

## 몽골 흡스굴 호수 수층에서 유기물질 분해세균의 분포

정유정<sup>1</sup> · 정다운<sup>1</sup> · 김주영<sup>1</sup> · 조영근<sup>1</sup> · 임정한<sup>2</sup> · 이흥금<sup>2</sup> · 안태석<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>강원대학교 환경학과, <sup>2</sup>한국해양연구원 부설 극지연구소

동토시대 거대 담수호에 서식하는 중속영양세균 군집의 생태학적 기능을 파악하기 위하여, 몽골 북부의 동토시대 경계에 위치한 흡스굴 호수에서, 전체 세균군집의 구조와 유기물질을 분해할 수 있는 미생물 군집의 구조를 수심별로 비교·분석하였다. 환경인자 분석결과, 수심 5~10 m 사이에서 thermocline과 chemocline이 관찰되었다. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE)로 전체 세균군집의 구조를 수심별로 비교한 결과 0~5 m 사이에서 군집구조의 변화가 컸고, 10 m 이상에서는 *Acidovorax facilis*를 위주로 비교적 안정된 군집을 형성하였다. 10°C에서 고분자 유기물 분해 활성도(protease, cellulase, amylase, lipase)가 높은 균주들을 탐색하여 23개 균주를 선별하였다. 표층수로부터 *Acidovorax defluvii*와 *Sphingobacterium faecium*이 분리되었는데 cellulase 활성이 높았다. 수심 2 m, 5 m 및 10 m 이상의 시료에서 분리된 세균군집은 각각, *Flavobacterium succinicans*, *Mycoplana bullata*, *A. facilis*가 우점하였다. *F. succinicans*는 높은 protease 활성을 보였고, 수심 5 m의 *M. bullata*는 protease와 cellulase 활성이 있었지만, 상대적으로 약한 활성을 보였다. 수심 10 m의 *A. facilis* 균주들은 cellulase 또는 lipase를 서로 배타적으로 발현하였다. 온도별 성장속도를 분석한 결과 표층(0~5 m) 세균들은 기회성 호냉성 세균이었고, 심층(≥10 m)에서 분리된 균주들은 10°C 이하에서 성장률이 낮았다. 심층의 저온·빈영양 상태 때문에 심층세균들간의 경쟁에서 빠른 저온 성장이 요구되지 않고, 상층의 경우 육상 또는 식물 플랑크톤으로부터 영양물질이 공급되므로 저온에서 빠른 성장 속도를 보이는 세균들이 상층에 주로 분포하는 것으로 해석되었다. 따라서 흡스굴 호수 수층에서 관찰된 세균군집의 종 분포와 물질분해 작용의 성층화는, 한냉대 빈영양 담수 호수에서 분해자 군집들의 생태학적 기능이 0~10 m 수심의 표층에 집중됨을 시사하였다.

**Key words** □ decomposer, DGGE, hydrolytic enzymes, oligotrophic lake, psychrophiles

영구동토시대(permafrost zone)의 경계 지역이 기후변화에 가장 민감하게 반응하는 생태계 중 하나임을 고려할 때, 바이칼 지역 호수 생태계에서 일어나는 물질과 에너지 순환 과정의 규모와 장·단기적 변동에 대한 이해는 지구 생태계의 변동 기작을 도출하는데 필수적이다. 흡스굴 호수(Lake Khuvsgul)는 중앙아시아 내륙인 몽골 북부에 위치해 있으며, 바이칼 지역에서 바이칼 호수 다음으로 크고 깊은 호수로서, 총 길이는 136 km, 폭은 20 km, 최대 수심은 262 m, 평균 수심은 139 m 호수의 총 면적은 2,760 km<sup>2</sup>이며, 배수분지는 5,130 km<sup>2</sup>이고, 그 저수량이 380 조 리터에 달한다(10). 이 저수량은 지구 전체 담수의 1~2%에 해당하며, 세계 14번째로 큰 호수 수체를 형성하고 있다. 흡스굴호는 빈영양 호수이나, 390여 종의 다양한 생물들이 서식하고 있으며, 이중 20개의 저서성 고유종들이 분포하고 있다(7).

흡스굴호는 영구동토의 경계가 되는 지점에 위치하고 있어 호수의 수층은 빈영양상태이면서 연중 저온의 수온이 유지되는 한냉성 기후조건을 갖는다. 따라서 흡스굴호의 수층은 생물에 의한 생태계 생산성이 저온과 빈영양에 의해 이중적으로 제약되는 환경이라는 특징이 있다. 이러한 환경에서 서식하는 중속영양세균은 호냉성이면서 유기영양물질에 대한 높은 흡수력과 분해력

을 발휘할 것으로 예상된다. 일반적으로 빈영양호에서 세균은 낮은 농도의 용존 유기물질을 축적하여 상위의 생물군집에 전달하는 이차생산자의 역할을 갖고 있다. 따라서 흡스굴호의 호냉성 세균은 분해자로서의 역할 이외에도 전체 호수 생태계의 에너지 및 탄소물질 순환의 고리(linker)로서 작용할 수 있다(1).

