

## 팔당호에서 Aggregates에 부착한 세균군집구조의 변화

홍선희 · 오덕화 · 전선옥 · 안태석\*

강원대학교 환경과학과

팔당호에서 fluorescent in situ hybridization(FISH) 방법을 이용하여 aggregates에 부착한 세균군집의 변화를 조사하였다. 조사대상은 Eubacteria에 속하는 세균과 Class Proteobacteria에 속하는 세균중  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -group과 *Cytophaga-Flavobacterium* group이었고, 환경요인의 변화를 파악하고자 영양염류와 엽록소 a를 측정하였다. Aggregate와 물시료의 조사항목을 비교하면, TN의 경우 5~15배, TP는 81~140배, 엽록소 a는 49~66배로 aggregate가 높게 나타났으며, 총 세균수 역시 물시료에서 전체적으로  $1.0\sim 2.0 \times 10^6$  cells·ml<sup>-1</sup>이었고, aggregates 부착세균에서  $0.2\sim 3.6 \times 10^8$  cells·ml<sup>-1</sup>의 범위로 물시료보다는 aggregates에 부착한 세균의 밀도가 200배 높았다. 또 수심별로는 5m trap 보다 20m trap에서 더 많은 수가 측정되었다. 총 세균수에 대한 세균군집구조의 비율은 부유세균의 경우  $\alpha$ -group이 4.5~8.3%,  $\beta$ -group이 2.2~8.0%,  $\gamma$ -group이 2.1~7.4%, *Cytophaga-Flavobacterium* group이 2.1~6.1%, 'Other' group은 0.1~2.5%로 매우 낮았으나 aggregates에 부착한 세균의 군집구조는  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -group과 *Cytophaga-Flavobacterium* group이 아닌 'Other' group이 약 10.2~32.1%로 우점하는 경향을 보였다. 이처럼 팔당호에서 aggregates에 부착한 세균의 군집구조는 부유세균과 비교해볼 때 독특한 군집구조를 나타내었다.

**Key words** □ aggregates, bacterial community, FISH, Lake Paldong

수중의 미생물은 부착하여 생활하는 미생물과 물에서 free-living하는 미생물로 크게 나눌 수 있다. 이중 부착세균은 유기물 detritus에 부착하거나 세균 스스로 microcolony를 이루기도 한다.

Aggregates는 유기물이 응집된 상태를 말하며 해양에서는 "marine snow"라는 현상으로 잘 알려져 있고, 이런 "marine snow"와 같은 현상이 호수에서도 발견되어 이를 "lake snow"라 한다. Aggregates는 입자상 유기물의 흐름과 순환에 중요한 뿐 아니라 해양 표층에서 깊은 곳까지의 탄소순환을 지배하는 중요한 역할을 하는 것으로 알려져 있다(8).

Aggregates는 용존되어 있거나 물 속에서 부유하는 탄소의 흡착에 의해(17), 또는 플랑크톤과 분비물질의 응집, 불분명한 기원의 부식질에 의해 형성되기도 한다(15). Aggregates의 형성에는 바람에 의한 교란도 중요한 영향을 미치는데, 해양에서는 식물플랑크톤의 bloom동안 바람의 활동 없이도 형성된다(22). 일반적으로 aggregates입자의 크기는 5  $\mu$ m 에서 1 mm 수준으로 알려져 있고 생성된 aggregates는 침강하면서 그 크기가 더 커져 무광층과 퇴적층에 있는 중속영양 세균에게 에너지를 제공하고 물의 화학적 생물학적 특징에 중요한 영향을 미친다(16).

이러한 aggregates는 세균, 곰팡이, 식물플랑크톤, 원생동물, 작은 갑각류들과 같은 중속영양, 독립영양 미생물의 다양성과 군집 밀도가 높게 나타나는 서식처로, 동물플랑크톤의 먹이로 이용되고 있어 생태학적으로 매우 중요한 역할을 하고 있다 (7).

담수, 하구, 해양환경을 포함한 다양한 수 생태계에서, 일차생산에 의해 고정된 탄소의 10~60%가 세균의 물질대사에 이용되는데 그 중 marine snow에 서식하는 세균 군집은 같은 부피의 해수에서의 군집보다 두 배 더 높은 대사율을 나타냈고(21), 높은 성장률과 복잡한 미생물 천이가 관찰되었다(13). 일반적으로 부착 세균은 부유 세균보다 더 강한 대사 활성을 가지고(24) 세포 크기도 더 큰 것으로 알려져 있다(12). 부유 세균과 부착 세균의 생리적 특징은 매우 다르다. 한 예로 영양염의 경우 부착 세균에 의한 당과 아미노산의 체외 흡수율은 종종 부유하는 세균보다 더 크고(19) 부착 세균에서 높은 농도의 specific한 체외 효소가 발견되기도 한다(18).

그러나 아직까지 호수에서 aggregates나 여기에 부착한 세균에 대한 연구는, 그 분포, 크기, 밀도가 일정하지 않아 연구방법이 확립되지 않았다. 이 연구는 팔당호에서 물에서 떠 다니는 free-living bacteria와 유기물 덩어리에 붙어있는 세균군집의 차이와 변화를 파악하기 위하여 분자생물학적 방법인 fluorescent in situ hybridization(FISH) 기술을 응용하였다. 이를 위하여 Eubacteria와 담수에서 비교적 높은 비율로 분포하는 Proteobacteria  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -group, *Cytophaga-Flavobacterium* group을 group specific probe를 사용하여 분석하였다.

