

## 소양호에서 세균군집구조의 계절적 · 수직적 변화

김동주 · 홍선희 · 안태석\*

강원대학교 환경학과

소양호에서 fluorescent *in situ* hybridization(FISH) 방법을 이용하여 세균군집의 계절과 수심에 따른 변화를 조사 하였다. 이 방법에 사용된 oligonucleotide probe는 EUB338, ALF1b, BET42a, GAM42a와 CF probe였다. 조사 기간 중 Proteobacteria  $\alpha$ -group은 0.7~32.9%이었으며  $\beta$ -group은 1.0~25.8%,  $\gamma$ -group은 2.4~37.1%, *Cytophaga-Flavobacterium* group은 4.7~23.6%의 분포를 나타내었다. 계절별로 살펴보면 구조류가 우점하는 봄철에는  $\gamma$ -group이, 유기물의 농도가 낮고 수온이 높은 여름철에는  $\alpha$ -group이 우점하였으며, 남조류가 우점하는 가을철에 총세균수에 대한 Eubacterial group의 비율이 크게 감소하여 특정 group의 우점현상은 나타나지 않았다. 이처럼 소양호는 계절과 수심에 따라 군집구조가 변화하였으며, 특히 세균의 군집구조는 식물플랑크톤의 천이와 밀접한 관계를 보이는 것으로 나타났다.

**Key words** □ bacterial community, *in situ* hybridization, Lake Soyang

최근 분자유전학적 기술인 PCR, DNA sequencing, DNA-DNA hybridization, rRNA-specific probe를 이용한 연구방법 등이 도입되면서 자연환경에서의 세균동정이나 세균군집구조 분석등의 활발한 연구가 진행되고 있다. 이러한 분자유전학적인 방법들 가운데 fluorescent *in situ* hybridization(FISH)방법은 세균을 배양하지 않고 자연상태를 그대로 나타낼 수 있으며, 쉽고 간단하게 측정되는 장점이 있어 최근 이를 이용한, 다양한 생태계의 세균군집구조의 변화를 밝히는 연구가 활발히 진행중이다. 특히 이 방법에 사용되는 fluorescent rRNA-targeted oligonucleotide probe는 특정 유전자와 결합하는 특이성을 가지고 있어(9) 여러 생태계에서 특정 세균 군집의 시간 · 공간적 변화를 파악하는데에 효과적으로 이용되고 있다(25). 또한 Ribosomal Database Project(RDP)에서 제공하는 16S rRNA database는 계통 분류학적 관점에서 비교가 가능하도록 정리되어 있으므로 특정 군집을 연구하기 위한 probe의 설계가 가능하고, 따라서 16S rRNA와 23S small subunit rRNA gene probe는 세균군집을 분류하기가 쉬운 장점이 있다(14). 담수 환경에서는 약 80%가 그람음성균이고(19), 계통발생학적으로 볼 때 이 그람음성균의 대부분은 Proteobacteria에 속하며, Proteobacteria는 다시  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ - subclasses로 분류될 수 있다(13). 또한, *Flavobacterium* group 역시 담수환경에서 많은 분포를 하고 있다(22). 최근 연구에 의하면, 몇몇 담수에서 이 방법을 이용하여 조사한 결과 세균군집은 Proteobacteria의 subclass에 속하는  $\alpha$ -group과  $\beta$ -group 그리고 *Cytophaga-Flavobacterium* group이 우점하는 것으로 조사되었고(18), 또한 소양호에서도 계절별, 수심별로 세균군집이 다양하게 변화하는 것을 확인하였다(8).

그러나 지금까지 조사된 연구는 한번 혹은 단기간 동안 이루어

어졌으며 특히 여러 가지 환경인자들, 즉, 수온이나 pH, DOC, 용존산소량 그리고 엽록소 a 등이 계절적으로 다양한 변화를 보이는 세균군집구조에 어떠한 영향을 미치는가에 대해서는 연구되어진 바가 거의 많지 않다(18). 따라서 본 연구에서는 소양호를 대상으로 1998년 4월부터 1998년 11월까지 FISH실험을 통해 Proteobacteria group과 *Cytophaga-Flavobacterium* group의 계절별, 수심별 군집 구조 변화를 측정하였고 주위 환경인자들이 세균군집의 변화에 어떤 영향을 미치는가에 대하여 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 조사 대상 지역 및 기간

조사는 소양호의 댐 앞 수역에서 수심 0, 2, 5, 10, 30, 50 m로 나누어 실시하였고, 시료채취는 vandom sampler를 사용하였으며 조사날짜는 1998년 4월 30일, 5월 21일, 6월 20일, 7월 17일, 8월 28일, 9월 25일, 10월 23일, 11월 27일로 약 한달 간격으로 조사하였다.