이와 같이, 흡스굴과 같은 극한지 빈영양호에서 중속영양세균의 군집구조와 분포 양상에 대한 이해는 이 특수한 생태계에서 물질순환과 에너지흐름의 동태를 파악하는데 필수적이다. 그러나 지금까지 흡스굴호에 관한 연구는 기후학, 지리학적 연구가 대부분이었고, 수환경에서 중속영양세균들의 분포와 물질분해기능과, 미생물학적 기능이 생태계 물질순환에 기여하는 정도에 대한 조사는 미미하였다. 이 연구에서는 동토시대의 경계에 위치한 흡스굴 호수의 중속영양세균 군집의 분해자로서 생태학적 기능을 파악하기 위하여 유기물질을 분해할 수 있는 미생물 군집을 수심별로 탐색하여 분해자 활성의 공간적 분포를 파악하였다. 수층 세균의 온도별 성장 정도와 물질분해능을 분석하였고, 수심에 따른 종 조성 및 성장특성이 성층화 되어 있는가를 확인하였다.

### 재료 및 방법

#### 시료채취 및 환경요소 측정

시료의 채수는 몽골 흡스굴 호수의 남쪽 수변(50°51'15.71"N,

\*To whom correspondence should be addressed.  
Tel: 82-33-250-8574, Fax: 82-33-251-3991  
E-mail: ahnts@kangwon.ac.kr

100°1778.89"E)에서 2008년 8월 26일에 실시하였다. Water sampler를 이용하여 각각 0, 2, 5, 10, 25, 50 m 수심별로 시료를 채수하였다. Polymerase Chain Reaction (PCR) 분석을 위하여 현장에서 채수된 시료 중 500 ml을 0.2 µm pore-size filter (Durapore, Ø47 mm)를 이용하여 여과한 후, 여과한 filter를 건조시켜 밀봉된 멸균 effendorf tube (1 ml)에 넣어 냉장보관 상태로 실험실로 이송하여 분석하였다. 수온, 용존산소, 전기전도도와 pH 등의 일반환경 자료는 YSI 85 (YSI Inc., USA)와 ISTEK 71P (Istek, Korea)를 이용하여 현장에서 측정하였다.

### Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE)

DGGE 분석을 위하여 DNA는 Ultra Clean Soil kit (MO BIO, USA)을 이용하여 추출하였고 PCR을 수행하여 증폭하였다. 이 연구에서 사용된 primer set은 9-27f (5'-GAG TTT GAT CCT GGC TCA G-3')와 1542r (5'-AGA AAG GAG GTG ATC CAC TCC-3')였다(8). 증폭된 PCR 산물은 DGGE를 위한 2차 PCR 주형으로 사용하였으며 P2 (5'-GAG TTT GAT CCT GGC TCA G-3')와 P3 (5'-AGA AAG GAG GTG ATC CAC TCC-3') primer set (9)으로 증폭시켰다. 각 PCR 반응은 30 ng의 주형 DNA, 200 µM dNTPs, 10 µM primer, 1 unit/µl DNA *Taq* polymerase를 각각 첨가하였으며, 최종 부피는 50 µl로 하였다. PCR 과정 후 증폭된 DNA는 agarose gel에서 전기영동한 뒤 ethidium bromide로 염색하여 DNA band를 확인하였다.

P2/P3 PCR 산물을 대상으로 하여 Dcode System (Bio-Rad Laboratories, USA)으로 DGGE를 수행하였다. Denaturing gradient gel은 6% (w/v) polyacrylamide gel (acrylamide: bisacrylamide=37.5:1)에 urea와 formamide 등 변성제가 30~65% 까지 농도구배가 수직으로 형성되도록 제작하였다. 이때 사용한 100% 변성제는 7M urea와 40% (v/v) formamide이었다. 제작된 gel에 40 µl의 PCR 증폭산물을 2× gel loading dye (0.05% bromophenol blue, 0.05% xylene cyanol, 70% glycerol) 20 µl와 혼합한 후 0.5× TAE buffer (20 mM Tris, 10 mM acetic acid, 0.5 mM EDTA, pH 8.0)에서 60°C, 200 V 설정으로 8시간 동안 전기영동을 실시하였다. 전기영동 후 SYBR Gold (Invitrogen, USA)로 염색하여 SL-20 DNA Image Visualizer (Seoulin Bioscience, Korea)로 band 패턴을 확인하였다.

### 세균의 분리

세균의 분리를 위하여 Nutrient Agar (BD, USA)와 R2A (BD) 배지를 각각 1/2, 1/5, 1/10로 희석하여 0.5 ml의 시료를 도말 한 후, 10°C에서 48시간 동안 배양하여 heterotrophic bacteria를 분리하였다. 배양결과 1/5로 희석한 R2A 배지에서 균이 가장 잘 자라는 것을 확인할 수 있었다. 이 배지에서 나타난 colony를 크기가 크고 형태가 다른 것을 선택하여 수심별로 12개씩 총 72개를 R2A 1/5 희석배지에 접종한 후 4°C 또는 10°C에서 배양하여 순수분리 하였다.

