The Korean Journal of Microbiology, Vol. 37, No. 2, June 2001, p. 124-129
Copyright©2001, The Microbiological Society of Korea

하수 처리 과정에서 염분이 세균 군집에 미치는 영향

서미애 · 홍선희 · 김동주 · 박경미 · 안태석[1]*
강원대학교 환경과학과, [1]강원대학교 생물다양성연구소

하수종말처리장의 처리효율에 미치는 염분의 영향을 알기 위하여 염분의 농도 변화에 따른 종속영양세균, 총세균 그리고 FISH 방법으로 세균 군집 구조를 파악하였다. 총세균수는 염분과 관계없이 큰 변화가 없었으나, 종속영양세균수와 군집구조는 염분에 따라 다르게 변화하였다. 염분이 1% 인 경우에는 대조구와 큰 변화가 없었으나, 염분이 2% 이상이 되면 종속영양세균과 Eubacteria의 비율이 줄어들고, 세균 군집도 큰 변화가 있었다. 특히 Proteobacteria α-group, γ-group 및 *Cytophaga-Flavobacterium* group의 비율이 감소하였다. 염분이 증가하면, 종속영양세균수와 세균 군집이 변화하므로, 하수처리과정에서 염분이 유입될 경우에는 염분을 1% 이하로 유지하여야 한다.

Key words □ **FISH, probe, salinity, waste water treatment**

하수처리는 물리, 화학적 반응과 생물학 반응을 포함하는 복합적인 반응이며, 생물학적 처리 과정은 미생물이 유기물을 분해하여 물질대사 과정을 거친 후 CO_2 등으로 무기물화 시키고, 생체물질로 변환시켜 생체량이 증가하는 과정이다(11). 생물학적 처리에 관여하는 미생물의 종류는 약 1,000~2,000종에 이르는 것으로 추정되며, 이와 같은 미생물의 범위는 매우 넓어서 세균, 균류는 물론이고, 조류, 원생동물, 후생동물까지 포함한다(14). 이 중 세균은 표면적 대 부피(S/V) 비율이 크고, 세대 기간이 짧고, 생리 대사가 활발하고 다양하여 폐수처리에서 매우 중요한 위치를 차지하고 있으며, 다양한 군집을 이루며, 수많은 종류의 유기물을 분해하여 무기물로 분해하거나, 생체물질로 전환하고 있다. 이러한 오, 폐수 정화 과정은 공동 대사(cometabolism) 과정이며, 이 공동대사 과정을 통하여 오염물질이 저감된다. 그러나, 이 공동대사는 환경의 변화에 매우 민감하기 때문에 오·폐수처리에서는 수온, pH 조건, 용존 산소량을 일정하게 유지하는 것이 매우 중요하다(20).

동해안과 같은 해안에 위치한 하수 종말 처리장은 폐수 자체의 염분이 높기 때문에 처리대상인 하수의 염분이 높다. 폐수처리과정에서 염분 stress가 세균군집에 영향을 주어 폐수처리 효율에 영향을 주는지 등은 아직 연구된 경우가 없다. 경험적으로 미루어 염분이 함유된 해산 어류의 폐기물, 김치 공장 폐수 등이 처리장에 유입되어도 큰 문제없이 폐수처리가 진행되었다. 그러나, 염분은 세포의 생리 대사를 변화시키고 있으며 고등 동 · 식물의 경우 담수와 해수 두 곳 모두에서 서식하는 종은 극히 일부를 제외하고는 없기 때문에, 미생물도 염분의 농도에 따라 생리적 특성이 변화한다고 볼 수 있다. 이처럼 염분증가와 같은 삼투압 충격(hyperosmotic shock)은 미생물 세포질의 부피가 현저히 줄어드는 원형질 분리(plasmolysis)현상을 유발하고 이 상태에서 세포질 내에는 각종 이온들과 핵산 등 거대분자가 농축되면서 분열과 성장이 멈추게 된다(2). 물론 적응기작이 빠른 세균들은 이러한 삼투압을 이겨내는 효소와 수송단백질 등을 생성하여(12) 높은 염분농도에 적응하여 세포질의 부피가 정상으로 증가하고, 높은 삼투압에서도 성장할 수 있게 된다. 그러나, 이 과정에서 많은 에너지를 소모하므로, 결국은 적정한 염분농도를 유지시켜 줄 때보다 성장이 늦게된다.