#### 조사 대상

Eubacteria에 속하는 세균과 Class Proteobacteria에 속하는 세균 중  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -group과 *Cytophaga-Flavobacterium* group을 측정하였다.

#### 세균의 군집구조 파악

시료 고정 Paraformaldehyde solution(최종 농도 4%)으로 현장에서 고정한 시료 10 ml을 polycarbonate membrane filter (Nuclepore, pore size 0.2  $\mu$ m,  $\phi$ 25 mm)로 여과하였다. 시료를 여과한 후 phosphate buffered saline(PBS) 1 ml로 여과하였고 50%, 80%, 99%의 ethylalcohol 0.5 ml씩 차례로 여과하고,

\*To whom correspondence should be addressed  
Tel : 82-0361-250-8574, Fax : 82-0361-251-3991  
E-mail : ahnts@cc.kangwon.ac.kr

filter를 공기 중에서 건조하였다.

**Gene probe** 여기에서 사용한 rRNA probe의 염기 서열은 이미 보고된 방법(9, 20)에 따라 주문, 제작하였고(TaKaRa, Japan), tetramethylrhodamine으로 표지하였다. 사용한 probe들은 eubacteria와 결합하는 EUB338,  $\alpha$ -group과 결합하는 ALF1b,  $\beta$ -group과 결합하는 BET42a,  $\gamma$ -group과 결합하는 GAM42a 및 *Cytophaga-Flavobacterium* group과 결합하는 CF probe였다.

**In situ hybridization** Gelatin coated slide glass에 filter를 올려놓은 후에 16  $\mu$ l의 hybridization solution [0.9 M NaCl, 20 mM Tris-HCl(pH 7.4), 0.01% SDS, formamide(농도 EUB 0%:ALF 20%:BET와 GAM 35%:CF 15%)]를 첨가한 후 2  $\mu$ l probe(농도 25 ng  $\cdot$   $\mu$ l<sup>-1</sup>)를 첨가하였다(9). 용액들을 잘 섞은 후 hybridization chamber에 넣고 46°C에서 90분간 배양하였다. 배양 후 48°C로 미리 예열된 washing solution[20 mM Tris-HCl(pH 7.4), 5 mM EDTA, 0.01% SDS, NaCl용액(농도 EUB 0.9 M : ALF 0.225 M : BET와 GAM 80 mM : CF 80 mM)]에 filter를 담근 후 48°C에서 15분 동안 washing하고 꺼내어 증류수로 세척한 후 공기 중에서 건조시켰다. 총세균수는 DAPI(4'-6-Diamidino-2-Phenylindole)로 염색하여 관찰하였다(17). 특히  $\gamma$ ,  $\beta$ -group은 서로 간섭하므로,  $\beta$ -group을 측정할 때는 non-labeled GAM42a 2  $\mu$ l를 함께 사용하였고,  $\gamma$ -group을 측정할 때는 non-labeled BET42a 2  $\mu$ l를 함께 사용하는 간섭을 배제하는 방법(20)으로 측정하였다.

관찰 형광 현미경(Olympus BH2, Exciting filter: G, Barrier filter: O590, Lamp: Mercury lamp HBO 100W/2, OSRAM)을 이용하여 1,562.5 배율 하에서 세균을 계수하였다. 세균수는 20번 이상을 계수하여 그 평균값을 구하였다.