### 유기물질 분해능의 측정

Cellulase 검출배지(1% sodium carboxymethyl cellulase, 1% tryptone, 0.5% yeast extract, 1% NaCl, 1.5% agar), amylase 검출배지(0.3% beef extract, 2% soluble starch, 0.5% peptone, 0.5% NaCl, 1.5% agar), protease 검출배지(0.5% pancreatic digest of casein, 0.25% yeast extract, 0.1% glucose, 1% skim milk, 1.5% agar), lipase 검출배지(1% Tween 80, 1% peptone, 0.5% NaCl, 0.01% CaCl<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, 1.5% agar)에 형성된 colony 중에서 투명환(clear zone)이 가장 큰 23개의 균주를 선발하였다. 각각의 기질에 대한 활성도는 10°C에서 48시간 배양 후 나타나는 colony 주위의 환의 지름을 0.05 mm 측정단위의 vernier calipers로 외경을 측정하여 기록하였고, 환의 크기에 따라 1~5 mm는 +, 6~9 mm는 ++, 10~13 mm는 +++, 14 mm 이상은 ++++ 로 등급을 나누어 표기하였다. 선발한 균주는 멸균된 20% glycerol에 동결하여 -70°C에서 보존하였다.

### 균주의 성장 속도

각 균주의 최적 성장 조건을 알기 위하여 배양온도를 다르게 하면서 분리 균주의 생장률을 측정하였다. 분리한 균주를 10°C에서 48시간 배양한 후 R2 Broth (0.05% yeast extract, 0.05% proteose peptone No.3, 0.05% casamino acids, 0.05% dextrose, 0.05% soluble starch, 0.03%, sodium pyruvate, 0.03% dipotassium phosphate, 0.005% magnesium sulfate)에 1% (v/v) 농도로 접종하여 0°C, 4°C, 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C, 37°C, 42°C에서 배양하였다. 균주의 생장정도는 600 nm에서의 optical density (OD<sub>600</sub>)를 시간에 따라 기록하여 측정하였다.

### 16S rRNA 유전자 염기서열 분석

선발한 균주를 동정하기 위하여 16S rRNA 염기서열을 분석하였다. Universal primer (27F; 5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3', 1492R; 5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3')를 사용하여 각 균주의 16S rRNA 유전자를 PCR로 증폭하였으며, primer 518F (5'-CCA GCA GCC GCG GTA ATA CG-3') 또는 800R (5'-TAC CAG GGT ATC TAA TCC-3') (11)과 BigDye<sup>®</sup> Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems Inc., USA)을 사용하여 염기서열을 분석하였다. 각 균주의 염기서열은 Classifier (12)와 RNA Database Project Release 10.9 (5)와 대조하였으며, Taxonomic Outline for Bacteria and Archaea, Release 7.7 (6)에 따라 종명을 동정하였다.

DGGE의 gel에서 우점하는 세균종을 동정하기 위하여 8개의 강한 형광발색을 보이는 band들을 추출하고 그 염기서열을 분석하였다. DGGE 실시 후 acrylamide gel 상에서 나타난 각각의 band를 멸균된 칼로 잘라내어 증류수 50 µl에 넣고 하루 동안 4°C에서 방치하여 DNA를 회수하였다. 이를 주형으로 하여 GC clamp가 부가되지 않은 P2와 P3 primer를 이용하여 위와 동일한 조건으로 핵산을 증폭시킨 후 염기서열을 분석하였다. 각 DGGE band를 형성하는 세균종을 16S rRNA 유전자 염기서열에 근거하

**Table 1.** Environmental parameters at the sampling site of Lake Khuvs gul on Aug. 26, 2008

| Depth (m) | Temperature (°C) | pH  | Dissolved oxygen (mg/L) | Conductivity (μs/cm) |
|-----------|------------------|-----|-------------------------|----------------------|
| 0         | 12.8             | 8.4 | 8.1                     | 1.86                 |
| 2         | 12.5             | 8.3 | 8.0                     | 1.52                 |
| 5         | 12.5             | 8.4 | 8.0                     | 1.51                 |
| 10        | 11.8             | 8.4 | 7.5                     | 1.43                 |
| 25        | 11.9             | 8.4 | 7.8                     | 1.36                 |
| 50        | 11.6             | 8.4 | 7.9                     | 1.12                 |

여, 위에 기술된 방법들을 사용하여 동정하였다.