폐수처리장에서 미생물의 중요성은 인정하면서도, 미생물의 수와 활성 변화에 대한 연구와 조사는 적절한 연구 방법론이 없어 미미하였다. 그 동안 세균 군집의 분석은 배양하여 측정하는 전통적인 방법과 핵산에 결합하는 형광 염료인 acridine orange 등으로 염색하며 관찰하는 방법으로, 개체수 측정이 주된 연구 방법이었다(15). 특히 최근까지 세균 군집 종 구성 파악은 주로 배양 가능한 세균만을 대상으로 생리적인 시험을 거쳐 이루어졌다. 그러나 수중 생태계에서는 배양 가능한 세균이 직접 관찰하여 측정한 세균의 0.1-1%에 불과하므로 배양에 의한 군집 분석은 생태학적으로 큰 의미가 없다(10).

세균의 형태를 전자현미경으로 측정한 바로는 시간, 공간에 따라 형태가 변하고 있음을 확인할 수 있으나(3), 이것으로 군집구조를 밝히기에는 아직까지 어려운 문제가 많다. 그러나 최근 개발된 분자생물학적 방법은 특정군집에 속하는 세균을 직접 관찰할 수 있어 세균 군집 파악이 쉬워졌다. 이 방법에 사용되는 fluorescent rRNA-targeted oligonucleotide probe는 특정 유전자와 결합하는 특이성을 가지고 있어 생태계에서 특정 세균 군집의 시간, 공간적 변화를 파악하는 데에 많이 이용되고 있으며(22), 이러한 방법을 통하여 생태계에서 특정 세균 및 세균군집을 추적하는 연구가 국내에서도 많이 이루어졌다(1,6,7).

이 연구에서는 이러한 연구방법을 적용하여 하수처리 과정에서 염분이 침투할 경우, 변화하는 종속영양세균수, 총세균수 그

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

리고 세균 군집 구조의 변화를 살펴보았다.

재료 및 방법

실험 재료와 시료 채취

실험에 사용된 재료는 하수처리장에서 처리되고 있는 활성슬러지의 포기조에서 채취하였다. 채취한 시료는 실험실로 운반하여서 비이커에 5 *l* 씩 나누고 기포기를 이용하여 호기성 상태를 유지하였고, 최종농도가 각각 0, 1, 2, 3, 5, 10% 되도록 염화나트륨(NaCl)을 첨가하였다. 분석에 사용할 시료는 각 0시간 후, 3시간 후, 6시간 후, 12시간 후, 24시간 후, 36시간 후, 48시간 후에 시료를 채취하였다.

종속영양세균

채취한 시료를 3% 펩톤 용액으로 적절히 희석한 후, 배지(Casitone 5 *g*, Glycerol 5 *g*, Yeast extract 1 *g*, Agar 15 *g*, D.W. 1,000 *ml*)에 접종하여 20℃에서 3일간 배양한 후, 생성된 colony 수를 계수 하였다. 이때에 사용된 희석수와 배지에는 시료와 같이 염분의 농도를 맞추어 주었다. 통계적 유의성을 유지하기 위하여 각 희석 배율 당 4개씩 배양하여 계수 하였다.

총 세균수의 측정

총세균수의 측정은 AODC (acridine orange direct count)방법(15)을 이용하여 측정하였다. 총세균수는 유기물 등에서 분리하기 위하여 초음파 세척기를 이용하여 5분간 전처리 한 후에 측정하였다. AODC 방법은 시료를 중성 포르말린(최종농도 2%)으로 현장에서 고정시킨 시료 20 *ml* 중 1 *ml*을 micropipet으로 채취하여 미리 Sudan Black B로 염색한 polycarbonate membrane filter (Nuclepore, pore size 0.2 μm, ϕ25 mm)에 여과하여 20번 이상 형광 현미경으로 관찰하여 계수하였다.