### 재료 및 방법

#### 조사 대상 지역 및 조사기간

조사대상 지역은 팔당호 댐 앞이었으며, 조사는 1999년 4월 29일, 6월 18일, 9월 15일에 실시하였고, van-Don sampler를 이

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 033-250-8574 Fax: 033-251-3991  
E-mail : ahnts@cc.kangwon.ac.kr

용하여 수심 0, 5, 20 m에서 시료를 채취하여 분석하였다. 시료를 채취할 때 환경학적인 parameter인 수온, pH, DO를 수질분석기를 이용하여 현장에서 측정하였다.

조사대상 지역은 팔당호 댐 앞이었으며, 1999년 4월 20일, 6월 8일, 9월 5일에 수심 5 m와 20 m에 직경 6 cm, 길이 30 cm의 원통형 sediment trap을 설치한 후 10일 후에 회수하여 분석하였다

### 시료수집 및 고정

회수된 trap은 상등액을 제거한 후 증류수로 총 부피를 100 ml로 만들고 이중 30 ml를 세균군집구조분석을 위하여 para-formaldehyde solution(최종농도 4%)으로 현장에서 고정하였다. 남은 시료는 엽록소 a, 영양염류 분석을 위해 냉장 보관하여 실험실로 운반하였다.

### 영양염류

총 질소(Total Nitrogen, TN)는 alkalate persulfate로 분해한 후 카드름 환원법으로 autoanalyzer를 이용하여 측정하였으며, 총 인(Total Phosphorus, TP)은 Persulfate로 분해한 후 ascorbic acid법으로 측정하였다(9).

### 엽록소 a

엽록소 a는 물시료의 경우 1 l, aggregates시료는 5 ml를 GF/C 여과지(whatman,  $\phi$ 47 mm)로 여과 한 후 90% acetone으로 엽록소 a를 추출한 뒤 흡광도를 측정하여 구하였다(9).

### 총세균수

총세균수는 시료를 적정량(150~500  $\mu$ l) polycarbonate membrane filter (Nuclepore, pore size 0.2  $\mu$ m,  $\phi$ 25 mm)에 여과하여 DAPI로 염색하여 관찰하였고 형광 현미경 20 field로부터 얻은 군수의 평균값으로 계산하여 단위 부피당 마리수로 환산하였다.

### 세균 군집 구조 관찰

시료를 적정량(500  $\mu$ l~20 ml) polycarbonate membrane filter에 여과한 뒤 phosphate buffered saline(PBS) 1 ml로 여과하고, 50, 80, 99%의 ethyl alcohol을 0.5 ml씩 차례로 여과하여 filter를 공기 중에서 건조하였다. 이때 aggregates시료는 유기물에 붙어있는 세균들을 떼어내기 위해 5분 동안 sonication하였다.

조사대상은 Eubacteria에 속하는 세균과 Class Proteobacteria에 속하는 세균 중  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -group과 *Cytophaga-Flavobacterium* group을 측정하였다. 사용된 probe들은 Eubacteria와 결합하는 EUB338, Proteobacteria  $\alpha$ -group과 결합하는 ALF1b,  $\beta$ -group과 결합하는 BET42a,  $\gamma$ -group과 결합하는 GAM42a와 *Cytophaga-Flavobacterium* group과 결합하는 CF probe이었으며, rRNA probe 염기서열은 이미 보고된 방법(2,5)에 따라 주문 제작하였고 (TaKaRa, Japan) tetramethylrhodamine으로 표지 하였다.

Gelatin coated slide glass에 시료가 고정된 filter를 올려놓은 후에 16  $\mu$ l의 hybridization solution(0.9 M NaCl, 20 mM Tris-HCl(pH 7.4), 0.01% Sodium Dodecyl Sulfate(SDS),

formamide (농도 EUB 0 %: ALF 20%: BET와 GAM 35%: CF 15%))을 첨가한 후 2  $\mu$ l의 probe(농도 25 ng  $\mu$ l<sup>-1</sup>)를 첨가하였다(5). 용액들을 잘 섞은 후 hybridization chamber에 넣고 46°C에서 90분간 배양하였다. 배양 후 48°C로 미리 예열된 washing 용액(20 mM Tris-HCl(pH 7.4), 5 mM EDTA, 0.01% SDS, NaCl 용액 (농도 EUB 0.9 M: ALF 0.225 M: BET와 GAM 80 mM: CF 80 mM))에 filter를 담근 후 48°C에서 15분 동안 세척하고 꺼내어 증류수로 세척한 후 공기 중에서 건조시켰다. 특히  $\beta$ -group과  $\gamma$ -group은 서로 간섭하므로, 간섭을 배제하는 방법으로  $\beta$ -group을 측정할 때는 non-labeled GAM42a 2  $\mu$ l를 함께 사용하였고,  $\gamma$ -group을 측정할 때는 non-labeled BET42a 2  $\mu$ l를 함께 사용하였다(20).

형광 현미경(Olympus BH2, Exciting filter: B, Barrier filter: OS90, Lamp: Mercury lamp HBO 100 W/2, OSRAM)을 이용하여  $\times 1,000$  배율 하에서 field에 나타난 세균을 20번 계수하여 평균값을 사용하였다.

## 결 과

### 영양염류와 엽록소 a 농도

물시료에서의 총질소는 4월 0 m, 5 m에서 각각 2.23, 2.14  $mg \cdot l^{-1}$ 으로 비슷하게 나타났고, 20 m에서 다소 낮게 조사되어 1.56  $mg \cdot l^{-1}$ 의 결과 값을 보였다. 6월에는 0 m에서 1.89  $mg \cdot l^{-1}$ , 5 m에서 1.66  $mg \cdot l^{-1}$ , 20 m에서는 2.16  $mg \cdot l^{-1}$ 이었고, 9월에는 0 m, 5 m, 20 m에서 각각 2.12, 2.57, 1.32  $mg \cdot l^{-1}$ 로 관찰되었다.