### 결 과

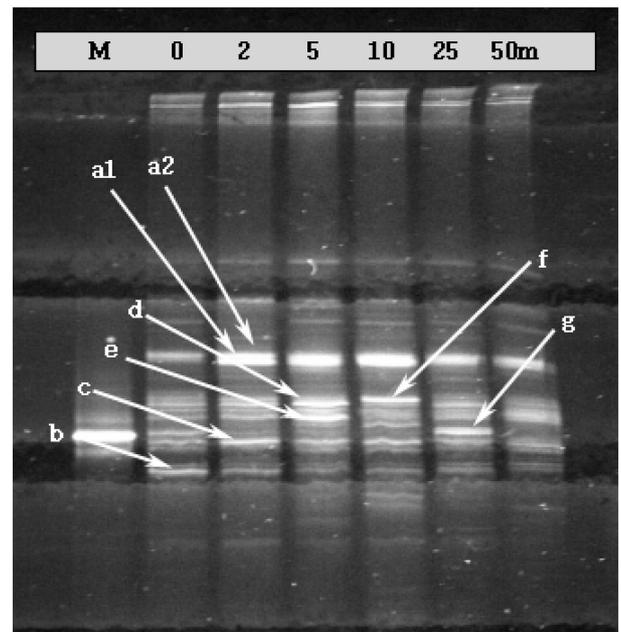
#### 환경요소의 수심 별 분포

수심 별로 측정된 환경요소의 분포는 Table 1에서 나타난 것과 같다. 당시 기온은 하루 중에 영하에서 영상 15°C까지 변화 하였으나 수온은 11.6~12.8°C로 수심별 변이도가 작았다. 용존산소와 pH도 수심별 변화가 적었으나 전기전도도는 0~2 m 사이에서 1.86~1.52로, 5~10 m 사이에서 1.51~1.43으로 급변하였다. 위 4가지 환경요소의 수심별 차이에 근거하여 수층의 성층화를 해석하면, 5~10 m 사이에서 chemocline이 형성된 것을 확인할 수 있고, 이 수층에서 상대적으로 가장 큰 온도변이를 보여, chemocline을 형성할 수준의 thermocline이 존재함이 관찰되었다. 전기전도도 차이에 의하면 표층과 2 m 사이의 수계화학적 조성 에 큰 차이가 있었다.

#### 전체 세균군집의 수직분포

수심에 따라 전체적으로 비슷한 종이 분포하는 것으로 보였으나 각 수심별로 우점하는 band는 다르게 나타났다(Fig. 1). 수심 2~10 m에서 가장 강하게 검출된 band a1과 a2는 염기서열 분석에서 *Flavobacterium* sp.로 동정되었고, a1의 경우 수심 0 m에서도 가장 우점하였다. Band b는 표층에서 가장 많이 분포하였고 *Aquamonas* sp.로 동정되었다. Band c는 모든 수심에 존재하면서 수심 2 m에서 가장 많은 양이 측정되었다. 이 band는 *Curvibacter* sp.로 동정되었다. Band d와 e는 표층과 2 m 수심에서 소량 분포하고 5 m 수심에서 최대량이 측정되었다. 각각의 band는 *Flavobacterium succinicans*와 *Herbaspirillum* sp.로 동정되었다. Band f는 10 m 수심에서 특징적으로 많이 분포하는 세균종으로 판단되며 *Acidovorax* 종으로 동정되었다. Band g는 25 m 수심에서 특징적으로 분포하였고 *Acidovorax* 종으로 동정되었다. 50 m 깊이에서 채취된 시료의 세균군집은 band g를 형성한 종을 제외하고는 25 m 수심의 세균군집과 유사한 양상을 보였다.

수심별로 살펴보면, 표층과 5 m 깊이에서 나타나는 세균 분포 양상은 비교적 비슷하였으나, 표층에서 뚜렷하게 나타나던 band b가 수심이 깊어짐에 따라 점차 감소하였다. 또한, 표층에 비해 2 m 깊이에서 band a와 c가 두드러지게 나타났다. 한편, 수심



**Fig. 1.** DGGE band patterns of P2/P3 PCR products. Labels: M=*E. coli*; 0~50 m=depth of sampling in Lake Khuvs gul; a-g=bands isolated and sequenced for identification.

10 m의 세균군집의 분포가 상층과 달리 변하는 양상을 보였는데, 이 지점은 현장의 환경요인을 조사한 결과와 비교했을 때, 수온과 용존산소 농도가 조사 깊이 중 가장 큰 변화를 보여, 물리화학적 수층성층화와 세균군집 구조의 성층화 지점이 일치하였다. 수온의 경우 5 m에서는 12.5°C이었으나 10 m에서는 11.8°C로 감소하였고, 용존산소의 농도는 7.5 mg/L로 조사 지점 중 가장 낮았다. 다른 수심에서 거의 나타나지 않던 band f가 이 지점에서 진하게 나타나면서, 10 m 수심에서부터 특징적으로 나타나는 종임을 알 수 있었다.

#### 세균의 분리, 동정 및 고분자 유기물 분해능 측정

유기물 분해능이 높은 23균주를 Table 2에 제시하였다. 수심별로 보면, 단백질 분해 활성은 2 m에서 가장 높았고, 단백질을 분해하는 세균은 모든 수심에서 검출되었다. Cellulase 분비세균은 표층에서부터 10 m까지 분포하였고, 수심 25 m 이하에서는 분포하지 않았다. Amylase 활성을 가진 균주의 검출빈도는 매우 낮았으며 표층에서 한 균주, 10 m에서 한 균주가 검출되었다.