세균의 군집구조 파악

세균 군집은 염분 농도가 0, 1, 2, 5% 인 시료에서 분석하였고, Eubacteria에 속하는 세균과 Proteobacteria에 속하는 세균 중 α-, β-, γ-group과 *Cytophaga-Flavobacterium* group을 측정하였다(8). 시료를 적정량 취하여 paraformaldehyde solution (최종 농도 4%)으로 고정한 후 polycarbonate membrane filter (Nuclepore, pore size 0.2 μm, ϕ25 mm)에 여과하였다. 시료를 여과한 후 인산염완충용액(PBS) 1 *ml*로 여과하였고 50%, 80%, 99%의 에틸알코홀을 0.5 *ml*씩 차례로 여과하고, filter를 공기 중에서 건조하였다.

여기에서 사용한 rRNA probe의 염기 서열은 이미 보고된 방법(5,8)에 따라 주문, 제작하였고(TaKaRa, Japan), tetramethylrhodamine으로 표지하였다. 사용한 probe들은 Domain Eubacteria와 결합하는 EUB338, Proteobacteria α-group과 결합하는 ALF1b, β-group과 결합하는 BET42a, γ-group과 결합하는 GAM42a와 *Cytophaga-Flavobacterium* group과 결합하는 CF probe였다.

In situ hybridization은 Alfreidner 등(8)의 방법을 따랐고, β-, γ-group은 서로 간섭하므로, β-group을 측정할 때는 non-labeled GAM42a 2 μl를 함께 사용하였고, γ-group을 측정할 때는 non-labeled BET42a 2 μl를 함께 사용하여 간섭을 배제하는 방법(16) 으로 측정하였다.

관찰은 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 계수 하였다. 세균 수는 20번 이상을 계수 하여 그 평균값을 구하였다.

결 과

종속영양세균

염분 0%의 종속영양세균은 0시간에 1.7×10^7 cells · ml^{-1}의 값이었고, 시간에 따라 비슷한 수준을 유지하고 있었으며 48시간 후에 2.4×10^7 cells · ml^{-1}의 분포를 보였다(Fig. 1). 이 농도에서는 생성된 colony 또한 그 색과 형태가 매우 다양한 것으로 나타났다. 염분이 1%의 경우에도 0시간에 1.1×10^7 cells · ml^{-1}, 48시간 후에 2.1×10^7 cells · ml^{-1}의 분포로 시간에 따라 비슷한 결과 값

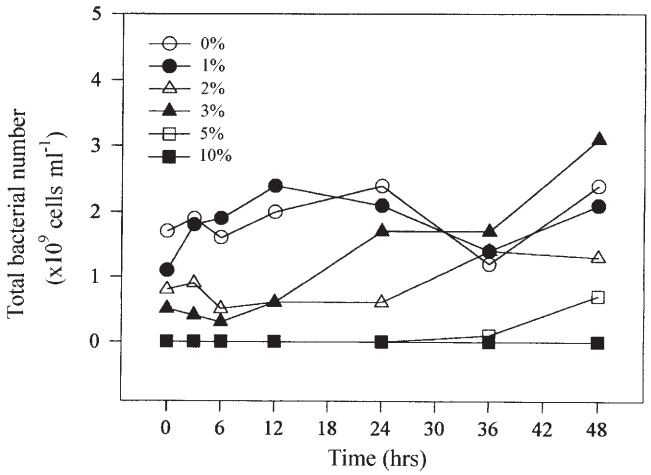

Fig. 1. The changes of heterotrophic bacterial numbers with different salinities.

