

## 소양호 용존 유기물의 분자량 크기에 따른 세균수와 $\beta$ -Glucosidase 활성도의 변화

김광규 · 홍선희 · 김동주 · 최승의<sup>1</sup> · 안태석\*

강원대학교 환경학과 및 서울대학교 분자미생물학 연구센터,

\*서남대학교 환경 보건학과

소양호에서 식물플랑크톤이 분비하는 유기물의 분자량 크기에 따른 세균수와 활성의 변화를 측정하였다. 소양호 상결리 유역에서 여름철에 채수한 물을 tangential flow ultrafiltration으로 용존 유기물질을 100,000 nMW~0.1  $\mu\text{m}$ , 10,000 nMW~100,000 nMW와 1,000 nMW~10,000 nMW의 3개 fraction으로 구분하였고, 여기에 호수물을 접종하여, 세균수와  $\beta$ -glucosidase의 변화를 측정하였다. 배양기간 동안에 나타난 총세균수는 24시간까지 급격히 증가한 후 점차 안정적으로 변하는 전형적인 성장곡선을 나타내었으며, DOC 농도와 종류가 달랐음에도,  $1.2 \times 10^7 \text{ cells ml}^{-1}$ 의 최고치를 나타내었다.  $\beta$ -glucosidase 활성도의  $V_{max}$ 는 고분자 fraction(0.1  $\mu\text{m}$ ~100,000 nMW)에서는  $550 \sim 1,160 \text{ nmol l}^{-1} \text{ hr}^{-1}$  범위였고, 저분자 fraction(1,000 nMW~10,000 nMW)에서는  $1 \sim 14 \text{ nmol l}^{-1} \text{ hr}^{-1}$  범위로, 고분자 fraction에서 저분자 fraction에 비해 최고 1,000배 이상 높았다. 즉, 10,000 nMW 이상의 고분자 용존 유기물질은  $\beta$ -glucosidase의 유도체로 작용하며, 저분자 용존 유기물질은  $\beta$ -glucosidase 활성도를 높이지 못하는 것으로 확인되었다.

KEY WORDS □ bacterial numbers,  $\beta$ -glucosidase activities, Lake Soyang, size fraction of DOM

자연수계에 존재하는 용존 유기물(Dissolved Organic Material; DOM)은 크게 세균이 쉽게 이용 가능한 DOM(labile DOM)과 쉽게 이용이 불가능한 DOM(recalcitrant DOM)으로 구분할 수 있으며, 또는 분자량 크기로 고분자량의 용존 유기물질(high molecular weight DOM; HMWDOM)과 저분자량의 용존 유기물질(low molecular weight DOM; LMWDOM)로 구분할 수도 있다(19).

소양호와 같은 대형 인공호에서 대부분의 유기물은 그 기원이 식물플랑크톤이며, 수체의 용존 유기물질은 식물플랑크톤의 광합성과정에서 채외로 용출된 저분자물질과, 동물플랑크톤의 sloppy feeding과 autolysis 등의 과정에서 생성된 고분자물질로 구성된다(12, 17). Bernardes 등(4)은 호수에 존재하는 대부분의 유기물질이 20,000 nMW 이하의 저분자 물질임을 밝혔으며, 또한 세균들은 대부분 수체내에서 자체 생성된 저분자 용존 유기물질을 잘 이용하는 것으로 알려져 있다(10). 그러나 이와는 반대로 독일 북부의 PluBsec호와 같은 부영양화 호수에서는 저분자 용존 유기물질에 비해 고분자 용존 유기물질이 더 큰 비율로 구성되어 있다는 보고도 있어(14), 호수의 영양상태 등에 따라 DOM의 화학적 구성이 달라지는 것으로 판단된다. 이러한 DOM은 결합형태에 따라 수체내에 수많은 종류로 존재하므로 그 화학적 조성을 모두 밝히기에는 많은 시간과 정확한 분석기술을 요한다.

