

## DGGE를 이용한 대청호 수화 발생시기의 세균군집 분석

고소라·박성주<sup>2</sup>·안치용·최애란·이정숙<sup>1</sup>·김희식·윤병대·오희목\*

한국생명공학연구원 환경생명공학연구소, <sup>1</sup>한국생명공학연구원 계통보존실, <sup>2</sup>대전대학교 미생물학과

대청호에서 수화 발생시기인 2003년 7월에서 10월까지 분자생태학적 방법의 하나인 DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis)를 이용하여 시간에 따른 세균군집구조의 변화를 연구하였다. 조사기간 동안 출현한 식물플랑크톤을 형태학적으로 분류한 결과 cyanobacteria, 규조류 및 녹조류가 발견되었고, 이 중 *Microcystis*, *Chroococcus*, *Oscillatoria*, *Phormidium* 속이 크게 우점하였다. 16S rDNA의 DGGE profile 분석에 의하여 *Microcystis flos-aquae*와 *Oscillatoria* spp.가 우점하는 것으로 확인되었으며, *Aphanizomenon flos-aquae*는 8월 중순에 우점하는 것으로 확인되었다. DGGE profile을 토대로 cluster analysis를 적용하여 다양한 미생물 군집의 유사성을 비교한 결과, 9월 2일의 미생물 군집이 다른 시기의 시료와 확연히 다른 그룹으로 구분되었다. 결과적으로 분자생물학적 방법은 형태적 분석방법과 유사한 결과를 보였으며, 일부세균의 분포 및 변화, 미생물 군집의 유사성 등에 대한 추가적 정보를 제공하였다.

**Key words** □ 수화, cyanobacteria, DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis), 16S rDNA

전 세계적으로 하천과 호수의 부영양화에 따른 피해는 점차 증가하는 추세이다. 호수의 부영양화로 인하여 조류가 대량 증식하는 현상을 수화(algal bloom) 또는 녹조라고 한다. 수화가 발생하는 호수에서 가장 흔히 출현하는 cyanobacteria는 *Microcystis*, *Anabaena*, *Oscillatoria* 등이 알려져 있고, 국내 대부분의 호수에서는 *Microcystis* 속의 종들이 우점하고 있다(2, 6).

세균군집 해석을 위해 시료에서 미생물을 분리한 후, 생리학적 그리고 형태학적 분석을 기초로 하는 방법과, 형광현미경으로 관찰하는 방법이 주로 사용되어 왔다. 그러나 이들 방법은 미생물의 형태에 따른 동정의 한계와 총 개체 수만을 측정하기 때문에 세균군집의 다양성을 밝히는 데는 어려움이 있었다. 또한 배양 가능한 세균은 자연계에 존재하는 총 세균의 1% 이하에 불과하므로 배양에 의한 군집 해석은 생태학적으로 큰 의미가 없으며, 왜곡된 결과가 나올 수 있다(1). 최근, 이러한 방법들의 한계를 극복하기 위하여, 세균군집의 구조와 다양성을 조사하는 연구 방법으로 16S rDNA sequencing analysis, DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis), RFLP (restriction fragment length polymorphism), fluorescence *in situ* hybridization, slot-blot membrane hybridization 등 여러 분자생물학적 방법들이 개발되고 있으며, 생태학적인 관계를 규명하기 위하여 사용되고 있다(3, 5, 11, 16, 20, 23).

특히, Gast 등(15)은 과거 전통적인 현미경적 연구방법은 크기가 크고, 형태학적으로 분별이 가능한 것에만 국한되므로, 이를 대체하기 위한 분자적 연구방법의 개발 필요성을 강조하였다. 그

중에서 배양에 독립적인 DGGE는 PCR에 기초를 둔 방법으로 다른 환경에서 세균과 고세균 집단의 다양성을 분석하는데 효과적이라고 하였다. Koizumi 등(20)은 중온성 호수 저니(sediment)에 세균군집 구조의 깊이에 따른 변화를 DGGE를 이용하여 16S rDNA와 reversely transcribed 16S rRNA fragments를 비교분석하였다. 대부분은 *Nitrospira* (95% sequence similarity)로 나타났고, 16S rDNA와 16S rRNA에 기초를 둔 군집 구조의 특징은 전체 미생물 군집을 평가하기 위하여 중요하다고 밝혔다. Diez 등(14)은 남서 지중해에서 picoeukaryotic assemblages의 다양성을 연구하기 위하여 DGGE를 사용하였으며, 다른 분자적 방법과 비교 분석하였다. 또한 18S rDNA gene의 특이적인 primer를 사용하였고, 가장 많이 나타나는 그룹은 prasinophyte로 조사되었다.