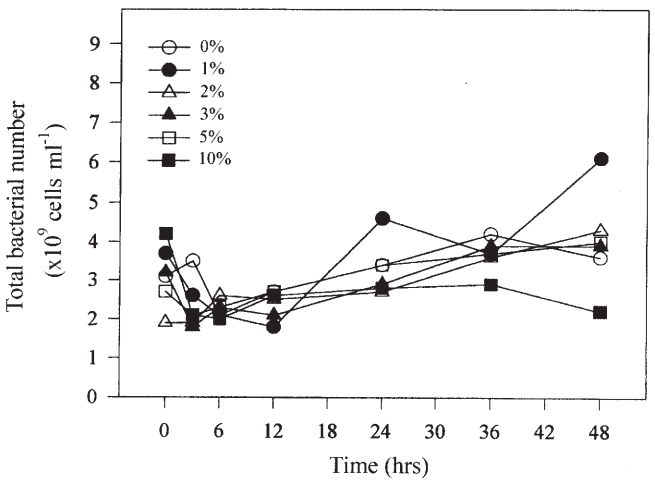

Fig. 2. The changes of total bacterial numbers with different salinities.

이었으나, colony 형태나 색깔이 염분 0%인 결과와 비교하면, 다양함이 감소하였다. 염분 2%에서는 0시간의 값이 0.8×10^7 cells · ml^{-1}로 0, 1%에 비해 상대적으로 낮은 분포를 보였으며, 24시간 후에 0.6×10^7 cells · ml^{-1}의 값으로 24시간 후까지 개체수 증가가 없었으나, 36시간 후에 1.4×10^7 cells · ml^{-1}의 분포로 염분 0, 1%의 경우와 같은 값으로 높아졌다. 염분 3%의 경우 종속영양세균의 수는 0시간에 0.5×10^7 cells · ml^{-1}의 낮은 값이었고 12시간에 그 값이 증가하고, 24시간 후에 1.7×10^7 cells · ml^{-1}로 염분 0% 수준으로 회복되었다. 염분 5%에서는 초기 0시간부터 24시간까지 종속영양세균은 측정되지 않았고, 36시간 후에 0.1×10^7 cells · ml^{-1}, 48시간 후에 0.7×10^7 cells · ml^{-1}의 값이었다. 염분 10%는 조사시간 내내 종속영양세균은 측정되지 않았다.

총 세균수

염분에 따른 총세균수의 변화는 Fig. 2와 같다. 염분 0% 경우 0시간의 총세균수는 3.1×10^9 cells · ml^{-1}로 나타났고, 48시간 후에는 3.6×10^9 cells · ml^{-1}의 결과값을 보였다. 1%에서는 시간에 따라 전체적으로 $1.8 \sim 6.1 \times 10^9$ cells · ml^{-1}로, 2%에서는 $1.9 \sim 4.3 \times 10^9$ cells · ml^{-1}로 나타났다. 3% 경우는 $1.8 \sim 3.9 \times 10^9$ cells · ml^{-1}의 분포를 나타냈고, 5%는 $2.1 \sim 4.0 \times 10^9$ cells · ml^{-1}, 10%는 $2.0 \sim 4.2 \times 10^9$ cells · ml^{-1}로 나타났다. 종속영양세균의 변화와 비교하면, 그 변화폭은 크지 않았다.

군집 구조의 변화

총세균수에 대한 각 군집의 비율을 보면 다음과 같다. 총세균수에 대한 Eubacteria의 비율(EUB/AODC)은 염분 0%에서는 0시간에 75.3%였고, 시간에 따라 큰 변화를 보이지 않아 48시간 후에 76.6%의 비율을 보였다. α-group은 초기 0시간에 4.8%였고, 시간이 지남에 따라 증가하여 48시간 후에는 12.3%를 나타내었다. β-group은 전체적으로 18.4~30.2%의 분포를, γ-group은 8.0~16.6%의 분포를 나타내었고, *Cytophaga-Flavobacterium* group은 9.9~22.3%의 비율로 시간이 지나면서 점차 감소하였다(Fig. 3). α-group은 시간에 따라 증가하는 경향을 나타내었고 β-group의 비율은 12시간 후에 그 비율이 줄어들었다. γ-group도 그 비율이 줄어들어 6시간 이후에 10%대를 유지하였다. *Cytophaga-Flavobacterium* group은 12시간 전과 후를 비교하면, 배양 12시간 이후에 감소하였다. 'Other' group은 배양 12시간까지는 그 비율이 줄어들었으나, 24시간 이후에는 증가하는 경향을 보였다.