세균이 분비하는 효소는 주변환경에 존재하는 DOM의 종류와 농도에 따라 달라지게 되기 때문에 효소 활성도를

파악함으로서 호수의 유기물 동태를 간접적으로 파악할 수 있다(13). 특히  $\beta$ -glucosidase는 유기물을 세포막을 통과할 수 있는 수준으로 분해하는 효소로서 수중생태계에서는 매우 중요한 기능을 담당하고 있다(5). 소양호에서 측정된  $\beta$ -glucosidase 활성의 결과를 보면 계절적으로 큰 변화가 있다. 부유세균의 경우 봄철 규조류가 번식하는 시기에는 그 값이 높게 나타났으며, 남조류가 번식하는 가을에는 glucose의 흡수율과 수온이 높음에도 불구하고 그 값이 낮게 나타났다(1). 반면 부착세균의 경우 이와는 반대로 봄철 규조류가 우점하는 시기에 효소활성도가 낮았으며, 남조류가 우점하는 가을철에 높은 효소활성도를 나타내고 있었다(2). 이러한 상반되는 결과는 부착세균과 부유세균의  $\beta$ -glucosidase 활성도는 식물플랑크톤의 종류와 그들이 분비하는 유기물의 종류 및 농도에 따라 서로 다르게 변화하고 있음을 의미한다. 즉, 유기물의 종류와 농도에 따라  $\beta$ -glucosidase 활성도가 밀접하게 변화하고 있음을 간접적으로 암시하고 있다. 따라서, 수중에서  $\beta$ -glucosidase 활성도 변화에 미치는 용존 유기물 분자량 크기의 영향을 확인할 필요가 있다. 이를 위하여 하절기 소양호 상결리 수역에서 용존 유기물질을 크기별로 구분한 후 이 물질이 세균의 개체수와 채외 효소 활성도에 미치는 영향을 살펴보았다.

### 재료 및 방법

#### 용존 유기물의 size fraction

소양호 상결리 유역에서 1998년 7월 6일에 시료를 채취하였다. 35  $\mu\text{m}$ 와 10  $\mu\text{m}$ 의 prefilter로 여과된 시료를 tangen-

\*To whom correspondence should be addressed

Tel: 0361-250-8574, Fax: 0361-251-3991

E-mail: ahnts@cc.kangwon.ac.kr

tial flow ultrafiltration(Millipore Pellicon)을 이용하여 각 4단계의 분자량( $0.1\text{ }\mu\text{m}$ ,  $100,000\text{ nMW}$ ,  $10,000\text{ nMW}$ ,  $1,000\text{ nMW}$ ) 별로 여과한 후 크기별로 농축하였다. 먼저  $0.1\text{ }\mu\text{m}$  cartridge를 사용하여  $130\text{ l}$ 의 시료를 여과시킨 후  $4\text{ l}$ 의 retentate를 멀균된 비이커에 받아 접종수로 사용하였다. 이때 접종수는 원생생물을 제거하기 위하여  $1.0\text{ }\mu\text{m}$  Nuclepore cartridge에 여과시킨 후 사용하였다.  $0.1\text{ }\mu\text{m}$  cartridge를 통과한 여과수  $110\text{ l}$ 를  $100,000\text{ nMW}$  cartridge에 통과시켜  $1.3\text{ l}$ 의 retentate를 멀균된 갈색병에 받아  $100,000\text{ nMW} \sim 0.1\text{ }\mu\text{m}$ 의 시료로 사용하였으며, permeate된 시료  $100\text{ l}$ 를  $10,000\text{ nMW}$  cartridge에 통과시켜  $1.7\text{ l}$ 의 retentate를 갈색병에 받아  $10,000\text{ nMW} \sim 100,000\text{ nMW}$ 의 시료로 사용하였다. 같은 방법으로  $1,000\text{ nMW}$  cartridge에  $20\text{ l}$ 을 통과시킨 후 농축된 retentate  $13\text{ l}$ 중  $1.7\text{ l}$ 를 갈색병에 받아  $1,000\text{ nMW} \sim 10,000\text{ nMW}$ 의 시료로 사용하였다. 그 후 접종수를 시료의 10%되게 접종하였다. 이때 각 크기별 cartridge는 사용전에 citric acid와 멀균된 3차증류수로 세척하였고, 농축시 처음의 여과수  $10\text{ l}$ 은 제거한 후 사용하였다. 또한 모든 시료의 여과시 feeding 압력은  $23\text{psi}$ 로 하였고, retentate 압력은  $5\text{psi}$ 로 유지하였다.

#### DOC(Dissolved Organic Carbon) 측정

농축된 시료의 DOC농도를 알아보기 위하여 농축수  $8\text{ ml}$ 의 시료를  $550^\circ\text{C}$ 에서 미리 태운 유리 bottle(테플론뚜껑)에 넣은 후 pH를  $2$ 로 낮추기 위해  $2\text{N HCl}$ 용액  $50\text{ }\mu\text{l}$ 를 첨가한 후 고온측매법(HTC)에 의한 Shimadzu TOC-5000 analyzer로 측정하였다.

#### 총세균수

각 시간별 총세균수의 측정을 위해 중성포르밀린(최종농도 2%)으로 고정시킨 시료 중  $1\text{ ml}$ 을 micropipet으로 채취하여 미리 Sudan Black B로 염색한 polycarbonate membrane filter(Nuclepore, pore size  $0.2\text{ }\mu\text{m}$ )에 여과한 후, acridine orange로 염색하여 형광현미경으로 검정(배율  $\times 1,562.5$ )하여 계수하였다(7). 총세균수는 20 fields로부터 얻은 균체 수의 평균값으로 구하였다.