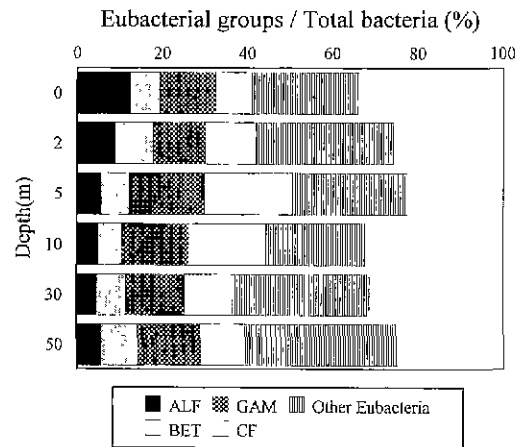
**결 과**

**Eubacteria의 총세균수에 대한 비율**

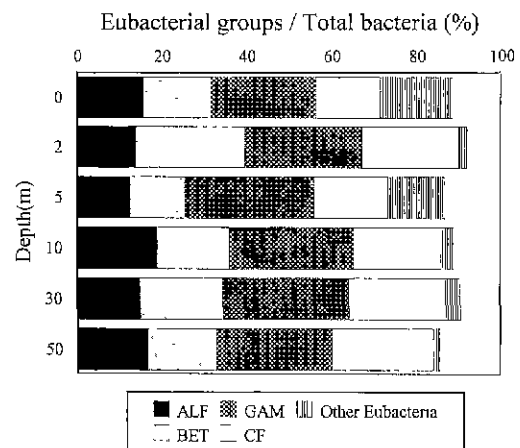
총세균수 중 Eubacteria에 속하는 세균이 점유하는 비율은 98년 4월의 경우 66.3~77.8%로 전 수심에서 비슷한 분포를 보였다(Fig. 1). 5월에는, 85.5~88.8%의 범위를 나타내었으며(Fig. 2), 여름철인 6, 7, 8월에는 각각 74.0~81.5%, 74.6~86.3%, 73.4~85.4%로 비교적 고른 분포를 나타내었다(Fig. 3, 4, 5). 가을철인 9월의 경우 30.7~58.0%의 비율로 여름철에 비해 Eubacterial group이 매우 작게 분포하였는데, 특히 수심 50 m에서는 30.7%로 가장 낮은 비율이었다. 이 시기는 전체적으로 볼 때 수심이 깊어질수록 총세균수에 대한 Eubacterial group의 비율이 점차 감소하는 경향을 보였다(Fig. 6). 10월과 11월은 각각 34.6~61.9%, 30.6~62.0%의 범위를 보였다(Fig. 7, 8).

**Eubacteria의 군집구조**

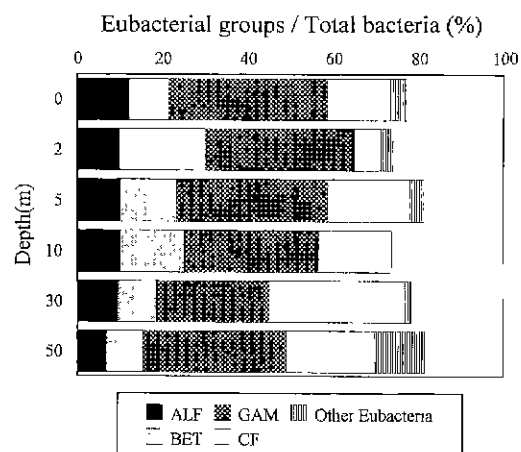
총세균수를 100%로 보았을 때 Eubacteria의 수심별 세균 군집비율을 살펴 보았다. 1998년 4월의 경우  $\alpha$ -group은 4.7~12.5%,  $\beta$ -group은 5.7~9.1%,  $\gamma$ -group은 12.2~17.8%, *Cytophaga-Flavobacterium* group은 8.5~20.6%를 나타내었다(Fig.1). Other Eubacteria를 제외한 Eubacterial group은 전수심에 걸쳐 36.8



**Fig. 1.** Bacterial Community of Lake Soyang in April, 30, 1998 (ALF =Proteobacteria  $\alpha$ -group, BET=Proteobacteria  $\beta$ -group, GAM=Proteobacteria  $\gamma$ -group, CF=*Cytophaga-Flavobacterium* group OTHERS =Other Eubacteria).



**Fig. 2.** Bacterial Community of Lake Soyang in May, 21, 1998 (ALF =Proteobacteria  $\alpha$ -group, BET=Proteobacteria  $\beta$ -group, GAM=Proteobacteria  $\gamma$ -group, CF=*Cytophaga-Flavobacterium* group OTHERS =Other Eubacteria).



**Fig. 3.** Bacterial Community of Lake Soyang in June, 20, 1998 (ALF =Proteobacteria  $\alpha$ -group, BET=Proteobacteria  $\beta$ -group, GAM=Proteobacteria  $\gamma$ -group, CF=*Cytophaga-Flavobacterium* group OTHERS =Other Eubacteria).

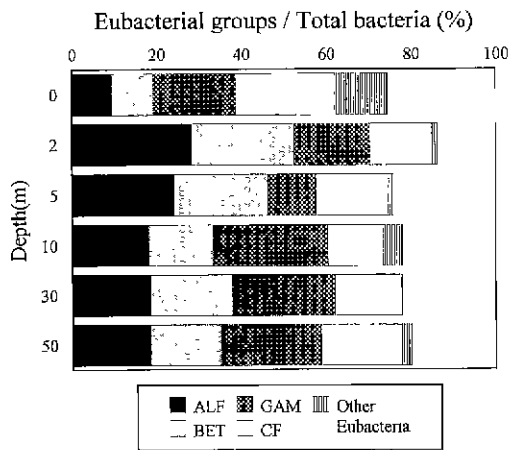


Fig. 4. Bacterial Community of Lake Soyang in July, 17, 1998 (ALF=Proteobacteria  $\alpha$ -group, BET=Proteobacteria  $\beta$ -group, GAM=Proteobacteria  $\gamma$ -group, CF=Cytophaga-Flavobacterium group OTHERS =Other Eubacteria).