염분 1%의 경우는 Eubacteria의 총세균수에 대한 비율이 0시간에 67.9%, 48시간후에 68.6%로 나타났고, 염분 0%인 경우보다 그 비율이 약간 낮았다. 각 group 별 변화를 보면 α-group은 초기 0시간에 8.5%였고, 시간이 지나면서 증가하는 경향을 나타내었다. β-group은 시간에 따라 전체적으로 9.6~19.6%, γ-group은7.2~22.0%의 비율이였다. *Cytophaga-Flavobacterium* group은 초기에 9.0%였지만, 시간이 지나면서 감소하는 경향을 나타내었다(Fig. 4).

염분 2%에서는 Eubacteria의 총세균수에 대한 비율이 초기 0시간에는 66.4%였지만 시간에 따라 감소하여 48시간 후에 40.5%였다. 또, α-group은 4.9~10.5%, β-group은 9.2~16.7%, γ-group은 10.6~19.8%, *Cytophaga-Flavobacterium* group은 6.8~14.9%를 나타내어 전체적으로 낮은 비율이었다(Fig. 5).

염분 5%의 경우, Eubacteria의 총세균수에 대한 비율이 0시간에 71.0%, 48시간후에 55.8%로 Eubacteria의 비율이 감소하였다. 이 비율은 염분이 2% 이상일 경우에 뚜렷이 감소하는 것을 확인 할 수 있었다. 또, 이 염분에서는 각 group들의 비율도 낮았으며 특정적으로 우점하는 group은 없었다. 초기 0시간에 α-group, β-group, γ-group, *Cytophaga-Flavobacterium* group은 각각 15.3, 21.7, 18.3, 13.6%였고, 48시간 후에는 각각 5.6, 18.4, 18.2, 4.9%로 나타났다(Fig. 6).

각 세균 군집의 크기는 염분이 높아질수록 감소하는 경향을 나타내어 염분이 세균에게 stress로 작용하고 있다는 것을 알 수 있었다.

고 찰

총세균수(AODC)는 DNA와 형광염료가 반응하여 형광을 띄는 세균을 계수함으로써 살아있는 세균 외에도 활성을 잃은 세균 등도 포함한다(15). 또, 종속영양세균은 배지의 조건에 맞는 유기물을 직접 분해하는 역할을 하므로 폐수처리 시스템에서 매우 중요한 위치에 있다. 이 연구에서 종속영양세균의 변화는 총세균수(AODC)와는 다른 양상이었다. 0%와 1%의 염분인 시료에서는 두 값의 변화가 큰 차이가 없었으나, 염분의 농도가 커질수록 종속영양세균 수는 감소하였다. 염분이 2%, 3%인 경우에는 종속영양세균의 수가 0% 및 1%의 경우보다 초기 12시간까지는 30~50%의 수준에 불과하였으나, 36시간 이후부터는 종속영양세균 수가 증가하였다. 특히 3% 염분의 경우, 48시간 후에는 3.1×10^7 cells · ml^{-1}로 다른 염분의 경우보다 높은 값이었다.

염분이 5%와 10%인 고농도인 경우에는 초기 24시간까지는 종속영양세균이 전혀 자라지 못하였다. 5%의 경우에는 36시간 후부터 성장이 보이고 있으나, 10% 염분의 경우에는 전혀 성장하지 못하였다.