#### $\beta$ -Glucosidase 활성도

Hoppe(8)의 방법을 변형하여 측정하였다. 기질로 Methylumbelliferyl-substrate(MUF- $\beta$ -glucoside;  $10\text{ mM}$ )를 시료  $4.5\text{ ml}$ 에 최종농도가  $50, 100, 200, 400\text{ }\mu\text{M}$  되게 첨가하여 혼장온도( $20 \pm 1^\circ\text{C}$ )에서 1시간 배양 후 glycine-NaOH(pH 10.5,  $0.2\text{M}$ )  $0.5\text{ ml}$ 을 첨가하여 반응을 정지시킨 후 생성된 MUF의 양을 형광분광광도계(Spectrofluorophotometer RF-1501, Shimadzu, Ex:  $380\text{ nm}$ , Em:  $445\text{ nm}$ )로 정량분석 하였다. Lineweaver-Burk식을 이용하여 최대분해속도인  $V_{max}$ , 자연상태의 기질농도와 친화력의 합인  $K_t+Sn$ (6)을 구하였으며 모든 분석은 3회 실시하여 평균값을 사용하였다.

## 결 과

#### DOC와 총세균수

Table 1. Initial concentrations of DOC of each size fraction

Size fraction	Initial DOC conc. ( $\text{mg l}^{-1}$ )
Lake water ( $< 10\text{ }\mu\text{m}$ )	2.3
$0.1\text{ }\mu\text{m} \sim 100,000\text{ nMW}$	13.4
$10,000\text{ nMW} \sim 100,000\text{ nMW}$	12.6
$1,000\text{ nMW} \sim 10,000\text{ nMW}$	2.7

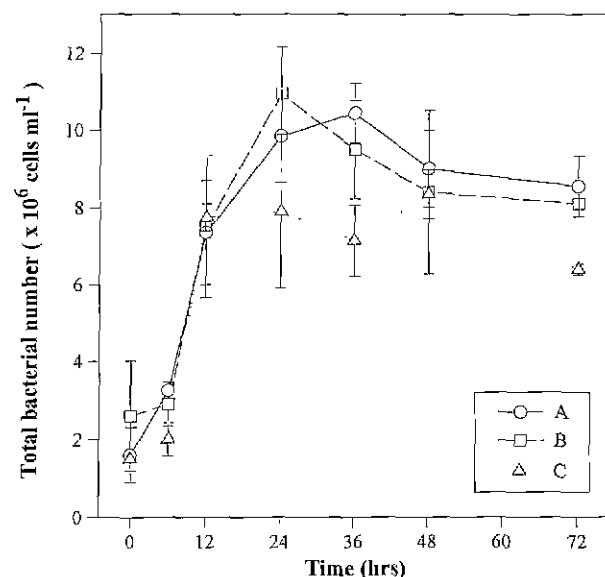


Fig. 1. The variation of total bacterial number in different MW fractions(A:  $100,000\text{ nMW} \sim 0.1\text{ }\mu\text{m}$ , B:  $10,000\text{ nMW} \sim 100,000\text{ nMW}$ , C:  $1,000\text{ nMW} \sim 10,000\text{ nMW}$ ).

각각의 분자량별로 ultrafiltration하여 농축시킨 시료의 DOC농도는 Table 1과 같다.  $100,000\text{ nMW} \sim 0.1\text{ }\mu\text{m}$  fraction과  $100,000\text{ nMW} \sim 10,000\text{ nMW}$  fraction의 경우 각각 84.6배와 58.8배로 농축이 되었으며,  $1,000\text{ nMW} \sim 10,000\text{ nMW}$  fraction의 경우는  $1,000\text{ nMW}$ 이하 크기의 시료가 filter를 통과하는 시간이 너무 오래 걸렸기 때문에 1.54배만 농축하였다.

배양기간 동안에 나타난 총세균수는 24시간까지 급격히 증가한 후 점차 안정적으로 변하는 전형적인 성장곡선을 나타내었다(Fig. 1).  $100,000\text{ nMW} \sim 0.1\text{ }\mu\text{m}$  fraction에서 총세균수는 초기에  $1.6 \times 10^6\text{ cells ml}^{-1}$ 에서 6시간까지는 약간의 성장을 보이다가 24시간과 36시간에  $1.0 \times 10^7\text{ cells ml}^{-1}$ 의 최대값을 보인 후 다시 감소하여 마지막 관찰 시기인 72시간에는  $8.5 \times 10^6\text{ cells ml}^{-1}$ 의 세균수를 나타내었다.  $10,000\text{ nMW} \sim 100,000\text{ nMW}$  fraction에서의 총세균수의 변화는  $100,000\text{ nMW} \sim 0.1\text{ }\mu\text{m}$  fraction에서의 총세균수의 변화와 매우 흡사하게 나타났다. 그러나 이외는 다르게  $1,000\text{ nMW} \sim 10,000\text{ nMW}$  fraction에서의 총세균수는 12시간까지는 다른 fraction과 흡사하게 변하고 있었으나( $1.2 \sim 7.8 \times 10^6\text{ cells ml}^{-1}$ ), 12시간 이후부터는 큰 증가 없이 일정한 수준을 유지하였다.