**Table 2.** Identification and hydrolytic activities of 23 selected isolates

| Depth (m) | Strain name | Species name <sup>a</sup>              | Protease <sup>b</sup> | Cellulase <sup>b</sup> | Amylase <sup>b</sup> | Lipase <sup>b</sup> |
|-----------|-------------|--|-----------------------|------------------------|----------------------|---------------------|
| 0         | 1-A4        | <i>Acidovorax defluvii</i>             | ++                    | ++                     | ++++                 | -                   |
|           | 1-B1        | <i>Sphingobacterium faecium</i>        | -                     | ++                     | -                    | -                   |
| 2         | 1-C4        | <i>Flavobacterium succinicans</i>      | +++                   | +                      | -                    | -                   |
|           | 1-D4        | <i>Flavobacterium succinicans</i>      | +++                   | +                      | -                    | -                   |
|           | 1-D5        | <i>Flavobacterium succinicans</i>      | ++++                  | -                      | -                    | -                   |
|           | 1-D6        | <i>Flavobacterium succinicans</i>      | ++++                  | +                      | -                    | -                   |
| 5         | 1-E1        | <i>Mycoplana bullata</i>               | +                     | +                      | -                    | -                   |
|           | 1-E2        | <i>Mycoplana bullata</i>               | +                     | +                      | -                    | -                   |
|           | 1-E3        | <i>Mycoplana bullata</i>               | +                     | ++                     | -                    | -                   |
|           | 1-E6        | <i>Acidovorax facilis</i>              | +                     | +                      | -                    | +                   |
| 10        | 2-A1        | <i>Acidovorax facilis</i>              | -                     | +                      | ++++                 | +                   |
|           | 2-A2        | <i>Acidovorax facilis</i>              | ++                    | +                      | -                    | -                   |
|           | 2-A3        | <i>Acidovorax facilis</i>              | +                     | +                      | -                    | +                   |
|           | 2-A4        | <i>Novosphingobium aromaticivorans</i> | ++                    | +                      | -                    | -                   |
|           | 2-A5        | <i>Acidovorax defluvii</i>             | ++                    | -                      | -                    | -                   |
|           | 2-A6        | <i>Acidovorax facilis</i>              | ++                    | +                      | -                    | -                   |
|           | 2-B1        | <i>Acidovorax facilis</i>              | +                     | +                      | -                    | -                   |
| 25        | 2-C1        | <i>Acidovorax facilis</i>              | ++                    | -                      | -                    | +                   |
|           | 2-C2        | <i>Acidovorax facilis</i>              | +                     | -                      | -                    | +                   |
|           | 2-C3        | <i>Acidovorax facilis</i>              | ++                    | -                      | -                    | +                   |
|           | 2-C4        | <i>Acidovorax facilis</i>              | +                     | -                      | -                    | +                   |
|           | 2-C6        | <i>Acidovorax facilis</i>              | ++                    | -                      | -                    | +                   |
| 50        | 2-F6        | <i>Acidovorax facilis</i>              | +                     | -                      | -                    | -                   |

<sup>a</sup> Isolates were identified based on their 16S rRNA gene sequences.

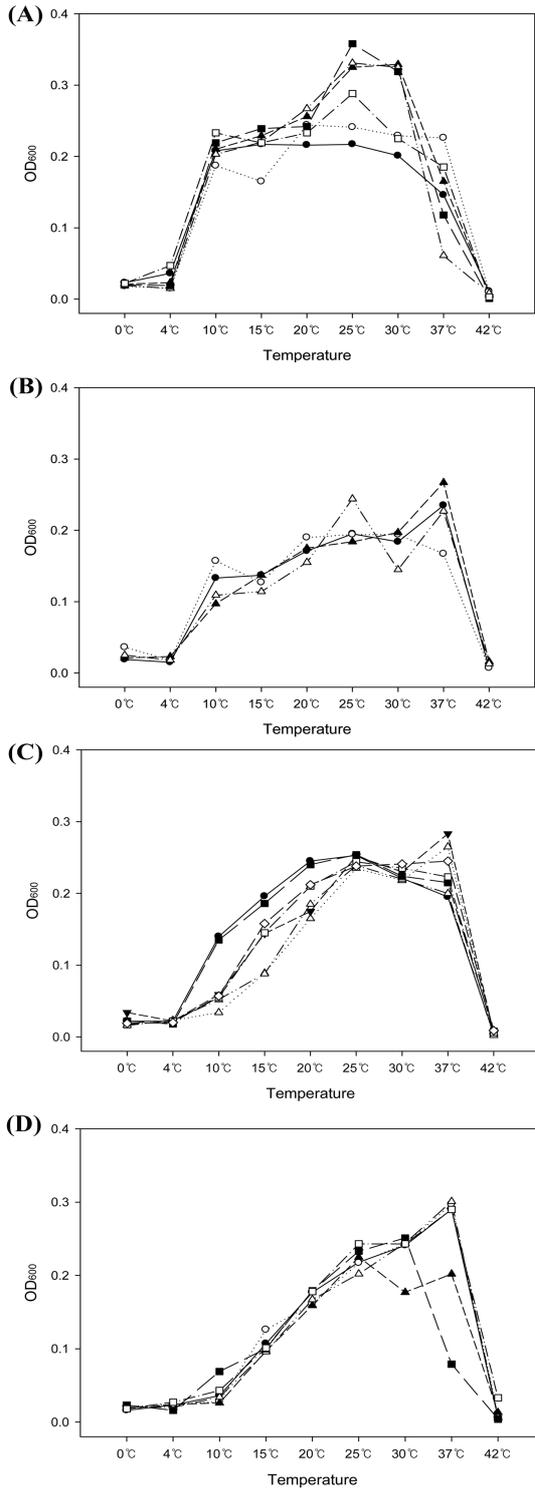
<sup>b</sup> Symbols indicate the diameter of clear zones of colonies: '-' = no clear zone; '+' = 1~5 mm; '++' = 6~9 mm; '+++ = 10~13 mm; '++++' = larger than or equal to 14 mm.