Aggregate시료의 경우는 4월 5 m trap 시료에서 31.95  $mg \cdot l^{-1} \cdot cm^{-3}$ , 20 m trap시료는 35.18  $mg \cdot cm^{-3}$ 로 물시료와 그 평균 농도를 비교하여 보면 조사기간중 aggregates에서 10~17배 높게 나타났다. 6월의 경우 5 m trap, 20 m trap에서 각각 10.23, 33.06  $mg \cdot cm^{-3}$ 이었고 9월은 23.54  $mg \cdot cm^{-3}$ , 56.90  $mg \cdot cm^{-3}$ 로 나타났다(Table 1).

물시료에서 총인농도는 4월 0 m에서 0.037  $mg \cdot cm^{-3}$ , 5 m에서 0.030  $mg \cdot l^{-1}$ , 20 m에서 0.026  $mg \cdot l^{-1}$ 으로 관찰되었다. 6월에는 0 m에서 0.011  $mg \cdot l^{-1}$ , 5 m에서 0.012  $mg \cdot l^{-1}$ , 20 m에서는 0.015  $mg \cdot l^{-1}$ 이었고, 9월에는 0 m, 5 m, 20 m에서 각각 0.030  $mg \cdot l^{-1}$ , 0.025  $mg \cdot l^{-1}$ , 0.028  $mg \cdot l^{-1}$ 로 나타났다. Aggregates 시료에서는 5월 5 m 시료에서 3.4  $mg \cdot cm^{-3}$ , 20 m에서는 4.760  $mg \cdot cm^{-3}$ 로 조사되어 비교적 다른 조사시기보다는 수십배 차이가 많지 않았고, 6월에는 5 m에서 1.6  $mg \cdot cm^{-3}$ , 20 m에서 6.6  $mg \cdot cm^{-3}$ 로 나타났고, 9월 조사에서는 표층인 5 m에서 2.2  $mg \cdot cm^{-3}$ , 20 m에서 4.9  $mg \cdot cm^{-3}$ 의 결과값을 보였다. 물시료에서는 모든 조사에서 0 m의 경우는 0.011~0.037, 20 m에서는 0.015~0.026  $mg \cdot l^{-1}$ 로 나타나 총인의 농도 역시 aggregates 시료와 물 시료와 평균값을 비교하면 aggregates에서 127~315배 높은 것으로 조사되었다(Table 1).

물 시료 엽록소 a는 4월 0 m에서 57.7  $mg \cdot m^{-3}$ , 5 m에서 27.0  $mg \cdot m^{-3}$ , 20 m에서 16.2  $mg \cdot m^{-3}$ 로 나타났다. 6월에는 0 m에서 5.5  $mg \cdot m^{-3}$ , 5 m에서 11.1  $mg \cdot m^{-3}$ , 20 m에서는 13.1  $mg \cdot$

**Table 1.** The total nitrogen and total phosphorus concentrations of water column and aggregates in Lake Paldang

Water column	Depth (m)	TN (mg·l <sup>-1</sup> )	TP(mg·l <sup>-1</sup> )	Chl. a (mg · m <sup>-3</sup> )	Water column	Depth (m)	TN (mg·l <sup>-1</sup> )	TP (mg·l <sup>-1</sup> )	Chl. a (mg · m <sup>-3</sup> )
April, 1999	0	2.23	0.037	57.7	April, 1999	0-5	31.95	3.43	2779.5
	20	1.56	0.026	16.2		0-20	35.18	4.76	9044.8
	5	2.14	0.030	27.0		Ave.	33.57	4.10	5912.2
	Ave.	1.98	0.031	33.6		0-5	10.23	1.59	409.9
June, 1999	0	1.89	0.011	5.5	June, 1999	0-20	33.06	6.62	1668.0
	5	1.66	0.012	11.1		Ave.	21.65	4.11	1039.0
	20	2.16	0.015	13.1		0-5	11.77	2.25	748.1
	Ave.	1.90	0.013	9.9		0-20	28.45	4.87	1784.5
September, 1999	0	2.12	0.030	14.2	September, 1999	Ave.	20.11	3.41	1266.3
	5	2.57	0.025	14.4					
	20	1.32	0.028	2.2					
	Ave.	2.00	0.028	10.3					

**Table 2.** The total bacterial numbers of water column and aggregates in Lake Paldang

Water column	Depth (m)	DAPI Count (cells · ml <sup>-1</sup> )	Aggregates	Depth (m)	DAPI Count (cells · ml <sup>-1</sup> )
April, 1999	0	1.1×10 <sup>6</sup>	April, 1999	0-5	2.7×10 <sup>8</sup>
	5	2.0×10 <sup>6</sup>		0-20	3.6×10 <sup>8</sup>
	20	1.1×10 <sup>6</sup>		Ave.	3.2×10 <sup>8</sup>
	Ave.	1.4×10 <sup>6</sup>		0-5	2.4×10 <sup>7</sup>
June, 1999	0	1.9×10 <sup>6</sup>	June, 1999	0-20	1.7×10 <sup>8</sup>
	5	1.1×10 <sup>6</sup>		Ave.	2.1×10 <sup>8</sup>
	20	1.0×10 <sup>6</sup>		0-5	3.6×10 <sup>7</sup>
	Ave.	1.3×10 <sup>6</sup>		0-20	1.5×10 <sup>8</sup>
September, 1999	0	1.8×10 <sup>6</sup>	September, 1999	Ave.	2.6×10 <sup>8</sup>
	5	1.8×10 <sup>6</sup>			
	20	1.2×10 <sup>6</sup>			
	Ave.	1.6×10 <sup>6</sup>			