#### $\beta$ -Glucosidase 활성도

배양기간 동안 나타난  $\beta$ -glucosidase의  $V_{max}$ 는  $100,000\text{ nMW} \sim 0.1\text{ }\mu\text{m}$  fraction에서  $549.8 \sim 1,160.2\text{ nmol l}^{-1}\text{ hr}^{-1}$  범

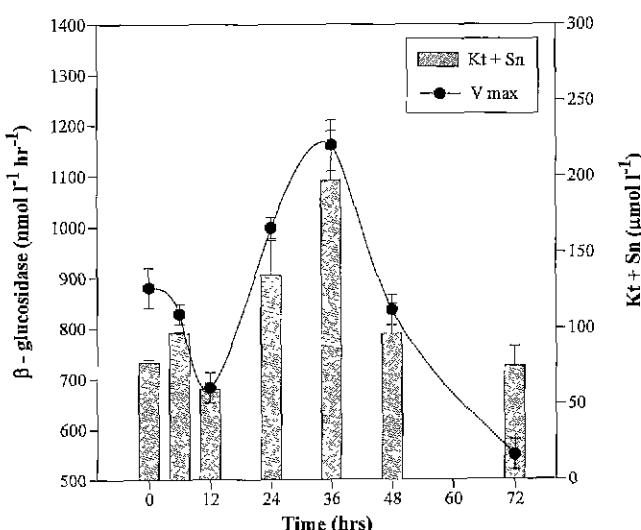


Fig. 2. The variation of  $\beta$ -glucosidase activity in 100,000 nMW ~0.1  $\mu\text{m}$  size fraction.

위로서 배양 36시간에 가장 높은 값을 보였으며, Kt+Sn값은 75.0~197.4  $\mu\text{mol l}^{-1}$  범위로 Vmax와 마찬가지로 배양 36시간에 가장 높은 값을 보인 후 다시 감소하여 배양 마지막 시간인 72시간에 가장 낮은 값을 보였다(Fig. 2). 10,000 nMW~100,000 nMW fraction에서는 Vmax값이 34.2~191.4  $\text{nmol l}^{-1} \text{hr}^{-1}$  범위로서 100,000 nMW~0.1  $\mu\text{m}$  fraction에서 와 마찬가지로 배양 36시간에 가장 높은 값을 보인 후 다시 감소하여 배양 마지막 시간인 72시간에 가장 낮은 값을 보였으며, Kt+Sn값은 28.5~265.3  $\mu\text{mol l}^{-1}$  범위로서 세균 접종 시간인 0시간에 가장 낮은 값을 보였고, 36시간에 가장 높은 값을 보이다가 다시 감소하는 경향을 보이고 있었다(Fig. 3). 이와는 다르게 1,000 nMW~10,000 nMW fraction에서의 Vmax는 배양 12시간만에 14.1  $\text{nmol l}^{-1} \text{hr}^{-1}$ 로 가장 높은 값을 보였고 배양 48시간에는 0.9  $\text{nmol l}^{-1} \text{hr}^{-1}$ 로 가

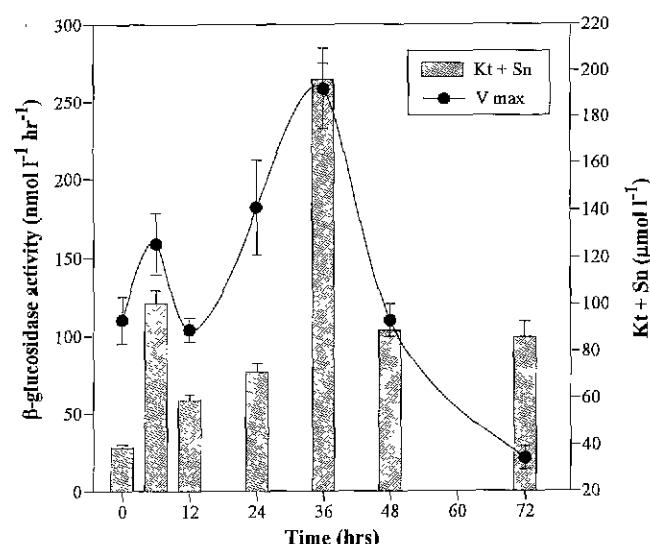


Fig. 3. The variation of  $\beta$ -glucosidase activity in 10,000 nMW ~100,000 nMW size fraction.