본 연구에서는 하절기에 녹조가 빈번히 발생하는 대청호에서 DGGE를 이용하여 시간에 따른 16S rDNA 세균의 군집 다양성을 관찰하였고, cyanobacteria를 포함하는 식물플랑크톤의 군집변화와 이화학적 수질분석을 실시하였다. 식물플랑크톤과 세균 군집간의 상호관계, 이들 미생물 군집 변화와 수질과의 관계를 조사하였으며, 유사성 분석을 통하여 우점 cyanobacteria를 확인하였다.

### 재료 및 방법

#### 시료의 채취

2003년 7월 15일부터 10월 14일까지 7일 간격으로 대청호의 댐측에 인접한 선착장에서 호수의 표층(0-30 cm)으로부터 10 L 이상의 물 시료를 채취하였다. 시료는 냉장상태로 실험실로 운반하였다.

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: +82-42-860-4321, Fax: +82-42-860-4594  
E-mail: heemock@kribb.re.kr

### 수질 분석

수온 및 pH는 채수 즉시 현장에서 YSI meter (63/100 FT, YSI Inc, Yellow Springs, USA)를 사용하여 측정하였다. 클로로필 *a*는 chloroform-methanol mixture (2:1, vol/vol)로 추출하고, Wood (25)의 방법에 따라 Fluorometer (Turner 450, Barnstead/ThermoLyne, Dubuque, USA)를 사용하여 측정하였다(12, 25).

### 식물플랑크톤의 현존량 측정

식물플랑크톤의 종 조성 및 세포 수를 관찰하기 위한 시료는 채수 현장에서 Lugol's solution으로 고정된 후 실험실로 운반하였다. 농축 시료를 1 ml 용량의 Sedgwick-Rafter cell에 골고루 분산시킨 후 광학현미경(Microphot-FXA, Nikon Corp., Tokyo, Japan) 하에서 Fuchs-Rosenthal counting chamber (Paul Marienfeld GmbH & Co., Lauda-Königshofen, Germany)를 사용하여 세포 수를 계수하였다(13). 군체의 경우 군체 당 평균 세포 수를 계수하여 군체 수와 적산하여 세포 수를 구하였고, 담수조류도감을 참고하여 동정하였다(8, 9).

### 핵산 추출

채취한 시료는 0.22 µm pore size filter (Millipore system, Bedford, USA)를 이용하여 여과하였다. 여과지는 -70°C에서 보관하였다. 여과지에 걸러진 세포를 떼어내기 위해 TE buffer(pH 7.6)를 넣고 10-20초 정도 sonication하였다. 세포는 원심분리기(6,300 × g, 10 min)를 이용하여 농축하였다. 농축된 세포는 DNeasy plant mini kit(Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 DNA를 추출하고, 1% agarose gel에서 확인한 후, -20°C에서 보관하였다.

### PCR 증폭

미생물의 다양성을 확인하기 위하여 환경시료로부터 얻은 DNA를 주형으로 증폭하였다. 사용된 primer는 universal primer로 알려진 341F GC(5'-CGCCCGCCGCGCGGGCGGGCGGGGCGGGGACGCGGGGGCTACGGGAGGCAGCAG-3')와 907R(5'-CCGTC AATTCATTTGAGTTT-3')을 각각 사용하였다(17, 19). PCR 반응은 30 ng의 주형 DNA, dNTP mixture(final conc. 200 µM each), 10 µM primer 그리고 5 unit/µl *Taq* polymerase를 첨가하여 최종 부피가 100 µl가 되도록 하였다.