m<sup>-3</sup>였고 9월의 경우 0 m, 5 m, 20 m에서 각각 14.2 mg · m<sup>-3</sup>, 14.4 mg · m<sup>-3</sup>, 2.2 mg · m<sup>-3</sup>으로 관찰되었다. Aggregates 5월 시료의 5 m에서 엽록소 a 농도는 2779.5 mg · m<sup>-3</sup>, 20 m에서는 9044.8 mg · m<sup>-3</sup>로 조사되었다. 6월조사 5 m에서는 409.9 mg · m<sup>-3</sup>, 20 m에서는 1668.0 mg · m<sup>-3</sup>로 나타났고, 가을철인 9월에는 5 m에서 748.1 mg · m<sup>-3</sup> 20 m에서는 1784.5 mg · m<sup>-3</sup>의 결과값을 보였다. 엽록소 a의 값은 표층에 설치된 trap 보다 심층에 설치된 trap에서 더 높은 값을 나타내었고, 물시료와 평균값을 비교하면 aggregates에서 105~174배 더 높게 나타났다(Table. 1).

### 총세균수

물시료의 경우 팔당호 댐 앞 총 세균수는 계절적, 수심별 변화 없이 전체적으로 비슷한 분포를 보였다(Table. 2). 4월 0 m에서 1.1×10<sup>6</sup> cells · ml<sup>-1</sup>, 5 m에서는 2.0×10<sup>6</sup> cells · ml<sup>-1</sup>, 20 m에서 1.1×10<sup>6</sup> cells · ml<sup>-1</sup>로 나타났다. 6월에는 0 m, 5 m, 20 m에서 각각 1.9×10<sup>6</sup> cells · ml<sup>-1</sup>, 1.1×10<sup>6</sup> cells · ml<sup>-1</sup>, 1.0×10<sup>6</sup> cells ·

ml<sup>-1</sup>의 결과를 보였다. 가을철인 9월에는 전체적으로 1.2~1.8×10<sup>6</sup> cells · ml<sup>-1</sup>의 분포를 나타내었다. 반면 Aggregates에 부착세균의 총세균수는 모든 조사에서 물시료보다 높은 세균수를 보였고, 5 m trap 보다 20 m trap에서 더 많은 수가 측정되었다. 5 m에서는 2.4~27×10<sup>7</sup> cells · ml<sup>-1</sup>로 조사되었고, 20 m에서는 1.5~3.6×10<sup>8</sup> cells · ml<sup>-1</sup>의 분포를 보였다.

### 총세균수에 대한 Eubacteria의 비율

물시료에서 총세균수에 대한 Eubacteria의 비율은 전체적으로 27.8~52.9%로 조사되었다(Figure. 1, 2, 3). 4월 조사에서는 0, 2, 5 m에서 각각 34.0, 35.3, 45.9%였고 6월에는 0 m에서 27.8%, 5 m와 20 m에서는 각각 52.9, 49.5%로 비슷한 분포를 보였고, 9월은 0 m에서는 34.8%, 5 m에서 36.1%, 20 m에서 49.6%의 비율을 나타내었다. Aggregates에 부착한 세균의 경우 총세균수에 대한 Eubacteria의 비율은 모든 조사에서 50% 전후로 매우 낮게 조사되었다(Figure 4, 5, 6). 4월은 0 m에서

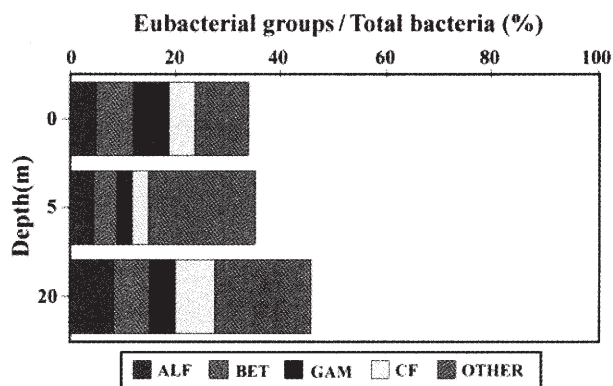


Fig. 1. Bacterial community structure of water column on 29 April, 1999 in Lake Paldang (ALF, Proteobacteria  $\alpha$ -group; BET, Proteobacteria  $\beta$ -group; GAM, Proteobacteria  $\gamma$ -group; CF, *Cytophaga-Flavobacterium* group; OTHER=Other Eubacteria).

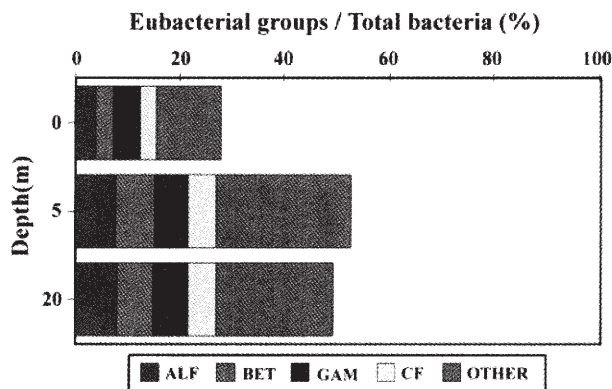


Fig. 2. Bacterial community structure of water column on 18 June, 1999 in Lake Paldang (ALF, Proteobacteria  $\alpha$ -group; BET, Proteobacteria  $\beta$ -group; GAM, Proteobacteria  $\gamma$ -group; CF, *Cytophaga-Flavobacterium* group; OTHER, Other Eubacteria).

34.0%, 5%, 35.3%, 20 m에서는 45.9%의 비율을 보였다. 6월 조사에서는 0 m에서 27.8%로 본 조사에서 가장 낮은 결과값을 보였고, 5 m에서 52.9%, 20 m에서 49.5%로 나타났다. 9월의 경우는 0 m, 5 m에서 각각 34.8%, 36.1%의 결과값을 보였고, 0 m에서는 다소 증가하여 50.0%의 비율을 보였다.