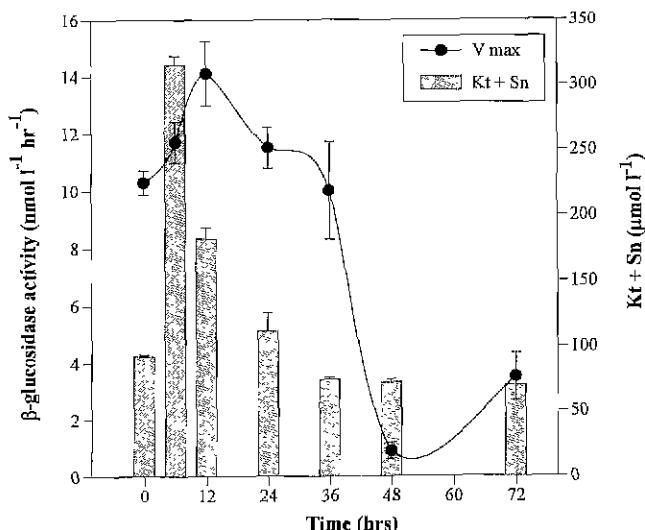


Fig. 4. The variation of  $\beta$ -glucosidase activity in 1,000 nMW ~10,000 nMW size fraction.

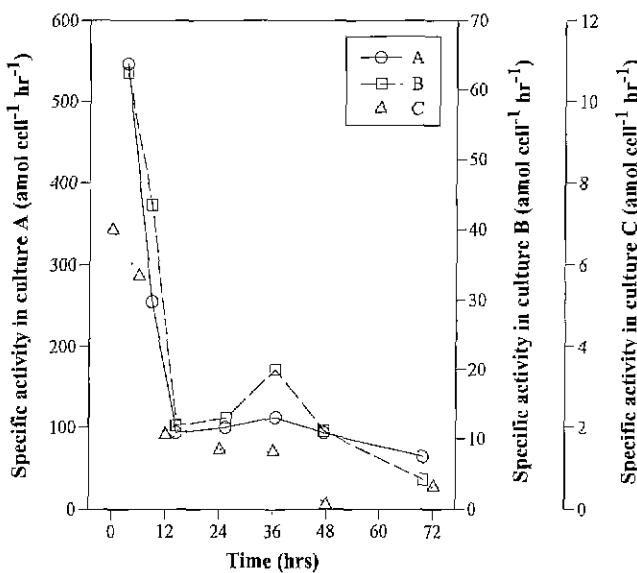
장 낮은 값을 보인 후 마지막 72시간에는 다시 증가하였으며, Kt+Sn값은 Vmax와 마찬가지로 배양 12시간만에 182.4  $\mu\text{mol l}^{-1}$ 로 가장 높은 값을 보인 후 다시 서서히 감소하였다(Fig. 4). 또한 각 단계별 fraction간의 Vmax값은 10배 이상의 큰 차이를 보였으며, 고분자량과 저분자량 사이에는 최고 약 1,300배의 큰 차이를 나타내었다.

#### Specific activity

Specific activity는 체외효소 활성도(Vmax)를 총세균수로 나누어 구하였다. 100,000 nMW~0.1  $\mu\text{m}$  fraction에서의  $\beta$ -glucosidase specific activity를 보면 64~546 amol cell<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup>의 범위였고, 10,000 nMW~100,000 nMW fraction은 4~62 amol cell<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup>의 범위였으며, 1,000 nMW~10,000 nMW fraction에서는 0.1~7 amol cell<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup>의 범위로, 고분자와 저분자 사이에 최고 5,000배의 큰 차이를 보였다(Fig. 5). 배양 시간에 따른 각 분자량별 specific activity를 살펴보면 고분자량과 저분자량의 물질을 첨가시킨 세 곳의 시료 모두에서 초기에 가장 높은 값을 보인 후 지수적으로 감소하는 경향을 보이고 있었다.