Lipase 활성을 보이는 균주는 5 m 이상의 수심에서만 관찰되었다. 세균을 동정한 결과, 수심별로 뚜렷한 차이를 보였다(Table 2). 표층부터 10 m까지 다양한 세균종들이 분포하였고 10~50 m 사이에는 *Acidovorax facilis* 한 종이 우점하였다. 표층에서 검출된 *Acidovorax defluvii*는 protease, amylase, cellulase 활성이 모두 높았다. 그러나 10 m에서 검출된 *A. defluvii* 균주는 protease 활성만 발현되었고 cellulase, amylase는 발현되지 않았다. 수심 2 m에서는 *Flavobacterium succinicans*가 우점적으로 검출되었고 그들은 protease 활성이 매우 높다는 특징을 가졌다. 수심 5 m에서만 검출된 *Mycoplana bullata* 균주들은 약한 protease 활성과 cellulase 활성을 가졌으나 lipase와 amylase는 검출되지 않았다. 10 m 이하의 수심에서는 *Acidovorax facilis*가 주로 검출되었고, protease 활성이 높고 lipase 활성을 보인다는 특징이 있었다. 이 균의 cellulase 활성은 수심별로 다르게 나타났다. 즉 수심 10 m에서 발견된 균주는 cellulase 활성이 있었으나 25 m보다 깊은

수심에서 검출된 *A. facilis*는 cellulase 활성이 없었다.

#### 고분자 유기물 분해 균주의 온도별 성장도

*In situ* 온도와 유사한 10°C에서 세균들을 배양하고 분리하였으나 각 균주들은 온대 지역의 상온이나 항온동물의 체온 영역(25~37°C)에서 성장속도가 가장 높았다(Fig. 2). 수심별로 관찰하면 표층, 2~5 m 그리고 10 m 이상의 심층 등 3가지의 온도별 성장도 분포를 보였다. 표층에서 분리된 2개의 유기물 분해 균주는 10°C에서 37°C까지 범위에서 성장 속도가 거의 일정하게 유지되는 eurythermophilic 양상을 보인 점이 특징적이었다. 수심 2 m와 5 m에서 분리된 균주들의 경우, 25~37°C 사이에서 좀 더 높은 성장 속도를 보이는 점이 표층에서 분리된 균주들과 차별되는 점이었다. 10 m 이상의 수심에서 분리된 유기물 분해 균주들의 경우에는 10°C에서 성장 속도가 상층에서 분리된 균주들에 비해서 현저히 낮고, 30°C 또는 37°C까지 점진적으로 성장도가



**Fig. 2.** Growth of 23 selected isolates in R2 broth at nine different temperatures after 48 h of cultivation. (A) Strains isolated from 0~2 m depth (Symbols: ○, 1A4; ●, 1B1; △, 1C4; ▲, 1D4; □, 1D5; ■, 1D6). (B) Strains isolated from 5 m depth (Symbols: ○, 1E1; ●, 1E2; △, 1E3; ▲, 1E6). (C) Strains isolated from 10 m depth (Symbols: ○, 2A1; ●, 2A2; △, 2A3; ▲, 2A4; □, 2A5; ■, 2A6; ◇, 2B1). (D) Strains isolated from 25~50 m depth (Symbols: ○, 2C1; ●, 2C2; △, 2C3; ▲, 2C4; □, 2C6; ■, 2F6).

향상되는 양상을 보였다.

### 고찰

이 연구에서, 몽골 홉스쿨 호수에 분포하는 고분자 유기물 분해 기능이 우수한 균주로는 *F. succinicans*와 *A. facilis*가 각각 성층화된 수심의 상층(0~5 m)과 하층 (10~50 m)에서 각각 우점하였다. 이 두 종 또는 이와 연관된 종들이 DGGE 패턴에서도 각각 상층과 하층에서 각각 우점하는 것으로 나타나서, 배양된 유기물 분해 균주들과 배양하지 않고 16S rRNA 유전자 증폭 빈도에 의해 비교 정량한 세균군집의 동정이 일치하였다. 이는 *F. succinicans*와 *A. facilis*가 홉스쿨 호수의 수층에서 실질적인 우점종으로 작용함을 의미한다. 따라서 홉스쿨 호수에서 고분자 유기물을 분해하여 에너지와 필요한 물질을 획득하는 분해자 역할을 수행하는 종속영양세균 군집의 구조는 수심별로 다르다고 볼 수 있다.