#### 세균 군집 구조 변화

팔당호 부유세균의 경우, 총세균수에 대한 각 group의 비율을 살펴보면  $\alpha$ -group,  $\beta$ -group,  $\gamma$ -group, *Cytophaga-Flavobacterium* group이 각각 7.2%, 6.6%, 5%였고, other Eubacteria는 10.2%였고, 5 m는  $\alpha$ -group,  $\beta$ -group,  $\gamma$ -group, *Cytophaga-Flavobacterium*-group이 각각 4.5%, 4.4%, 3.1%, 2.9%로 표층이 0 m보다는 다소 감소하였고, other Eubacteria가 20.4%로 증가하였다. 20 m에서는  $\alpha$ -group이 8.3%,  $\beta$ -group이 7.1%로 나타났고 other Eubacteria는 18.3%였다. 여름철인 6월의 경우는 0 m에서  $\alpha$ -group이 3.9%,  $\beta$ -group이 3.6%,  $\gamma$ -group 50%, *Cytophaga-Flavobacterium* group은 3.0%로 나타났고 5 m는  $\alpha$ -group,  $\beta$ -group,  $\gamma$ -group, *Cytophaga-Flavobacterium* group이 각각 7.7%, 7.6%, 6.2%, 5.5%의 비율로 조사되었다. 20 m에서도 5 m와 비

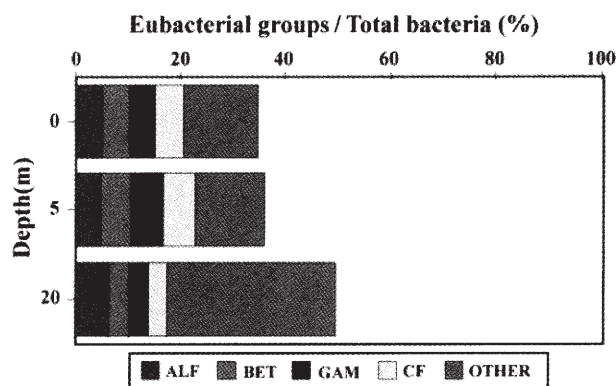


Fig. 3. Bacterial community structure of water column on 15 September in Lake Paldang (ALF, Proteobacteria  $\alpha$ -group; BET, Proteobacteria  $\beta$ -group; GAM, Proteobacteria  $\gamma$ -group; CF, *Cytophaga-Flavobacterium* group; OTHER, Other Eubacteria).

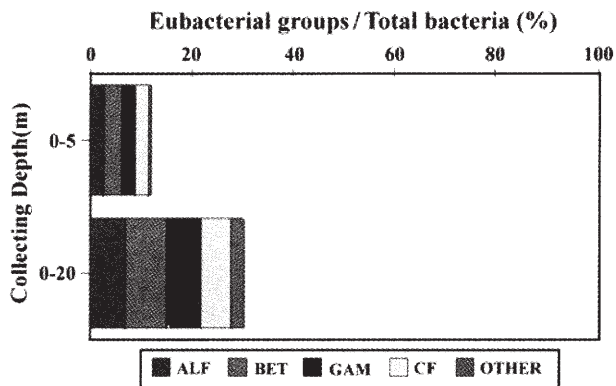


Fig. 4. Bacterial community structure of aggregates in Lake Paldang (Trapping: 20~29, April, 1999) (ALF, Proteobacteria  $\alpha$ -group; BET, Proteobacteria  $\beta$ -group; GAM, Proteobacteria  $\gamma$ -group; CF, *Cytophaga-Flavobacterium* group; OTHER, Other Eubacteria).

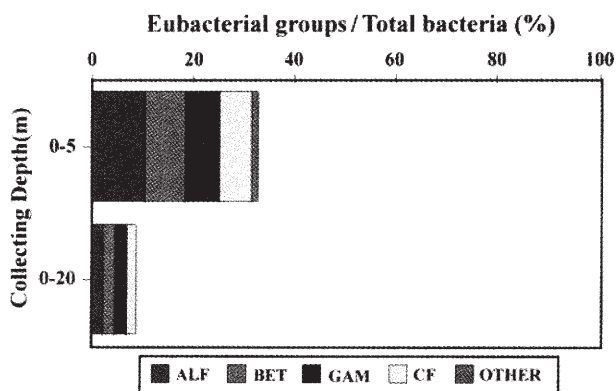


Fig. 5. Bacterial community structure of aggregates in Lake Paldang (Trapping: 8~18, June, 1999) (ALF, Proteobacteria  $\alpha$ -group; BET, Proteobacteria  $\beta$ -group; GAM, Proteobacteria  $\gamma$ -group; CF, *Cytophaga-Flavobacterium* group; OTHER, Other Eubacteria).

슷한 군집구조를 보여  $\alpha$ -group,  $\beta$ -group,  $\gamma$ -group, *Cytophaga-Flavobacterium* group이 각각 8.2%, 6.8%, 6.6%, 5.5%의 결과값을 보였다. 가을철인 9월 세균군집구조는 6월조사와는 달리 0 m



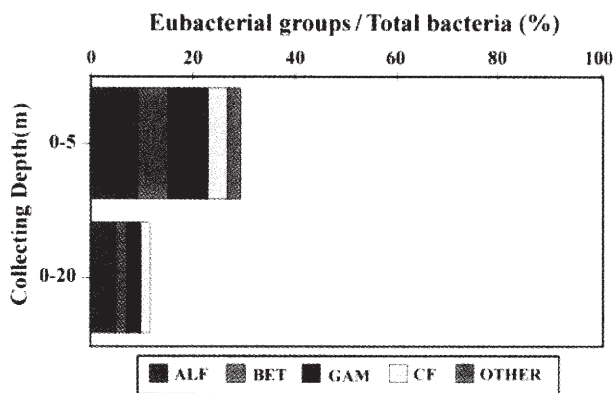


Fig. 6. Bacterial community structure of aggregates in Lake Paldang (Trapping: 5~15, September, 1999) (ALF, Proteobacteria  $\alpha$ -group; BET, Proteobacteria  $\beta$ -group; GAM, Proteobacteria  $\gamma$ -group; CF, *Cytophaga-Flavobacterium* group; OTHER, Other Eubacteria).