#### 고 칠

수환경에 있어서 미생물은 주위환경에 민감하게 반응하는 등 수질환경의 중요한 지표종으로 인식되어 왔기 때문에 그 수계 내 존재하는 총세균수의 측정은 수계의 환경을 파악하는 가장 중요한 인자이다. 호수의 영양단계에 따른 총세균수의 분포를 보면, 빈영양호에서는  $5.0 \times 10^5$ ~ $3.4 \times 10^6$  cells ml<sup>-1</sup>이며 중영양호에서  $4.5 \times 10^5$ ~ $14.0 \times 10^6$  cells ml<sup>-1</sup>, 부영양호에서는  $2.2 \times 10^6$ ~ $1.2 \times 10^7$  cells ml<sup>-1</sup>이다(16). 이러한 기준으로 보았을 때 소양호의 상결리 수역은 중영양호의 상태를 보이고 있었으며, 농축된 시료에 세균을 접종한 후 나타나는 총세균수의 변화는 부영양호의 상한기준에 다르고 있었다.



**Fig. 5.** The variation of specific activity in different MW fractions(A : 100,000 nMW~0.1 μm, B : 10,000 nMW~100,000 nMW, C : 1,000 nMW~100,000 nMW).

\*caution to scale

소양호에서 미생물변화에 크게 영향을 미치는 요인으로는 크게 수온과 이용 가능한 유기물 구성의 변화로 볼 수 있다(3). 그러나 본 실험에서는 수온을 현장온도인  $20 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 로 항상 유지하였기 때문에 개체수 변화에 큰 영향을 미치지 않았으리라 판단된다. Meyer et al.(10)의 결과를 보면 1,000 nMW 이하의 DOM을 넣은 시료에서 가장 큰 세균 성장율을 보였고 10,000 nMW 이상 크기의 DOM을 넣어준 시료, 1,000 nMW~10,000 nMW DOM을 넣은 시료순으로 세균 성장율이 나타났다. 또한 humic lake에서 측정한 결과에 의하면 10,000 nMW를 넣은 시료에서 가장 많은 세균수를 보였다(20). 그러나 본 실험에서는 서로 다른 분자량을 가진 시료에서 고분자에 비해 저분자의 초기 DOC가 1/5정도의 낮은 농도로 존재하고 있었지만(Table 1참조), 배양 기간 중 총세균수의 차는 크게 나타나지 않았으며 비슷한 수준으로 증가하고 있었다. 즉, 각 fraction별 유기물의 농도 차가 커어도 세균의 개체수는 일정한 수준인  $1.2 \times 10^7 \text{ cells ml}^{-1}$  이하의 값을 유지하였다. 이는 유기물의 증가에 비하여 성장에 필요한 질소와 인 등의 농도가 증가하지 않았기 때문으로 사료된다. 예로, 아한대지역의 음용수에 존재하는 세균의 성장률은 유기탄소 뿐만 아니라 인의 이용능력에 크게 좌우되고 있는 것으로 밝혀졌다(11). 즉, 농축된 호수물에서 DOM 농도의 증가는 주로 DOC의 증가였으며, DON (Dissolved Organic Nitrogen)과 DOP(Dissolved Organic Phosphorus)의 증가는 미미한 것으로 판단되었다.

$\beta$ -Glucosidase 효소활성의 유도와 억제는 수환경내의 용존 유기물질의 종류에 따라서 크게 변화하는 것으로 밝혀졌다. 호수에서  $\beta$ -glucosidase는 cellobiose가 첨가되었을 때에 Vmax는 상대적으로 변화가 없었으나 Km값은 큰 증가를 보여 경쟁적 저해(competition inhibition) 현상이 있음을 확인하였다(13). 효소 활성의 반응산물인  $\beta$ -glucose를 첨가할

때에도 역시 경쟁적 억제 기작이 일어났으며, 반대로  $\alpha$ -glucose,  $\alpha$ ,  $\beta$ -galactose,  $\alpha$ ,  $\beta$ -mannose, maltose, lactose를 첨가했을 때는 noncompetition inhibition<sup>o</sup> 나타났다(5).

소양호와 같은 대형 인공호에서의 용존유기물은 대부분이 식물플랑크톤에 의해서 발생하며 광합성 과정에서는 monosaccharides, amino acid, organic acids, simple esters 등의 LMWDOM 등이 용출된다(12). 한 예로 강한 태양광 아래에서는 glycolate가 수동확산에 의하여 용출된다(18). 노쇠한 조류가 자가분해 될 때에는 HMWDOM이 많이 분비되며, 단백질은 거의 포함하지 않는 것으로 알려져 있다(6). 바이러스 등에 의하여 조류가 용해될 때에는(18) polysaccharides, proteins, lipids, nucleic acids(9, 15) 등이 용출된다. 또, 식물 플랑크톤은 영양염류가 부족할 때에는 세포 유기물을 능동적으로 분비하는 것으로 알려져 있다(17). 또, 동물플랑크톤이 식물 플랑크톤을 섭식할 때에도 이른바 sloppy feeding에 의하여 유기물이 용출된다(12). 이렇듯이 호수내의 유기물의 종류와 농도는 식물 플랑크톤의 종류, 생리적 상태, 환경조건 등에 따라 달라지게 된다.