염분 농도에 따라 총세균수(AODC)의 값은 큰 변화가 없음에도, 종속영양세균은 그 수가 줄고 있다. 특히 3% 이상의 염분에서는 종속영양세균이 감소하고 있다. 염분에 의한 colony 모양을 보면 종속영양세균의 세균 군락(colony)도 대조구(0%의 염분)에서는 다양한 모양, 색, 크기였으나, 염분이 높아지면서 단순해지는 것을 파악할 수 있었다(Fig. 7). 이러한 결과는 시험 초기의 세균들이 염분 농도가 2% 이상 될 때 염분 stress에 의하여 활성을 잃는 것으로 사료된다. 그러나, 이 경우에도 염분농도가 2%, 3%인 경우에는 36시간이 경과한 후에 종속영양세균의 수가 증가하고 있는데, 이는 세균이 염분 stress를 극복하여 회복기에 접어든 것으로 보이고, 염분이 5% 이상이면, 회복이 불가능할 정도로 타격을 받는 것으로 나타났다.

염분이 높아 삼투압이 증가하면, 세균의 세포 크기와 DNA함량이 줄어들고, colony를 형성하는 능력이 줄어든다(17). 또, 장내세균은 3.5% 이상으로 염분이 높아지면, 활성은 있으나, 배양이 불가능한(active but unculturable) 상태로 변한다(19). 또, *Yersinia*의 경우에는 2% 이하의 염분에서는 colny 수(colony

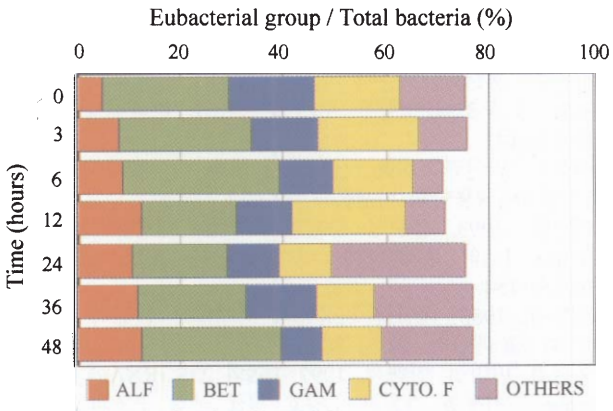

Fig. 3. Percentage of each Eubacterial group out of total bacteria at 0% salinity (ALF =Proteobacteria α-group, BET=Proteobacteria β-group, GAM=Proteobacteria γ-group, CF=*Cytophaga-Flavobacterium* group).

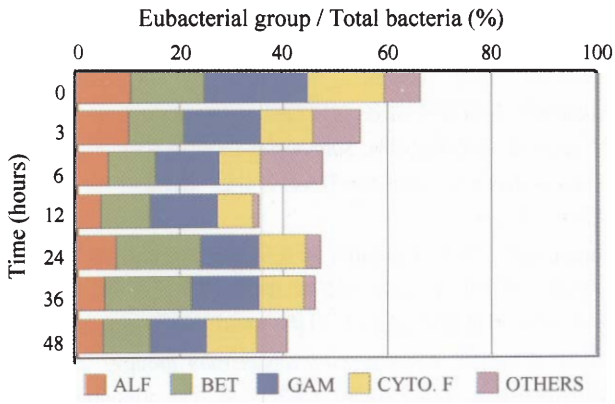

Fig. 5. Percentage of each Eubacterial group out of total bacteria at 2% salinity (ALF = Proteobacteria α-group, BET=Proteobacteria β-group, GAM=Proteobacteria γ-group, CF=*Cytophaga-Flavobacterium* group).

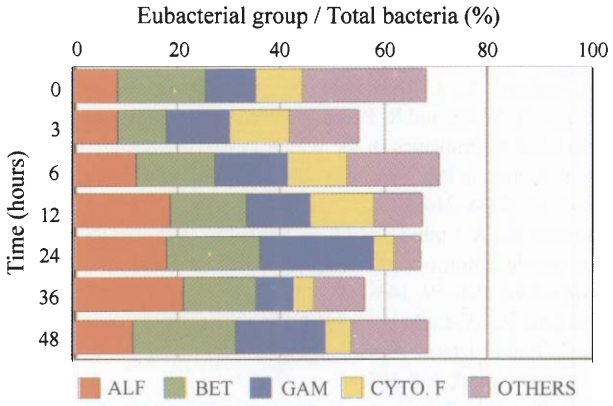

Fig. 4. Percentage of each Eubacterial group out of total bacteria at 1% salinity (ALF=Proteobacteria α-group, BET=Proteobacteria β-group, GAM=Proteobacteria γ-group, CF=*Cytophaga-Flavobacterium* group).