와 5 m가 비슷한 분포를 보였는데  $\alpha$ -group은 각각 5.1%와 4.7%,  $\beta$ -group은 5.1%, 5.9%,  $\gamma$ -group은 5.2%, 6.2%, *Cytophaga-Flavobacterium* group 5.2%, 5.9%의 비율을 보였고 20 m에서는 각각 group의 비율이 상층보다는 감소하여  $\alpha$ -group이 6.6%, *Cytophaga-Flavobacterium* group이 3.3%의 비율을 보였었다(Figure. 1, 2, 3).

4월 5 m trap에서 Aggregates에 부착한 세균 군집은  $\alpha$ -group이 2.9%,  $\beta$ -group이 3.5%,  $\gamma$ -group이 2.6%, *Cytophaga-Flavobacterium* group은 2.5%의 분포를 보였고 other Eubacteria도 0.8%로 매우 낮은 비율을 나타내었다. 20 m trap에서 각 group은 전체적으로 2.5~8.0%의 비율로 5 m trap보다는 조금 증가한 경향을 보였다. 6월 조사는 5 m trap에서  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, *Cytophaga-Flavobacterium* group이 각각 10.7, 7.64, 7.1, 6.1%였고 20 m trap에서는 2.4, 2.3, 2.1, 2.1%의 비율을 보였다. 9월 조사는, 6월 조사와 비슷한 분포를 보여, 5 m trap에서  $\alpha$ -group이 9.2%,  $\beta$ -group이 6.3%,  $\gamma$ -group이 7.4%, *Cytophaga-Flavobacterium* group이 4.1%였고, 20 m trap은 전체적으로 2.1~5.1%로 낮은 분포를 보였었다(Figure. 4, 5, 6).

## 고 찰

수체내에서 입자상 물질이 형성되는 것은 여러 가지 학설이 있다. 그 중의 하나로 해양의 경우 해초, macroalgae 등이 분비하는 용존유기물(DOC)을 이용하는 미생물이 생성한다는 보고가 있는데(23), 이처럼 미생물은 입자상 물질에 부착하여 유기물을 작게 만드는 작용을 하기도 하지만, 그 반대로 입자를 크게 만드는 작용도 한다(6). 식물플랑크톤과 수초들은 광합성을 통하여 고정된 유기물의 48%정도를 DOC로 내보내고 있으며 이 DOC는 세균과 algae에 의하여 다시 secondary production으로 고정된다(19). 이 과정에서 세균들은 체외로 유기물을 분비하고, 이들이 서로 엉키면서 입자상 유기물질(POC)을 생성한다. 또, 식물플랑크톤이 bloom을 일으킬 때에 입자상 물질이 많아지면서 aggregates가 생성이 되기도 한다(22).

이 연구에서 aggregate와 물시료의 결과를 비교하면, T-N의 경우 5~15배, T-P는 81~140배, 엽록소 a는 49~66배로 aggregate가 높게 나타났으며, 또 세균수의 경우는 aggregates에 부착한 세균이 물에서 부유하는 세균보다 200배 정도 높게 나타났다. 이처럼 그 비율의 차이가 aggregate에서 크게 조사되었는데 이는 생체량을 대표하는 물질들이 응집하면서 변화하는 것으로 사료된다.

또 조사항목들의 차이를 분석하여 보면 기체상태가 없는 T-P가 가장 높은 차이를 나타내었고, T-N은 5~15배에 불과하여 질소의 경우 탈질 등의 효과에 의하여 그 비율이 낮아진 것으로 사료된다. 반면에 부착세균수가 부유세균보다 200배 이상 밀도가 높은 것은 유기물 농도의 증가와 토양입자들의 유입 때문에 엽록소 a 농도의 증가보다 더 큰 비율을 나타내는 것으로 사료된다. 수중에서 입자는 미생물이 포식되는 것을 막아주어, 세균수의 증가에 영향을 미치며, 미생물의 활성을 높여주어 입자가 많은 곳에서 세균수가 많은은 이미 입증되었다(4).

수 생태계에서 미생물학적 분해과정에서 질소와 인의 재용출은 물질순환과 다른 생물이 이용할 수 있는 물질을 제공하여 줌으로서 매우 중요한 과정이다. 해양 세균의 경우, C:N 비가 30이 넘을 경우 질소가 용출되지 않으며 Biwa호에서는 C:N 비가 10:1 보다 작을 때, N:P 비가 10:1 보다 클 때에 질소가 용출되고, C:N 비가 15:1 보다 클 때, N:P 비가 5:1 보다 클 때에는 질소와 인이 용출되지 않는다고 하였다(25). 팔당호에서도 물에 있는 C:N:P 비율과 aggregates의 C:N:P 비율이 달라지는 것은 바로 이러한 미생물학적 작용에 의한 것으로 판단된다. 응집과정에서 질소와 인이 용출되는 경우와 정량적인 측정은 향후 연구되어야 할 부분이다.