이러한 관점에서 이 연구의 결과를 살펴보면, 저분자 용존 유기 물질로 구성되어 있는 1,000 nMW~10,000 nMW fraction의 시료에서는 HMWDOM fraction의 시료에 비해 상대적으로 상당히 낮은 수준의 Vmax를 보이고 있었던 것으로 보아, 비록 LMWDOM의 화학적 구성을 알 수 없으나 LMWDOM은 HMWDOM에 비하여 효소 억제기작을 일으키는 것으로 판단된다 반면, 10,000 nMW 이상의 HMWDOM이 들어있는 시료에서는 LMWDOM이 들어있는 시료에 비해 약 100~1,000배 이상 높게 나타난 것으로 보아 HMWDOM이 세균의 효소활성을 induction하거나, 억제인자를 제거하는 것으로 판단된다.

세균당 체외효소 활성도의 양을 나타내는 specific activity를 살펴보면 분자량별 시료 모두 초기에 높은 활성을 보인 후 배양 12시간까지는 급격한 감소를 보이다가 이후 안정된 값을 보이고 있었다(Fig. 5참조). 이는 배양 12시간까지는 세균수가 5배 정도 증가하는데 반하여 체외효소 활성도는 큰 증가를 보이지 않았기 때문에 specific activity는 4~6 배 정도 감소하였고, 이후부터는 세균수와 체외효소 활성도의 변화가 같이 일어났기 때문에 일정한 수준을 유지하였다. 즉, 초기에는 lag time 등으로 의미가 없으므로 개체수가 안정된 12시간 배양 이후의 값으로 효소 상태를 판단하는 것이 타당하다. 또, 그동안 소양호에서 측정된  $\beta$ -glucosidase를 총세균수로 나눈 specific activity는 계절에 따라 0.1~64 amol cell<sup>-1</sup> hr<sup>-1</sup>의 범위였다(3). 이 값을 이번 조사에서 측정된 값과 비교하면, 1,000 nMW~10,000 nMW 및 10,000 nMW~100,000 nMW의 fraction에서 측정된 값과 유사하다. 그러나 자연상태에서는 이들이 구분되어 존재하지 않고 혼합된 상태이므로, 앞으로 각 size fraction의 비율에 따른 Vmax와 Kt+Sn값을 지속적으로 측정하여 모델화하면, 현장에서  $\beta$ -glucosidase의 Vmax와 Kt+Sn값의 조사만으로도 자연상태에 존재하고 있는 용존유기물의 size비율을 간접 측정할 수 있을 것이다.

이러한 결과들을 토대로 소양호에서 유기물의 존재형태를 파악하여 보면,  $\beta$ -glucosidase 활성도가 높았던 시기에는

HMWDOM이 상대적으로 많았고, 흐소 활성도가 낮았던 시기에는 저분자 용존 유기물질의 비율이 높았던 것을 확인할 수 있었으며(1, 2, 3), 흐소 활성도를 파악함으로써 수체내 용존유기물질의 종류를 간접적으로 파악할 수 있었다. 앞으로 식물플랑크톤의 종과 개체수의 변화에 따른 용존 유기물질의 변화와 이에 따른 세균수 및 체외효소 활성도의 변화는 더 연구해야 할 부분이다.

### 감사의 말

이 연구는 서울대학교 분자 미생물학 연구 센터를 통한 한국 과학 재단 우수 연구센터 지원금에 의하여 연구 수행되었습니다.