PCR 반응 조건은 94°C에서 5분간 초기 열처리를 한 후, 94°C에서 1분간 변성시키고, annealing 온도는 초기에 65°C에서 시작하여 매 cycle마다 0.5°C씩 감소하도록 설정하고 55°C에 도달하면 15 cycle을 더 수행하도록 하여 1분간 반응시키고 신장을 위하여 72°C에서 1분간 반응시킨 후 최종적으로 72°C에서 10분간 처리하고 반응을 중단시켰다. PCR 증폭산물은 1% agarose gel에서 전기영동하여 확인하였다.

### PCR 증폭물의 DGGE 분석

PCR산물은 BioRad Dcode System (Bio-Rad Laboratories, Hercules, USA)으로 DGGE를 수행하여 분석하였다. Denaturing gradient gel은 6% polyacrylamide (37.5:1=acrylamide:bisacryl-

amide)에 urea와 formamide 변성제를 30-45% 까지 농도구배가 연속적으로 형성되도록 첨가하여 제작하였다. 이와 같이 제작된 gel에 PCR 증폭 산물을 25 µl씩 loading하여 1×TAE buffer 완충 용액(40 mM Tris, 20 mM acetic acid, 1 mM EDTA, pH 8.0)에서 60°C, 200 V로 3시간 30분 동안 전기영동하였다. 전기영동이 끝난 gel은 ethidium bromide에서 염색한 후, UV로 확인하였다(3, 22).

### 염기서열 분석

Denaturing gradient gel 상에서 다른 위치에 존재하는 DNA 단편들을 회수하기 위하여 각각의 밴드를 선택한 후, 각각 잘라내어 3차 증류수 50 µl를 첨가하고 4°C에서 하룻밤 동안 방치한 후 원심분리(6,300 × g, 5 min)하여 상정액을 취하였다. 각 밴드에서 회수한 DNA를 주형으로 341F GC와 907R primer를 이용하여 위와 같은 방법으로 PCR을 실시하였다. PCR 산물을 Gel extraction kit (Qiagen, Hilden, Germany)를 이용하여 정제하였다. 정제된 PCR 산물은 automatic DNA sequencer (model 377; Applied Biosystems, Foster, USA)를 이용하여 염기서열을 결정하였다. 결정된 염기서열은 NCBI (www.ncbi.nlm.nih.gov)의 Genbank database를 이용하여 Blast search program을 통해 분석하였다.

### 이미지 분석

밴드의 위치와 강도는 Image analyzer (Science Image Analysis, Eastman Kodak Co., Rochester, USA)로 분석하였다(24). Dendrogram은 SPSS 11.0 Windows를 이용하여 작성하였다.