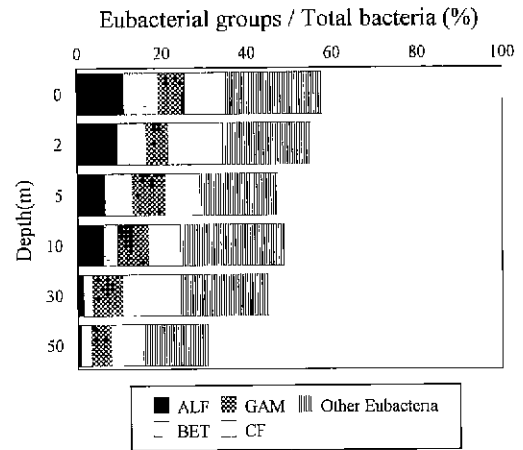


Fig. 6. Bacterial Community of Lake Soyang in September, 25, 1998 (ALF=Proteobacteria  $\alpha$ -group, BET=Proteobacteria  $\beta$ -group, GAM= Proteobacteria  $\gamma$ -group. CF=Cytophaga-Flavobacterium group OTHERS =Other Eubacteria).

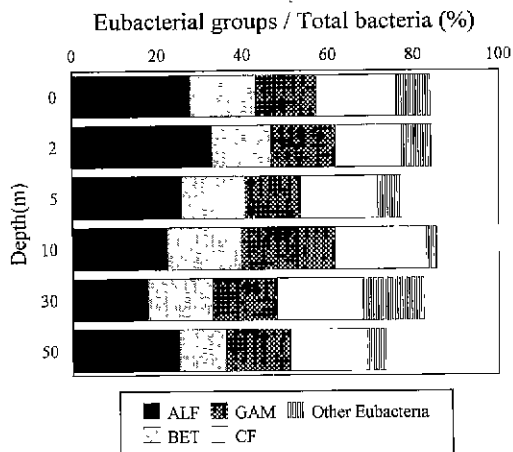


Fig. 5. Bacterial Community of Lake Soyang in August, 28, 1998 (ALF=Proteobacteria  $\alpha$ -group, BET=Proteobacteria  $\beta$ -group, GAM=Proteobacteria  $\gamma$ -group, CF=Cytophaga-Flavobacterium group OTHERS =Other Eubacteria).

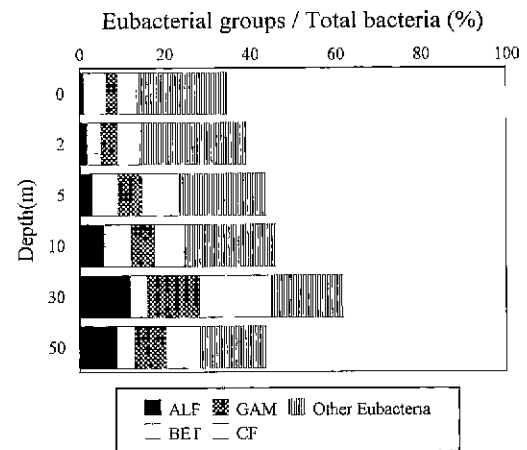


Fig. 7. Bacterial Community of Lake Soyang in October, 23, 1998 (ALF=Proteobacteria  $\alpha$ -group, BET=Proteobacteria  $\beta$ -group. GAM=Proteobacteria  $\gamma$ -group, CF=Cytophaga-Flavobacterium group OTHERS =Other Eubacteria).