### 참고문헌

- 김상종, 안태석, 안태영, 조기성, 박노태, 이동훈, 박호완. 1994. 소양호 지류에서 식물플랑크톤 변화에 따른 미생물 활성도의 일변화. *한국미생물학회지*. **32**, 580-585.
- 최승익, 안태석. 1997. 호수 생태계의 생화학적 분석. *한국미생물학회지*. **33**, 50-54.
- 최승익. 1996. 소양호의 세균개체수와 활성도 변화에 관한 연구. 이학박사학위논문. 강원대학교 대학원.
- Bernardes, M.C., K.N. Kuroshima, and J.-P. Carmouze. 1998. The different fractions of organic matter and its annual changes in a eutrophied Brazilian coastal lagoon. *Verh. Internat. Verein. Limnol.* **26**, 1408-1411.
- Chróst, R.J. 1989. Characterization and significance of  $\beta$ -glucosidase activity in lake water. *Limnol. Oceanogr.* **34**, 660-672.
- Chróst, R.J., U. Münster, H. Rai, D. Albercht, P.K. Witzel, and J. Overbeck. 1989. Photosynthetic production and exoenzymatic degradation of organic matter in the euphotic zone of a euphotic zone of a eutrophic lake. *J. Plankton Res.* **11**, 223-242.
- Hobbie, J.E., R.J. Daley, and S. Japer. 1977. Use of Nucleopore filters for counting bacteria by fluorescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* **33**, 1225-1228.
- Hoppe, H.G. 1983. Significance of exoenzymatic activities in the ecology of brackish water: measurements by means of methylumbelliferyl-substrate. *Mar. Ecol.* **11**, 299-318.
- Karl, D.M. and M.D. Bailiff. 1989. The measurement and distribution of dissolved nucleic acids in aquatic environments. *Limnol. Oceanogr.* **34**, 543-558.
- Meyer, J.L., R.T. Edwards, and R. Risley. 1987. Bacterial growth on dissolved organic matter from a blackwater river. *Microb. Ecol.* **13**, 13-29.
- Miettinen, I.T., T. Vartiainen, and P.J. Martikainen. 1997. Phosphorus and bacterial growth in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.* **63**, 3242-3245.
- Münster, U. and R. J. Chróst. 1990. Origin, composition and microbial utilization of dissolved organic matter. In Overbeck, J. and Chróst, R.J.(eds), *Aquatic Microbial Ecology: Biochemical and Molecular Approaches*. Springer Verlag, N.Y. pp. 8-46.
- Münster, U. 1991. Extracellular enzyme activity in eutrophic and polyhumic lakes. In Chróst(ed), *Microbial enzymes in Aquatic Environments*. Springer-Verlag, N.Y. pp. 96-122.
- Münster, U. and D. Albrecht. 1993. Dissolved organic matter: Analysis of composition and function by a molecular-biochemical approach. In J. Overbeck and R.J. Chróst (eds.), *Microbial ecology of Lake Plußsee*. Springer-Verlag, N.Y. pp. 24-62.
- Paul, J.H., W.H. Jeffrey, and J.P. Cannon. 1990. Production of dissolved DNA, RNA, and protein by microbial populations in a Florida reservoir. *Appl. Environ. Microbiol.* **56**, 2957-2962.
- Rheinheimer, G. 1980. *Aquatic microbiology* 2nd ed. John Wiley and Sons. N.Y. pp. 21-41.
- Sell, A.F. 1994. Phytoplankton-excreted organic carbon. In Overbeck and R.J. Chróst(eds.), *Microbial ecology of Lake Plußsee*. Springer-Verlag, N.Y. pp. 81-91.
- Suttle, C. A., A.M. Chan, and M.T. Cottrell. 1990. Infection of phytoplankton by viruses and reduction of primary productivity. *Nature* **347**, 467-469.
- Taylor, G.T., R. Iturriaga, and C.W. Sullivan. 1985. Interactions of bacterivorous grazers and heterotrophic bacteria with dissolved organic matter. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **23**, 129-141.
- Tulonen, T., K. Salonen, and L. Arvola. 1992. Effects of different molecular weight fractions of dissolved organic matter on the growth of bacteria, algae and protozoa from a highly humic lake. *Hydrobiologia*. **229**, 239-252.

(Received November 6, 1998/Accepted December 30, 1998)

---

**ABSTRACT : The Change of Bacterial Numbers and  $\beta$ -Glucosidase Activities by the Size Fraction of DOM in Lake Soyang**

**Kwing-Kyu Kim, Sun-hee Hong, Dong-joo Kim, Seung-Ik Choi<sup>1</sup>, and Tae-seok Ahn\*** (Dept. of Environmental Science, Kangwon National University Chunchon, 200-701, Korea and Research Center for Molecular Microbiology, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea, and <sup>1</sup>Dept. of Environmental Health, Seonam University, Namwon 590-170, Korea)

Effects of different molecular size fractions (100,000 nMW~0.1  $\mu$ m, 10,000 nMW~100,000 nMW and 1,000 nMW~10,000 nMW) of dissolved organic matter on the bacterial numbers and  $\beta$ -glucosidase activities in Lake Soyang were investigated. Even though the concentrations and characteristics of each fractions were different, bacterial growth curves of each fraction were typical and similar. Each growth curve had highest peak of  $1.1 \times 10^7$  cells  $ml^{-1}$ . But, the  $\beta$ -glucosidase activities of each fraction were quite different. In high molecular weight fraction (HMW: 100,000 nMW~0.1  $\mu$ m), Vmax of  $\beta$ -glucosidase activity ranged from 550 to 1,160 nmol  $l^{-1} hr^{-1}$ , but in low molecular weight fraction (1,000 nMW~10,000 nMW), that ranged from 1 to 14 nmol  $l^{-1} hr^{-1}$ , which is about thousandsfold lower than that in HMW fraction.