## 결과 및 고찰

### 수질 분석

이화학적 수질분석 결과는 Fig. 1에서 보는 바와 같다. 조사 기간 동안 대청호의 수온은 21-28°C로 조사되었다. Cyanobacteria

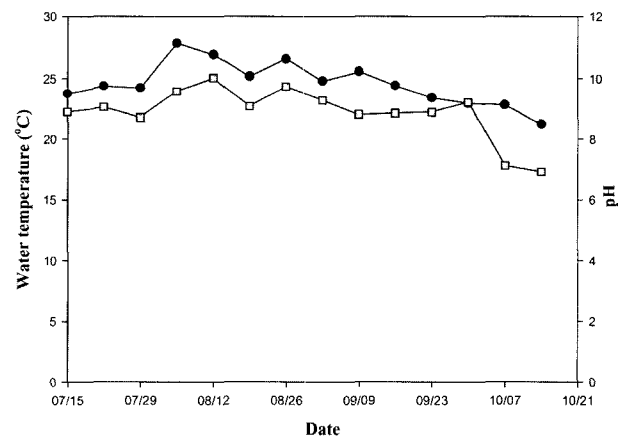


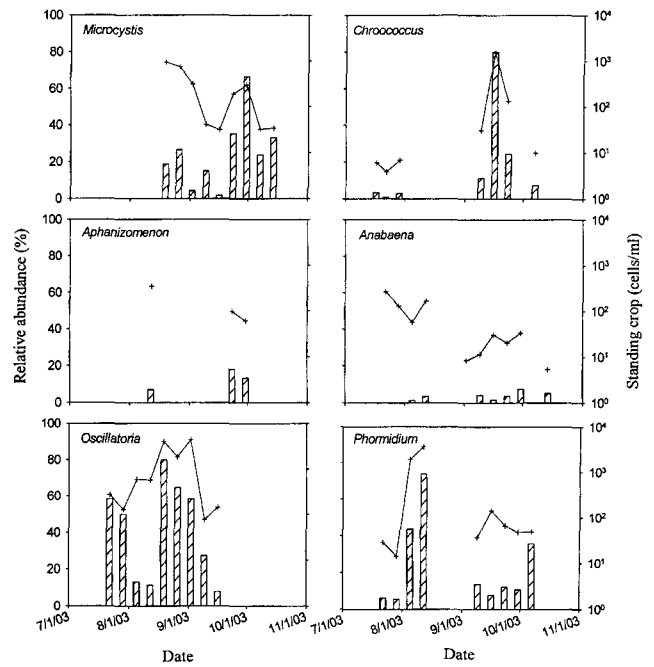
Fig. 1. Variations of water temperature and pH in Daechung Reservoir. Water qualities were measured in Daechung Reservoir from July to October in 2003. Symbols: -●-, water temperature; -■-, pH.

의 최적생장온도는 대부분 25°C 전후로써(11), 조 등(10)은 동북호에서 식물플랑크톤의 변화를 살펴본 연구에서, 수온이 15°C 이상이 되는 시기인 5월부터 cyanobacteria가 출현하기 시작했다고 보고하였다. pH는 대부분 8-10의 약알칼지 값을 나타냈다. 대청호에서 하절기에 pH의 증가는 식물플랑크톤의 광합성에 기인하는 것으로 보고되었다(4).

**식물플랑크톤의 형태적 분류**

Cyanobacteria는 담수, 해수, 사막, 온천 그리고 빙산과 같은 다양한 환경에 널리 분포하며, 수생태계에서 중요한 구성요소이다(18). 조사기간 동안 대청호에 출현한 식물플랑크톤은 cyanobacteria, 규조류 및 녹조류가 주를 이루었다(Fig. 2). 질소고정과 광합성을 하는 cyanobacteria는 7월 15일에 현존량이 60 cells/ml에 불과하여 전체 식물플랑크톤 현존량의 3.2%를 차지하였으나, 이 후 증가하여 8월 19일에 49,625 cells/ml에 이르렀고, 이 때의 우점도는 전체 식물플랑크톤 현존량의 98.5%에 달했다. 규조류는 조사기간 초기에 현존량이 1,628 cells/ml로 전체의 86.4%를 차지하면서 우점하였으나, 이 후 cyanobacteria의 출현이 증가하면서 상대적으로 감소하였고, 조사기간 후기에 다시 증가하는 경향을 보였다. 녹조류는 9월 2일에 전체 식물플랑크톤 현존량의 37.3%인 28,125 cells/ml로 출현하여 조사기간 중 가장 높게 나타났다. 또한, 이 시기에는 cyanobacteria의 현존량이 47,333 cells/ml에 이르러 조사기간 중 식물플랑크톤 현존량이 가장 높았다. Ahn 등(12)은 대청호에서 여름에는 cyanobacteria가 봄, 가을에는 규조류가 우점하며, 수화를 일으키는 종으로는 *Microcystis* spp.와 *Anabaena* spp.가 있다고 보고하였다.

Fig. 3에서 보는 바와 같이, 조사기간 동안 대청호에서 많은 종류의 cyanobacteria가 출현하였다. 이 중 *Microcystis*, *Chroococcus*, *Oscillatoria*, *Phormidium* 속이 크게 우점하였다. *Microcystis*는 8월 19일에 9,380 cells/ml로 출현하기 시작하여 전체 식물플랑크톤 현존량의 18.6%를 차지하였고, 이후 조사기간 동안 계속적으



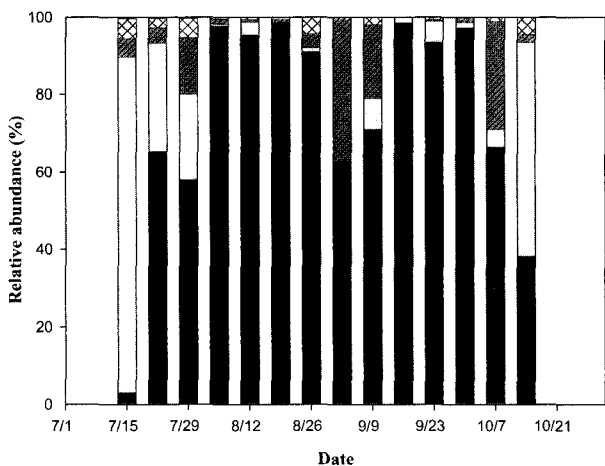
**Fig. 3.** Variations of relative abundance and standing crop of dominant genera of phytoplankton communities in Daechung Reservoir in 2003. Symbols: ▨, relative abundance; +, standing crop.