~50.8%로 낮은 분포를 하고 있었으며 이 시기 other Eubacteria가 높은 비율을 차지하고 있었다. 5월에는  $\alpha$ -group이 12.5~18.9%,  $\beta$ -group이 13.1~25.8%,  $\gamma$ -group은 24.6~30.3%, Cytophaga-Flavobacterium group은 15.1~23.6%로 나타났고 4월에 비해 Eubacterial group이 증가하여 전 수심에 걸쳐 70% 이상의 높은 비율을 보였다(Fig.2). 6월에는  $\alpha$ -group이 6.8~12%,  $\beta$ -group이 9.1~20.3%, Cytophaga-Flavobacterium group이 6.0~31.5%였고,  $\gamma$ -group이 26.4~37.1%로 가장 크게 분포하였다(Fig. 3). 7월에는  $\alpha$ -group이 9.4~28.1%로 크게 증가하였고  $\beta$ -group이 9.9~24.4%,  $\gamma$ -group이 11.3~27%, Cytophaga-Flavobacterium group은 13.0~23.5%로 나타나 6월과 비교시  $\gamma$ -group은 감소경향을 띠 반면  $\alpha$ -,  $\beta$ -group은 증가하는 경향을 보였다(Fig. 4). 8월에는  $\beta$ -group이 11.0~17.4%,  $\gamma$ -group 12.9~22.0%로 Cytophaga-Flavobacterium group이 15.4~21.4%로 나타났고  $\alpha$ -group이 17.7~32.9%로 전체적으로 우점하는 경향을 보였다

(Fig. 5). 9월의 경우  $\alpha$ -group은 0.7~11.2%,  $\beta$ -group은 2.2~8.0%,  $\gamma$ -group은 4.7~7.7%의 비율을 나타내었으며 특히 Cytophaga-Flavobacterium group은 15.3~24.7%로 전체적으로 우점하는 경향을 보였다.  $\alpha$ -group과  $\beta$ -group은 수심이 깊어질수록 감소 경향을 보였으며 이에 따라 총세균수에 대한 Eubacteria의 비율도 감소하였다(Fig. 6). 10월에는  $\alpha$ -group이 1.0~11.8%,  $\beta$ -group은 3.4~6.7%,  $\gamma$ -group은 2.4~12.2%의 비율을 나타내었으며 Cytophaga-Flavobacterium group은 4.7~16.9%로 적은 분포를 보였고, 총세균수에 대한 Eubacteria의 비율도 전체적으로 34.6~61.9%로 나타났다(Fig. 7). 11월의 경우  $\alpha$ -group이 2.3~16.6%,  $\beta$ -group은 1.0~4.4%, Cytophaga-Flavobacterium group은 6.5~18.5%로 나타났고,  $\gamma$ -group은 13.8~30.4%로 높은 분포를 나타내었으며 수심이 깊어질수록 총세균수에 대한 Eubacteria의 비율이 점차 증가하는 경향을 보였다(Fig. 8).

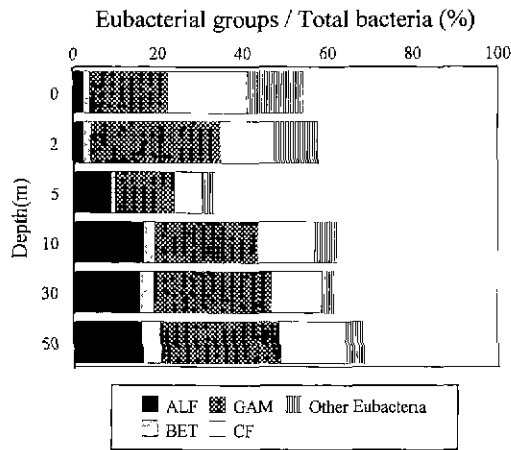


Fig. 8. Bacterial Community of Lake Soyang in November, 27, 1998 (ALF=Proteobacteria  $\alpha$ -group, BET=Proteobacteria  $\beta$ -group, GAM=Proteobacteria  $\gamma$ -group, CF=Cytophaga-Flavobacterium group OTHERS =Other Eubacteria).

고찰

*In situ* hybridization방법은 자연 상태의 세균 군집 구조를 가장 정확하게 나타낸다는 장점이 있다. 호수 생태계에서 배양 가능한 세균은 1% 미만에 불과하며(11) 따라서 배양한 후에 세균 군집 파악하는 것은 의미가 없다. 실제로 배양한 후 분류한 경우와 *in situ* hybridization으로 측정된 결과 매우 상이하게 나타나 있다(26). 이 방법에 사용되는 fluorescent rRNA-targeted oligonucleotide probe는 간단하고 쉽게 여러 생태계에서 세균군집의 시간·공간적 변화를 파악할 수 있다(25). rRNA는 세포 내에 많은 양이 존재하고 있어 관찰이 쉽다는 장점이 있고 특히 16S rRNA와 23S rRNA유전자는 세균들을 중 수준으로 구분할 수 있는 정보를 담고 있는 영역이며 염기 서열의 변화는 미생물간의 유연관계를 파악하는 데에 유용하다(10). 또한 16S rRNA의 특정부분은 진화 속도가 매우 느려 많은 생물체가 공통적으로 갖는 보존된 염기서열과 이차 구조를 나타내어 다양한 분류군의 상호 비교를 가능하게 한다(27).