온대지방의 호수들과 달리 홉스쿨 호수 수층의 특이한 점은 사용하는 유기물질의 종류와 세균 종의 분포가 2 m 이하의 작은 수심의 차이로 성층화 되어 있다는 점이다. Protease와 cellulase의 활성정도는 표층과 2 m에서 분리된 균주들 간에 상당한 차이를 보였다. 한편 25 m 이상의 수심에서는 cellulase 분해 활성이 높은 균주가 검출되지 않았고, lipase 활성을 보이는 균주들은 10 m 이상의 수심에 주로 분포하였다. 이는 검출된 균주들의 생태학적 지위가 수심별로 상당히 상이함을 뜻하며, 표층에서는 주로 cellulose와 starch 등이 이용되고 2 m 수심에서는 단백질 이용도가 높으며 5~10 m 사이의 수심에서는 cellulose를 에너지원으로 사용하는 균주들이 분포한다고 볼 수 있다. 수심 25 m 이상의 깊이의 lipase 활성이 높아서 지방질이 주로 에너지원으로 사용됨을 시사하였다. Cellulose와 starch는 육상식물 또는 일부 식물 플랑크톤의 생물량을 구성한다(3, 4). 수심 2 m의 시료는 단백질 분해 효소의 활성도가 높은 균주들이 주로 분리되었는데, 홉스쿨과 기후대가 유사한 곳에 위치한 바이칼 호수의 경우 2 m 수심에 식물 플랑크톤이 주로 분포한다는 점을 참조하여 해석할 수 있다(2). 홉스쿨 호수의 2 m 수심에서, cellulase와 amylase의 활성이 높은 균주는 표층에 비하여 적게 분포하므로, 표층에 서식하는 종속영양세균의 에너지원은 주로 육상에서 유래하는 식물의 부스러기들일 것으로 생각된다. 반면 2 m 수심의 세균들은 cellulose 구성도가 낮은 식물 플랑크톤 생물량을 주된 영양원으로 작용하고, 그보다 깊은 수심의 경우 분해되고 남은 난분해성인 cellulose가 주된 에너지원으로 작용하는 것으로 생각된다. 수심 25 m 이상의 심층에서는 cellulase 활성을 보이는 세균이 우점하지 않고 lipase 활성을 보이는 세균들이 주로 검출되었으므로 홉스쿨 호수의 심층에서는 섬유소가 고갈되고, 생체 구성물질의 재순환을 통해 공급되는 지질이 주된 영양물질원인 것으로 생각된다.

분리된 균주들의 온도별 성장도 또한 수심별 성층화를 보여 주었다. 특히 0~5 m 사이의 균주들이 10°C의 저온에서 활성이 높은 반면, 심층의(10~50 m)의 균주들은 저온에서 활성도가 낮았

다. 이는 0-5 m 표층에서 유기물 공급이 상대적으로 원활하기 때문에, 저온에서 높은 유기물 분해능을 갖는 세균이 표층수에서 성장속도에서 우위를 점할 수 있기 때문으로 사료된다.

이 연구는 흡스굴 호수의 중속영양세균 군집이 수심 별로 다른 종이 분포하도록 구성 되었으며, 표층을 위주로 활발한 고분자 유기물질 분해작용을 수행하고 있음을 밝혔다. 또한 수심 별로 사용되는 유기물질의 종류가 상이하고, 호냉성 세균은 주로 상층에 분포함을 밝혔다. 이 연구에서 관찰된 흡스굴 호수의 성층화된 분해자 군집구조와 물질분해 활성은 한대 담수 호수에서 분해자 군집의 성층화된 생태학적 기능 분담이 확인함을 확인해주었다.

### 감사의 말

이 연구는 한국해양연구원 부설 극지연구소의 2008년도 위탁 연구비로 지원받은 과제입니다. 참여 연구자(정유정, 정다운, 김주영, 조영근)는 2단계 BK21 사업의 지원비를 받았습니다.