로 관찰되었다. *Chroococcus*는 조사기간 초기에 출현하였다가, 이 후 9월 9일에 다시 310 cells/ml의 현존량을 보이면서 나타나기 시작하여 9월 16일에는 15,000 cells/ml로 전체 식물플랑크톤 현존량의 80.0%를 차지하면서 우점하였다. *Oscillatoria*는 7월 22일에 2,660 cells/ml로 수층에 나타나기 시작하여 9월 2일에는 현존량이 44,130 cells/ml로 최고값을 보였고, 이 시기의 전체 식물플랑크톤의 현존량에 대한 우점 정도가 58.5%에 이르렀다. *Phormidium*은 조사기간 중기를 제외하고 계속적으로 관찰되었고, 8월 12일에는 최고 36,670 cells/ml의 현존량을 보이면서 출현하여 전체 식물플랑크톤 현존량의 73.9%를 차지하면서 우점하였다. 전 등(7)이 식물플랑크톤의 증식에 대한 희석률과 온도에 관한 영향을 조사한 결과, 5°C와 10°C와 같이 매우 낮은 온도에서 cyanobacteria 중 *Phormidium* 속이 우점하였다고 발표하였다.

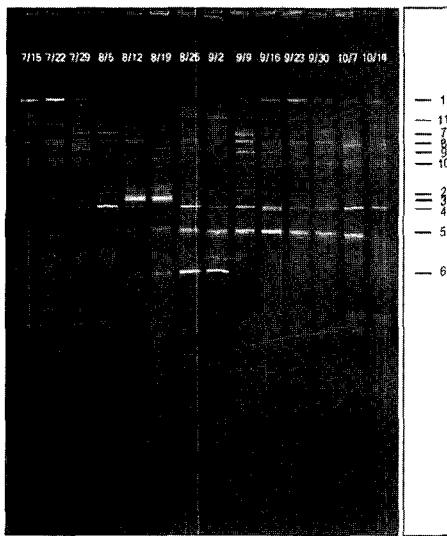
**16S rRNA의 PCR-DGGE 양상**

날짜별로 채취한 대청호 시료들로부터 전체 DNA를 획득하여 세균용 universal primer로 알려진 341F GC와 907R primer를 이용하여 얻은 PCR 증폭산물은 agarose gel 상에서 예상했던 560 bp정도에서 밴드가 나타남을 확인하였다(data not shown). 군집 다양성을 확인하는데 유용한 기법인 DGGE(20, 21)를 이용하여 시간에 따른 변화를 살펴본 결과는 Fig. 4에서 보는 바와 같다. Gel 상에서 다양한 위치의 밴드들을 확인할 수 있었고, 특히적으로 수화가 심하게 발생하였던 9월 2일을 중심으로 밴드의 양상이 변화되고 있음을 확인할 수 있었다.

DGGE profile에서 얻은 각 밴드들에 대하여 염기서열을 결정

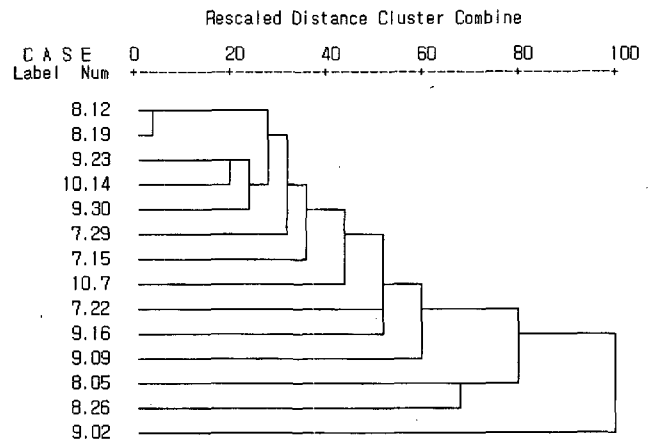


**Fig. 2.** Variation of relative abundance of phytoplankton in Daechung Reservoir in 2003. Symbols: ■, Cyanophyta; □, Bacillariophyta; ▨, Chlorophyta; ▩, Cryptophyta; ▤, Dinophyta.