본 조사결과로 소양호를 계절별로 크게 나누어 살펴보면 1997년(7)과 마찬가지로 봄철에는  $\gamma$ -group이 여름철에는  $\alpha$ -group이 우점하는 것으로 나타났으며, 가을철에는 Eubacterial group의 비율이 감소하여, 상대적으로  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -group과 Cytophaga-Flavobacterium group이 아닌 other Eubacteria가 우점하는 경향을 보였다.

5, 6월은 4월에 비해  $\gamma$ -group이 전 수심에서 약 2~3배 증가하였는데, 소양호는 봄철에 규조류가 우점하며 이 시기는 세균이 바로 이용가능한 저분자 물질이 많이 생성되는 것도 보고된 것과 일치한다(6). DOC공급은 내부와 외부기원으로 분류하고 있으며, 호수자체에서 생성된 DOC의 기원은 살아 있는 식물플랑크톤에 의한 배출(Excretion Dissolved Organic Carbon: E-DOC)이나 자기분해(autolysis), 동물플랑크톤의 배출(secretion) 등을 들 수 있다(21). 용존유기탄소는 미생물분해에 의해 분해

되기 쉬운 생분해성 용존유기탄소(Biodegradable Dissolved Organic Carbon: B-DOC)와 난분해성 용존유기탄소(Refractory Dissolved Organic Carbon: R-DOC)로 분류할 수 있다(5). 이처럼 소양호는 DOC의 총 농도는 봄철보다 가을철이 높았지만 저분자량 DOC는 봄철에 높아 이시기에  $\gamma$ -group이 전 수심을 걸쳐 크게 증가한 것으로 사료된다. 실제로 이 시기의  $\beta$ -glucosidase 활성도가 다른 계절보다 낮게 나타나(6) 저분자량 DOC가 높았던 것으로 추측할 수 있다. 또한 유기물이 풍부한 상태에서 영양염류를 첨가하였을 때  $\gamma$ -group이 증가한 것으로 나타났다(26). 그러나, 소양호의 경우 이 시기에 인 농도가 감소하였음에도 불구하고  $\gamma$ -group이 증가한 것은 자연상태에서 영양염의 농도 변화가  $\gamma$ -group의 증가에 큰 영향을 주지 않는 것으로 사료된다.

수온이 높아지기 시작하는 7월, 청수현상을 보일 때  $\gamma$ -group은 감소한 반면  $\alpha$ -group은 증가하였고 8월에 우점하였다. 이 시기에는 편모조류가 우점(1)하였으나 엽록소 a 농도는 2.0 mg/l로 매우 낮은 농도였으며, DOC 농도도 약 1.5 mgC/l로 비교적 타 계절에 비해 낮은 농도였고 수온의 변화는 6월과 비교해 큰 변화는 없었다. 용존유기물의 구성과 종류의 변화는 세균군집에 변화를 줄 수 있는 주요인 중 하나인 바,  $\alpha$ -group은 매우 낮은 농도의 유기물을 다른 group들에 비해 잘 이용하는 것으로 사료된다. 이 결과는 홍(7)이 연구한 결과와 유사한 경향을 보이며 이(4)가 소양호 표층을 대상으로 PCR방법을 이용하여 세균군집을 조사한 결과와도 일치한다.

남조류가 출현하기 시작하는 9월달 조사에서 총세균수에 대한 Eubacterial group이 60% 이하로, 남조류가 우점하는 10월에는 50% 미만으로 크게 감소하였으며(Fig. 7),  $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -group과 Cytophaga-Flavobacterium group도 매우 적은 분포를 보였다. 이러한 이유는 다음과 같은 두가지 요인으로 고찰해 볼 수 있다. 첫째는, 남조류가 생산, 분비하는 hepatotoxin과 neurotoxin과 같은 독성물질이 세균성장에 저해를 줄 수 있다. 최근 남조류 독성은 동·식물플랑크톤이나 원생동물 및 어류(12, 15, 23)에 피해를 주는 것이 보고 되었으나 아직까지 남조류가 세균에게 미치는 영향에 대해서는 확실히 밝혀진 바는 없어 이에 대한 연구도 시급히 수행해야 될 과제이다.