Aggregates에 부착한 세균중 Eubacteria가 차지하는 비율을 살펴보면, 전체적으로 9.0~32.0%로 매우 낮게 조사되었고 물시료에서도 총세균수에 대한 Eubacteria의 비율이 27.8~49.6%로 소양호와 비교하여도 매우 낮게 나타났다.

또한 소양호의 aggregates에서 군집구조를 조사한 논문(2)에서도 약 60% 전후로 조사되어 본 연구에서 조사된 값이 매우 낮은 것을 알 수 있다.

또한 이 조사에서 부착세균의 군집구조는 전 시료에서 other Eubacteria의 비율이 매우 낮고  $\alpha$ -group,  $\beta$ -group,  $\gamma$ -group, *Cytophaga-Flavobacterium* group이 우점하는 것으로 조사되었다. 이러한 결과들은 기존에 조사된 부유 세균의 군집구조와(2) 비교했을때 상당한 차이를 보이는 것인데 실제로 부착 세균의 군집은 부유 세균 군집보다 다양성이 작다는 보고도 있다(10). Aggregates 부착 세균과 부유 세균 군집 구조가 차이를 나타내는 것은 aggregates에 부착한 세균 군집은 물의 이동에 따라 움직이는 부유세균과는 달리 trap내에 고농도로 농축된 기질인, 특정 환경에 적응된 세균이 안정된 상태로 존재하기 때문으로 생각된다. 실제로 독일 Constance호수에서 aggregates를 조사한 결과 Eubacteria의 값이 총세균에 대해 60~80%를 차지했고, 그 중 Proteobacteria  $\beta$ -group이 우점하였으며, 계절에 따라 aggregates의 성분조성은 다양하였음에도 불구하고 세균의 군집구조는 안정된 것으로 조사되었고(27), Wagner(26)가 biofilm에 부착한 세균의

군집구조를 조사한 결과에서도  $\beta$ -group이 계속적으로 우점하는 것으로 조사되었다.

또, free-living bacteria의 수심별, 계절별 변화를 보면 수온이 상승하는 6월에는 0 m와 5, 20 m의 군집구조가 다르며 9월에는 0, 5 m와 20 m가 달라 세균의 군집구조가 수온약층과 관계있는 것으로 나타났다. 소양호에서도 수온약층에 따라 세균군집구조가 표층, 중층, 심층에 따라 다르게 나타나고 심층에서는 계절적 변화가 적음이 관찰되었다(3)

이 조사에서 aggregates는 sediment trap으로 7일간 채취한 것으로 높은 유기물, 토양입자 등 환경요인이 변화 함으로써 Constance 호수에서와는 다르게 나타난 것으로 사료된다. 이러한 차이와 물시료와 다른지역에서 세균군집구조가 다른것도 다음과 같이 추정할 수 있다.

Aggregates에 부착한 세균의 군집구조가 계절, 수심별로 두가지 cluster로 나뉘는 것은 sedimentation trap에 가라앉은 식물플랑크톤의 종류가 다르기 때문으로 사료된다. 독일의 Constance 호수에서는 SCUBA Diving으로 하였는데, aggregates성분이 달라도  $\beta$ -group이 우점하는 군집구조는 일정하였다(27).

유기물의 종류와 농도에 따라 세균군집구조가 변화 한다는 것은 알고 있으나 아직 그 변화 양상은 정확히 파악되지 않았다. 예로, DeLong등(13)과 Fuhrman등(14)이 PCR을 이용해 분석한 보고에 의하면 해양의 aggregates에서는  $\beta$ -group이 검출되지 않았으나 호수를 대상으로 조사한 이 연구에서는  $\beta$ -group을 관찰할 수 있었다. 또한 기존에 연구된 다른 조사들을 살펴보면, 해양의 거대 유기 aggregates 부착 세균의 군집구조에서는 *Cytophaga-Flavobacterium* group이 우점한 결과가 있고(13), 해양의 저질토에서 조사한 결과에서도 *Cytophaga-Flavobacterium* group이 높은 비율을 차지하고 있었다(11). 소양호에서 유기물을 분자량에 따라 분류한후 세균 군집구조의 변화를 살펴본 결과 유기물이 많은 배양초기에 *Cytophaga-Flavobacterium* group이 우점하고 있는 것으로 나타났다(1). 그러나 이번 조사에서는 특정 group이 우점하는 행태는 나타나지 않고  $\alpha$ -group,  $\beta$ -group,  $\gamma$ -group, *Cytophaga-Flavobacterium* group이 고른 분포를 하고 있는 것으로 나타나 호수의 특징과 aggregates 채취 방법에 따라 다양한 결과를 보이는 것으로 사료된다.

이처럼 해양과 호수에 존재하는 세균의 군집구조는 매우 다르게 조사되었고 aggregates 부착세균의 경우 계절에 따라 수심에 따라 다양한 변화를 보이는 부유세균과는 달리 매우 특이한 군집구조를 보여 이에 대한 연구가 계속적으로 진행되어져야 한다.

## 감사의 글

본연구는 1998년도 한국 학술진흥재단의 기초과학 연구소 지원사업(과제번호 1998-015-D00214)의 연구비 지원에 의하여 수행되었습니다.

