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**, pp. 3480-3485.
- Schramm, A., Larsen, L. H., Revsbech, N. P., Ramsing, N. B., Amann, R. and Schleifer, K. H. (1996). Structure and Function of a Nitrifying Biofilm as Determined by *In Situ* Hybridization and The Use of Microelectrodes. *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, pp. 4641-4647.
- Wagner, M., Rath, G., Koops, H. P., Floos, J. and Amann, R. (1996). *In Situ* Analysis of Nitrifying Bacteria in Sewage Treatment Plants. *Wat. Sci. Tech.*, **34**, pp. 237-244.
- Wilderer, P. A., Bungartz, H. J., Lemmer, H., Wagner, M., Keller, J. and Wuertz, S. (2002). Modern Scientific Methods and their Potential in Wastewater Science and Technology. *Wat. Res.*, **36**, pp. 370-393.