둘째로는 원생동물과 동물플랑크톤에 의한 섭식을 들 수 있다. 소양호에서 동물플랑크톤의 섭식 작용을 연구한 결과에서도 Anabaena가 우점하는 동안 동물플랑크톤의 일부가 algivore에서 bacterivore로 먹이 전환이 일어나는 것을 밝혔다(2, 3). 또한 bacterivorous인 flagellate가 상대적으로  $\beta$ -group보다는  $\gamma$ -group을 더 좋아한다는 결과가 있다(16). 따라서 세균군집이 동물플랑크톤의 섭식 작용에 의해 그 분포가 줄어드는 것으로 사료된다.

식물플랑크톤은 성장하는 동안 여러 가지 유기물을 분비하므로(24), 식물플랑크톤과 유기물의 증가는 영양염류의 증가와 관계가 깊다. 소양호와 같은 인공호에서의 유기물 기원은 식물플랑크톤의 광합성이다. 식물플랑크톤이 성장하면서 세포 안과 밖의 유기물 농도 차이로 인한 수동 확산(passive diffusion)으로 유기물이 유출되는데 이 유출 유기물을 EOC(excreted organic carbon)라 하고 이 EOC는 주로 단당류, 아미노산, 유기산 등의 저분자 유기물질로 구성되어 있어 세균에게 이용된다(6). 따라

서 식물플랑크톤의 군집변화는 영양염류의 변화와 밀접한 관련을 갖으며, 세균군집은 식물플랑크톤의 영향을 직접적, 또는 간접적으로 받게된다. 실제로 Austria의 Gossenköllesee호에서 세균군집을 조사한 결과 여름철 수심 8m지점과 겨울철 4m지점에서 엽록소 a가 증가했을 경우 *Cytophaga-Flavobacterium* group이 우점하였다(18)

이러한 보고들을 살펴볼 때 소양호 세균군집의 천이도 수온이나 식물플랑크톤의 영향을 많이 받는 것으로 사료된다. 실제로 최와 안(6)이 조사한 결과 소양호에서 세균이 쉽게 이용할 수 있는 저분자 유기물은 봄철이 많다는 연구 결과 보고가 있다.

이처럼 소양호는 계절과 수심에 따라 군집구조가 변화하였으며 특히 세균의 군집구조가 식물플랑크톤의 천이와 밀접한 관계를 보이는 것으로 나타났다. 앞으로 세균군집의 측정과 동·식물플랑크톤 및 여러 환경요인의 측정을 함께 수행하여 각 group이 갖고 있는 생태학적 기능과 특성, 그리고 각 생태계에서 세균의 역할과 세균군집의 다양한 변화를 측정하는 지속된 연구가 필요하다고 생각된다.

### 감사의 말

본 연구는 학술진흥재단의 1997년도 대학 부설 연구소 과제 로 수행되었습니다.