## 참고문헌

1. 김평규. 1999. 분자량별 용존 유기물질이 세균의 체외 효

- 소 활성도와 세균 군집구조에 미치는 영향. 강원대학교 석사학위논문.
2. 김동주, 홍선희, 안태석. 1999. 소양호에서 세균군집구조의 계절적, 수직적 변화. 한국미생물학회지 35, 242-247.
3. 홍선희, 변명섭, 안태석. 1997. 16S와 23S rRNA에 결합하는 probe를 이용한 겨울철 소양호 세균 군집 구조의 분석. 한국미생물학회지 33, 257-261.
4. Ahn, T.S. 1991. The high rates of cellulose breakdown rate in metalimnion of Lake Soyang, Korea. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* 25, 1441-1445.
5. Alfreidner, A., J. Pernthaler, R. Amman, 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.
6. Alldredge, A. L. 1976. Discarded appendicularian houses as sources of food, surface habitats, and particulate organic matter in planktonic environments. *Limnol. Oceanogr.* 21, 14-23.
7. Alldredge, A. L. and M. W. Silver. 1988. Characteristics, dynamics, and significance of marine snow. *Prog. Oceanogr.* 20, 41-82.
8. Alldredge, A. L. and P. McGillivray. 1991. The Attachment probabilities of marine snow and their implications for particle coagulation in the Ocean. *Deep-Sea Res.* 38, 431-443.
9. APHA. 1989. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th ed. APHA. N.Y.
10. Bidle, K. D. and M. Fletcher. 1995. Comparison of free-living and particle-associated bacterial communities in the Chesapeake Bay by stable low-molecular-weight RNA analysis. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 944-952.
11. Brossa, E. L., R. R. Mora, and R. Amann. 1998. Microbial community composition of Wedden sea sediments as revealed by fluorescence in situ hybridization. *Appl. Environ. Microbiol.* 64, 2691-2696.
12. Caron, D. A., P. G. Davis, L. P. Madin, and J. M. Sieburth. 1982. Heterotrophic bacteria and bacterivorous protozoa in oceanic macroaggregates. *Science* 218, 795-797.
13. DeLong, E. F., D. G. Franks, and A. L. Alldredge. 1993. Phylogenetic diversity of aggregate-attached vs. free-living marine bacterial assemblages. *Limnol. Oceanogr.* 38, 924-934.
14. Fuhrman, J. A., K. McCallum, and A. A. Davis. 1993. Phylogenetic diversity of subsurface marine microbial communities from the Atlantic and Pacific Oceans. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 1294-1302.
15. Gordon, D. C. 1970. A microscopic study of organic particles in North Atlantic Ocean. *Deep sea Res.* 17, 175-185.
16. Honeyman, B. D., L. S. Balistrieri, and J. W. Murray. 1988. Oceanic trace metal scavenging; The importance of particle concentration. *Deep-Sea Res.* 35, 227-246.
17. Johnson, B. D. 1976. Nonliving organic particle formation from bubble dissolution. *Limnol. Oceanogr.* 21, 444-446.
18. Karner, M. and G. J. Herndl. 1992. Extracellular enzymatic activity and secondary production in free-living and marine snow-associated bacteria. *Mar. Biol.* 113, 341-347.
19. Kirchman, D. and R. Mitchell. 1982. Contribution of particle-bound bacteria to total microheterotrophic activity in five ponds and two marshes. *Appl. Environ. Microbiol.* 43, 200-209.
20. Manz, W., R. Amann, W. Ludwig, and M. Wagner. 1992. Phylogenetic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of Proteobacteria: Problems and solutions. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 593-600.

21. Przelin, B. B., and A. L. Alldredge. 1983. Primary production of marine snow during and after an upwelling event. *Limnol. Oceanogr.* 28, 1156-1167.
22. Riebesell, U. 1991. Particle aggregation during a diatom bloom. I. Physical aspects. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 69, 273-280.
23. Robertson, M. S., A. L. Mills, and J. C. Zieman. 1982. Microbial synthesis of detritus-like particulates from dissolved organic carbon released by tropical seagrasses. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 7, 279-285.
24. Simon, M. 1985. Specific uptake rates of amino acids by attached and free-living bacteria in a mesotrophic lake. *Appl. Environ. Microbiol.* 49, 1254-1259.
25. Tezuka, Yasuhiko. 1990. Bacterial regeneration of ammonium and phosphate as affected by the carbon:nitrogen:phosphorus ratio of organic substrates. *Micro. Ecol.* 19, 227-238.
26. Wagner, M., R. Amann, P. Kämpfer, B. Assmus., A. Hartmann, P. Hutzler, N. Springer, and K. H. Schleifer. 1994. Identification and in situ detection of gram-negative filamentous bacteria in activated sludge. *Syst. Appl. Microbiol.* 17, 405-417.
27. Weiss, P., B. Schweitzer, R. Amann, and M. Simon. 1996. Identification in situ and dynamics of bacteria on limnetic organic aggregates (lake snow) *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 1998-2005.

(Received November 2, 2000/Accepted December 4, 2000)

---

# ABSTRACT: The Change of Attached Bacterial Community on Aggregates in Lake Paldang

Sun-Hee Hong, Duck-Hwa Oh, Sun-Ok, Joen and Tae-Seok Ahn(Department of Environmental Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea)

For scrutinizing the changes of aggregated bacteria in Lake Paldang, the FISH method was applied by using the rhodamine labeled probes, and total bacteria, chlorophyll a concentrations and nutrients concentrations were measured. The aggregates were collected with sediment traps. The T-N, T-P, chlorophyll a concentrations of aggregates were higher 5-15 times, 81-140 and 49-66 times than water samples, respectively. Also, the bacterial numbers of aggregates were 200 times higher than those of water samples. The ratios of each groups of water sample were 2.1-7.4% for  $\alpha$ -group, 4.5-8.3% for  $\beta$ -group, 2.1-7.4% for  $\gamma$ -group, 2.1-6.1% for *Cytophaga-Flavobacterium* group and 0.1-2.5% for 'other' group, respectively. While, in aggregates, the ratios of  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ - and *Cytophaga-Flavobacterium* groups were very small and most abundant group was 'other' bacteria. With these results, the aggregated bacteria in Lake Paldang had a particular group composition of bacteria.