**Fig. 4.** DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis) profile based on 16S rDNA generated from Daechung Reservoir. The DGGE bands (No.1-11) were excised and sequenced. Reproducibility of DGGE profiles was confirmed by three replicates of PCR of the genomic DNA.

하고, NCBI의 Genbank database를 이용하여 상동성을 비교 검색하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 11개의 밴드들에 대하여 염기서열을 결정하였고 database를 이용하여 분석하였다. 7월에서 10월 사이에 대청호에서 가장 많이 출현하는 cyanobacteria는 *Microcystis flos-aquae*(band 5)이며, 수화가 발생하는 9월 2일에 특별히 많이 보여 지고 있는 것으로는 *Oscillatoria sancta*(band 6)로 나타났다. 특이적으로, *Aphanizomenon flos-aquae*(band 3)가 수화발생 전인 8월 초에 급격히 나타났다가 사라지는 것을 알 수 있었다. 그 밖에 cyanobacteria인 *Phormidium* sp., *Synechococcus* sp. 등과 세균인 CFB group bacterium 등이 가장 유사한 것으로 분석된 개체들을 확인할 수 있었다. Fig. 4와 Table 1에서 보는 바와 같이, 9월 2일을 기점으로 수화가 발생하는 시기에



**Fig. 5.** Cluster analysis of DGGE profiles based on 16S rDNA generated from Daechung Reservoir. Label numbers mean the sampling date.

*Microcystis flos-aquae*와 *Oscillatoria sancta*가 가장 우점하고 있는 종임을 확인할 수 있었다. 이와 같은 결과는 식물플랑크톤의 현미경적 분류결과와 매우 유사하게 나타났다. 그러나 CFB group bacterium(band 7)과 *Halomicronema* sp.(band 2)의 경우는 DGGE를 이용한 분자적인 실험에서만 그 존재를 확인할 수가 있었다.

Jaspers 등(19)은 CFB group의 세균은 빈영양 환경에서 거의 드물게 나타나지만, 부영양화된 lagoon이나 규조류의 감소가 발생하는 바다에서 많이 발견되며 복잡한 거대 분자들을 분해한다고 보고하였다. 따라서 대청호에서 수화가 발생한 뒤 CFB group의 세균이 급격히 발생하는 것은 cyanobacteria의 분해와 관련되는 것으로 사료된다.

**Dendrogram 분석**

Fig. 4에서 얻은 DGGE profile상의 밴드 강도와 수를 비교하여 Fig. 5와 같은 dendrogram을 나타낼 수 있었다. 이 dendrogram은 DGGE gel에 존재하는 밴드의 유사성에 근거한 것으로(20),

**Table 1.** Identity of the bands obtained from DGGE profile of Daechung Reservoir

Band no.	Accession no. <sup>a</sup>	Closest relative	Similarity <sup>b</sup> (%)
1	AY135907	Uncultured bacterium	98% (496/506) <sup>c</sup>
2	AF320093	<i>Halomicronema</i> sp.	84% (360/424)
3	AJ293130	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	99% (534/535)
4	AJ318130	Uncultured cyanobacterium	89% (314/350)
5	AF139327	<i>Microcystis flos-aquae</i>	100% (529/529)
6	AY074801	<i>Oscillatoria sancta</i>	100% (386/386)
7	AF236016	CFB group bacterium	95% (497/522)
8	AJ575722	Uncultured Bacteroidetes bacterium	93% (376/403)
9	AF268287	Uncultured phytoplankton ESR 3	96% (485/501)
10	AB058219	<i>Phormidium</i> sp.	90% (178/196)
11	AF448079	<i>Synechococcus</i> sp.	85% (408/475)

<sup>a</sup>Nucleotide sequences can be accessed via <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/>

<sup>b</sup>Sequences were aligned to the closest relative using BLAST.