### 참고문헌

1. 김명운, 강찬수, 김상중. 1989. 소양호 수중 생태계에서의 세균 생체물질량의 분포. 한국미생물학회지 27, 130-138.
2. 홍선희, 김옥선, 전선옥, 유재준, 안태석. 2002. 해빙기 바이칼호에서 부유세균과 aggregates에 부착한 세균의 군집구조. 한국미생물학회지 38, 192-197.
3. Anderson, K.L. 2000. Degradation of cellulose and starch by anaerobic bacteria, p. 359-386. In R. Doyle (ed.), Glycomicrobiology, Kluwer Academic/Plenum Press, New York, N.Y., USA.
4. Charles, Jr., E.C. 2003. Nature's giant molecules: The plant kingdom, pp. 307-327. Giant Molecules (2<sup>nd</sup> ed).
5. Cole, J.R., Q. Wang, E. Cardenas, J. Fish, B. Chai, R.J. Farris, A.S. Kulam-Syed-Mohideen, D.M. McGarrell, T. Marsh, G.M. Garrity, and J.M. Tiedje. 2009. The ribosomal database project: improved alignments and new tools for rRNA analysis. *Nucleic Acids Res.* 37, 141-145.
6. Garrity, G.M., T.G. Lilburn, J.R. Cole, S.H. Harrison, J. Euzéby, and B.J. Tindall. 2007. Taxonomic outline of the bacteria and archaea, release 7.7. Michigan State University Board of Trustees, East Lansing, MI, USA.
7. Karabanov, E., D. Williamsa, M. Kuzminb, V. Sidelevac, G. Khursevicha, A. Prokopenkoa, E. Solotchinae, L. Tkachenkob, S. Fedenyad, E. Kerberb, A. Gvozdkovb, O. Khlustovf, E. Bezruk-ovaf, P. Letunovaf, and S. Krapivinaf. 2004. Ecological collapse of Lake Baikal and Lake Hovsgol ecosystems during the Last Glacial and consequences for aquatic species diversity. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 209, 227-243.
8. Liesack, W., S. Sela, H. Bercovier, C. Pitulle, and E. Stackebrandt. 1991. Complete nucleotide sequence of the *Mycobacterium leprae* 23S and 5S rRNA genes plus flanking regions and their potential in designing diagnostic oligonucleotide probes. *FEBS Lett.* 281, 114-118.
9. 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. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 695-700.
10. Prokopenkoa, A.A., M.I. Kuzminb, D.F. Williamsa, V.F. Geletyb, G.V. Kalmychkovb, A.N. Gvozdkovb, and P.A. Solotchin. 2005. Basin-wide sedimentation changes and deglacial lake-level rise in the Hovsgol basin, NW Mongolia. *Quat. Int.* 136, 59-69.
11. Siripattanakul, S., W. Wirojanagud, J. McEvoy, T. Limpiyakorn, and E. Khan. 2009. Atrazine degradation by stable mixed cultures enriched from agricultural soil and their characterization. *J. Appl. Microbiol.* 106, 986-992.
12. Wang, Q., G.M. Garrity, J.M. Tiedje, and J.R. Cole. 2007. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 5261-5267.

(Received February 27, 2009/Accepted April 27, 2009)

### ABSTRACT : Distribution of Bacterial Decomposers in Lake Khuvs gul, Mongolia

**You-Jung Jung<sup>1</sup>, Dawoon Jung<sup>1</sup>, Ju-Young Kim<sup>1</sup>, Young-Gun Zo<sup>1</sup>, Joung Han Yim<sup>2</sup>, Hongkum Lee<sup>2</sup>, and Tae-Seok Ahn<sup>1\*</sup>** (<sup>1</sup>Department of Environmental Science, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Republic of Korea, <sup>2</sup>Polar Biocenter, Korea Polar Research Institute, KORDI, Incheon 406-840, Republic of Korea)

To understand the ecological function of heterotrophic bacterial community in water column of large freshwater lakes in the permafrost zone, we investigated the structure and function of bacterial community in Lake Khuvs gul, Mongolia. Species composition of overall bacterial community was analyzed by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) of 16S rRNA gene fragments, and bacteria that can be cultured at 10°C were isolated and characterized. Based on the depth profile of environmental parameters, thermocline and chemocline were recognized at the 5~10 m zone of the water column. The stratified DGGE profile indicated that the discontinuity of water properties might influence the structure of bacterial community: band profiles in the 0~5 m zone were diverse with large change by depth, but the profile was relatively stable at the ≥10 m zone, with predominance of the band identified as *Acidovorax facilis*. Bacterial cultures were screened for protease, cellulase, amylase and

lipase activity, and 23 isolates were selected for high activity of the hydrolytic enzymes. The isolates were identified based on their 16S rRNA gene sequences. In the surface water (zero meter depth), *Acidovorax defluvii* and *Sphingobacterium faecium* with high cellulase activity were present. *Flavobacterium succinicans*, *Mycoplana bullata* and *A. facilis* were stably predominant isolates at 2 m, 5 m, and  $\geq 10$  m depths, respectively. *F. succinicans* isolates showed high protease activity while *M. bullata* isolates showed moderate levels of protease and cellulase activity. *A. facilis* isolates showed either cellulase or lipase activity, exclusively to each other. According to the profile of growth rates of the isolates in the temperature range of 0~42°C, the surface-zone (0~5 m) isolates were facultative psychrophiles while isolates from  $\geq 10$  m depth were typical mesophiles. This stratification is believed to be due to stratified availability of organic materials to the bacterial decomposers. In the water column below the chemoline, the environment is extremely oligotrophic so that the trait of rapid growth in low temperature might not be demanded by deep-lake decomposers. The stratified distribution of community composition and decomposer activity in Lake Khuvsgul implies that ecological functions of bacterial community in lakes of cold region are sharply divided by water column stratification.