### 참고문헌

- 김재욱. 1999. 소양호 동식물플랑크톤의 계절적인 변동. 강원대학교 이학석사 학위논문.
- 심두섭, 안태석. 1992. 소양호에서 동물플랑크톤의 섭식 작용에 관한 연구. 한국육수학회지, **30**, 129-133.
- 안태석, 정미정, 이은주, 조규승. 1995. 소양호에서 세균군집 크기에 미치는 플랑크톤의 영향. 한국육수학회지, **28**, 219-224.
- 이동훈. 1995. 소양호 세균 군집 분자생태학적 연구. 이학 박사 학위논문. 서울대학교 대학원.
- 이유희. 1998. 소양호 용존유기물의 분포 및 분해 특성에 관한 연구. 강원대학교 이학석사 학위논문.
- 최승익, 안태석. 1995. 소양호에서 섬유소 기질에 부착한 미생물의 유기물 분해 활성도. 한국육수학회지, **28**, 27-33.
- 홍선희, 변명섭, 안태석. 1997. 16S와 23S rRNA에 결합하는 probe를 이용한 겨울철 소양호 세균 군집 구조의 분석. 한국미생물학회지, **33**, 257-261.
- 홍선희, 안태석. 1998. Fluorescent In Situ Hybridization 방법으로 분석한 소양호 세균 군집 구조의 계절적 변화. 한국미생물학회지, **34**, 169-174.
- Alfreidner, A., J. Pernthaler, R. Amann, B. Sattler, E.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.
- Amann, R., W. Ludwig, and K.H. Schleifer. 1994. Identification of uncultured bacteria: A challenging task for molecular taxonomists. *ASM News*, **60**, 360-365.
- Amann, R., W. Ludwig, and K.H. Schleifer. 1995. Phylogenetic and *in situ* detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.* **59**, 143-169.
- Baganz, D., G. Staaks, and C. Steinberg. 1998. Impact of the Cyanobacteria toxin, microcystin-LR on behaviour of zebrafish, *Danio rerio*. *Wat. Res.*, **32**, 948-952.
- De ley, J. 1991. The Proteobacteria: Ribosomal RNA cistron similarities and bacterial taxonomy. - In : A. Balows, H. Truper, M. Dworkin, W. Harder and K., H. Schleifer (eds.). *The Prokaryotes* 2nd ed. p. 2111-2140. Springer-Verlag, N.Y.
- DeLong, E.F., G.S. Wickham, and N.R. Pace. 1989. Phylogenetic strains: ribosomal RNA-based probes for the identification of single cells. *Science* **243**, 1360-1363.
- DeMott, W.R. 1991. Effects of toxic Cyanobacteria and purified toxins on the survival and feeding of a copepod and three species of *Daphnia*. *Limnol. Oceanogr.*, **36**, 1346-1357.
- Hahn, M.W. and G.H. Manfred. 1998. Grazing pressure by a bacterivorous flagellate reverses the relative abundance of *Comonas acidovorans* PX54 and *Vibrio* strain CB5 in chemostat cocultures. *Appl. Environ. Microbiol.* **64**, 1910-1918.
- Hicks, R., R.I. Amann, and D.A. 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.
- Jakob P., E.O. Glöckner, 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.
- Kang, H. and H. Seki. 1983. The gram-stain characteristics of the bacterial community as a function of the dynamics of organic debris in a mesotrophic irrigation pond. *Arch. Hydrobiol.* **98**, 39-58.
- Manz, W., R. Amann, W. Ludwig, and M. Wagner. 1992. Phylogentic oligodeoxynucleotide probes for the major subclasses of Proteobacteria: Problems and solutions. *Appl. Environ. Microbiol.* **15**, 593-600.
- Rai, H. 1984. Release of photosynthetically produced dissolved organic carbon by natural phytoplankton population in Schoensee. *Verh. Internat. Verein. Limnol.*, **22**, 936-942.
- Rheinheimer, G. 1980. *Aquatic Microbiology* - John Wiley & Sons, Chichester, p.27.
- Smith, B.A.D. and J.J. Gilbert. 1995. Relative susceptibilities of rotifers and cladocerans to *Microcystis aeruginosa*. *Arch. Hydrobiol.* **132**, 309-336.
- Sundh, I. 1989. Characterization of phytoplankton extracellular products (PDOC) and their subsequent by heterotrophic organisms in a mesotrophic forest lake. *J. Plankton Res.* **11**, 463-486.
- Trebesius, K., R. Amann, W. Ludwig, K. M. Hlegger, and K.H. Schleifer. 1994. Identification of whole fixed bacterial cells with nonradioactive rRNA targeted transcript probes. *Appl. Environ. Microbiol.* **60**, 3228-3235.
- Wagner, M., R. Amann, H. Lemmer, and K.H. Schleifer. 1993. Probing activated sludge with oligonucleotides specific for Proteobacteria: Inadequacy of culture-dependent methods for describing microbial community structure. *Appl. Environ. Microbiol.* **59**, 1520-1525.
- Woese, C.R. 1987. Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.* **51**, 221-271.

(Received August 2, 1999/Accepted September 7, 1999)

---

**ABSTRACT : Seasonal and Vertical Change of Bacterial Communities in Lake Soyang**

**Dong-Joo Kim, Sun-Hee Hong, and Tae-Seok Ahn** (Department of Environmental Science, Kangwon National University, Chunchon 200-701, Korea)

This study was conducted to investigate the change of bacterial communities with season and depth in Lake Soyang, Korea, using fluorescence in situ hybridization (FISH). The oligonucleotide probes used in this study were EUB338, ALF1b, GAM42a, and CF. The percentage of the Proteobacteria  $\alpha$ -group ranged from 0.70 to 33%, the  $\beta$ -group from 1.0 to 26%, the  $\gamma$ -group from 2.4 to 37%, and *Cytophaga* and *Flavobacteria* groups from 4.7 to 24% during the study period (April to November, 1998). The  $\gamma$ -group was dominant in spring when *Asterionella* was dominant, and  $\alpha$ -group was dominant in summer when the organic content was low and *Dinobryon* was dominant. However, a specific group was not dominant in fall when cyanobacteria group was dominant and the ratio of eubacteria to total bacteria was very low. Therefore, the bacterial communities in Lake Soyang changed with season and depth, which seems to be associated with the temporal succession of phytoplanktons.