<sup>c</sup>The part of the total sequence used in alignment.

Tong과 Herbert(24)는 밴드 강도와 위치를 측정할 수 있는 Image analyzer를 사용하여 16S rDNA의 DGGE profile을 디지털화 하였고, 이는 다른 미생물 군집 사이의 유사한 정도를 연구하였다.

본 연구에서는, 시간에 따라 변화되는 정도를 그룹화하여 나타내었는데, 먼저 8월 12일과 19일은 비슷한 양상을 보이며 같은 그룹으로 묶여졌고, 특히 수화 발생이 심했던 9월 2일에서는 완전히 다른 패턴의 그룹임을 확인할 수 있었다. 9월 2일에 특이적으로 수화가 발생하였음을 간접적으로 확인할 수 있었고, 이 시기와 가장 유사한 8월 26일이 dendrogram상 가장 가깝게 나타남으로 9월 2일의 DGGE 양상과 가까울수록 수화에 관계가 있는 것으로 사료된다.

끝으로, DGGE는 신뢰성과 재현성이 있으며, 신속하다는 장점을 가지고 있으므로 전통적인 현미경을 이용한 형태학적 관찰 방법에 비해 다양한 정보를 얻을 수 있다(21). 본 연구에서도 16S rRNA gene의 DGGE 분석을 통해 *Microcystis flos-aquae*와 *Oscillatoria* spp. 등 우점 cyanobacteria의 분포 및 경시적 변화가 형태적 동정 결과와 유사함을 확인할 수 있었다. 또한 cyanobacteria에 추가하여 일부 bacteria의 분포 및 변화를 알 수 있었고, 미생물 군집의 유사성을 비교 분석할 수 있었다.

### 감사의 말

본 연구는 환경부 차세대핵심환경기술개발사업 및 KRIBB 기관유사사업의 연구비 지원에 의해 수행되었습니다.

### 참고문헌

1. 김명, 전은형, 안태영. 2003. 삼교호의 세균다양성과 계통분류학적 분석. 한국미생물학회지 39, 272-276.
2. 김범철, 김호섭, 박호동, 최광순, 박종근. 1999. 국내 호수에서 발생한 cyanobacteria의 microcystin 함량과 독성평가. 한국육수학회지 32, 288-294.
3. 박정아, 허건영, 이정숙, 오윤정, 김보연, 민태익, 김치경, 안종석. 2003. 김치의 저온 발효 중 미생물 변화 양상. 한국미생물학회지 39, 45-50.
4. 빙혜선, 이상욱, 황순진, 오인혜. 2002. 대청호에서 계절에 따른 세균군집 및 환경요인의 변화. 한국육수학회지 35, 71-78.
5. 이동훈, 김상중. 1997. 수계 생태계에서 세균 군집 구조의 분자생물학적 분석. 한국미생물학회지 33, 55-65.
6. 이현경, 김준호, 유순애, 안태석, 김치경, 이동훈. 2003. 독소생성 *Microcystis* 검출을 위한 PCR primer의 평가. 한국미생물학회지 39, 166-174.
7. 전만식, Y. Watanabe, 김범철. 1998. 하천수중에서 식물플랑크톤의 증식에 대한 희석율과 온도의 영향. 한국육수학회지 31, 328-336.
8. 정영호. 1968. 한국동식물도감. 제9권 식물편(담수조류). 문교부. 573.
9. 정준. 1993. 한국담수조류도감. 도서출판 아카데미서적. 469.
10. 조영관, 정진, 이진중. 1998. 동북호에서 장해성 조류의

계절별 동태 및 환경요인간의 상관성. 한국육수학회지 31, 345-352.

11. 홍선희, 전선욱, 안태석, 안태영. 2002. 봄철 cyanobacteria가 우점한 천호지에서 세균군집구조의 변화. 한국미생물학회지 38, 287-292.
12. Ahn, C.-Y., A.-S. Chung, and H.-M. Oh. 2002. Rainfall, phycocyanin, and N:P ratios related to cyanobacteria bloom in a Korea large reservoir. *Hydrobiologia* 474, 117-124.
13. Ahn, C.-Y., M.-H. Park, S.-H. Joung, H.-S. Kim, K.-Y. Jang, and H.-M. Oh. 2003. Growth inhibition of cyanobacteria by ultrasonic radiation: laboratory and enclosure studies. *Environ. Sci. Technol.* 37, 3031-3037.
14. Diez, B., C. Pedros-Alio, T.L. Marsh, and R. Massana. 2001. Application of Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) to study the diversity of marine picoeukaryotic assemblages and comparison of DGGE with other molecular techniques. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 2942-2951.
15. Gast, R.J., M.R. Dennett, and D.A. Caron. 2004. Characterization of protistan assemblages in the ross sea, antarctica, by DGGE. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 2028-2037.
16. Gonzalez, J.M., A. Ortiz-Martinez, M.A. Gonzalez-delValle, L. Laiz, and C. Saiz-Jimenez. 2003. An efficient strategy for screening large cloned libraries of amplified 16S rDNA sequences from complex environmental communities. *J. Microbiol. Meth.* 55, 459-463.
17. Ishii, K. and M. Fukui. 2001. Optimization of annealing temperature to reduce bias caused by a primer mismatch in multitemplate PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 67, 3753-3755.
18. Janse, I., M. Meima, W.E.A. Kardinaal, and G. Zwart. 2003. High-resolution differentiation of cyanobacteria by using rRNA-Internal Transcribed Spacer Denaturing Gradient Gel Electrophoresis. *Appl. Environ. Microbiol.* 69, 6634-6643.
19. Jaspers, E., K. Nauhaus, H. Cypionka, and J. Overmann. 2001. Multitude and temporal variability of ecological niches as indicated by the diversity of cultivated bacterioplankton. *FEMS Microbiol Ecol.* 36, 153-164.
20. Koizumi, Y., Y. Kozima, and M. Fukui. 2003. Characterization of depth-related microbial community structure in lake sediment by Denaturing Gradient Gel Electrophoresis of amplified 16S rDNA and reverse transcribed 16S rRNA fragments. *FEMS Microbiol Ecol.* 46, 147-157.
21. Muyzer, G. 1999. DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems. *Curr. Opin. Microbiol.* 2, 317-322.
22. Muyzer, G., E.C. de Waal, and A.G. Uitterlinden. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA fragments. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 695-700.
23. Muyzer, G. and K. Smalla. 1998. Application of DGGE and TGGE in microbial ecology. *Antonie van Leeuwenhoek* 73, 127-141.
24. Tong, Z. and H.P.F. Herbert. 2000. Digitization of DGGE profile and cluster analysis of microbial communities. *Biotechnol. Lett.* 22, 399-405.
25. Wood, L.W. 1985 Chloroform-methanol extraction of chlorophyll-a. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* 42, 38-43.

(Received August 12, 2004/Accepted September 7, 2004)

---

**ABSTRACT : Analysis of Microbial Communities During Cyanobacterial Bloom in Daechung Reservoir by DGGE**

**So-Ra Ko, Seong-Joo Park<sup>2</sup>, Chi-Yong Ahn, Aeran Choi, Jung-Sook Lee<sup>1</sup>, Hee-Sik Kim, Byung-Dae Yoon, and Hee-Mock Oh\*** (Environmental Biotechnology Laboratory, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-333, Korea. <sup>1</sup>Korean Collection for Type Cultures, Korea Research Institute of Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-333, Korea. <sup>2</sup>Department of Microbiology, Daejeon University, Daejeon 300-716, Korea)

The change of bacterial communities during cyanobacterial bloom was analyzed by DGGE in Daechung Reservoir from July to October in 2003. The traditional morphological analysis showed that the genera of *Microcystis*, *Chroococcus*, *Oscillatoria*, and *Phormidium* were dominated. The most frequent band in the DGGE profile by 16S rDNA sequence analysis was identified as *Microcystis flos-aquae* and the cyanobacterial bloom was peaked on September 2. *Oscillatoria* spp. were also identified and *Aphanizomenon flos-aquae* dominated in the middle of August. Judging from the analysis of the digitalized DGGE profiles using the cluster analysis technique, the microbial community on September 2 was considerably different from others. Consequently, it seems that the gene fingerprinting method can give not only the similar results to the traditional morphological method but also additional information on the bacterial species and similarity among the examined microbial communities.