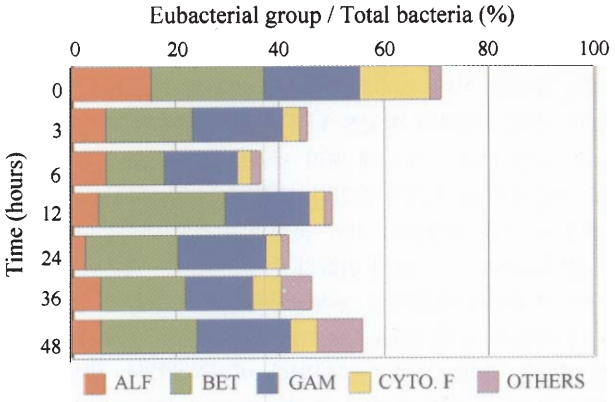

Fig. 6. Percentage of each Eubacterial group out of total bacteria at 5% salinity (ALF=Proteobacteria α-group, BET=Proteobacteria β-group, GAM=Proteobacteria γ-group, CF=*Cytophaga-Flavobacterium* group).

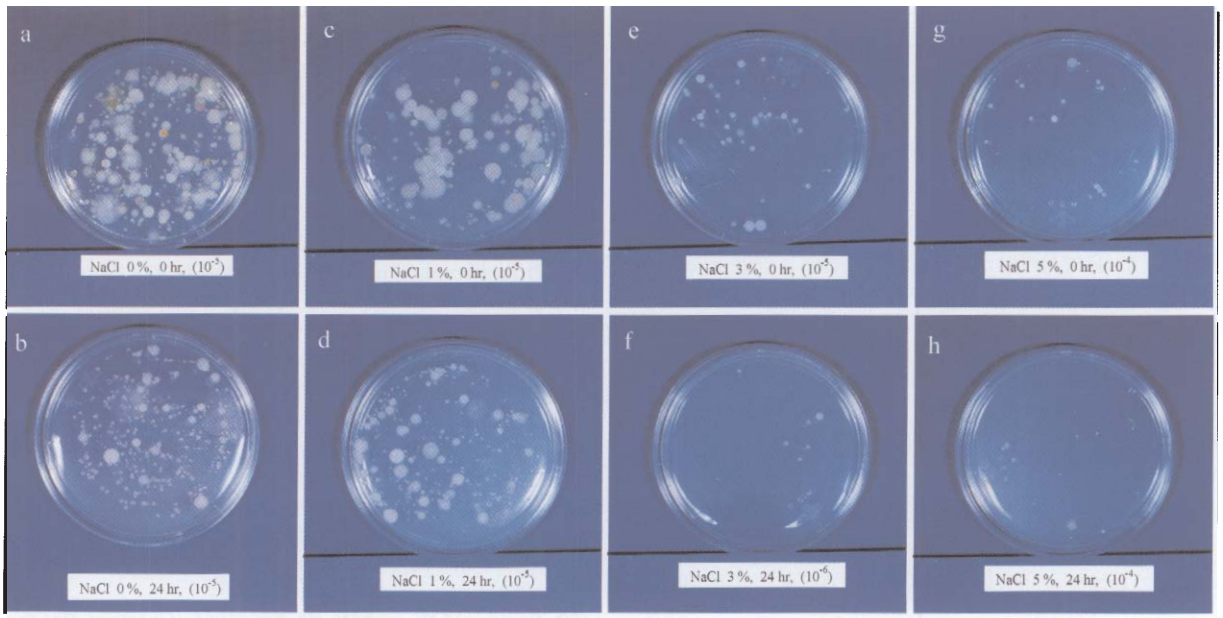

Fig. 7. Morphology of colonies by the salinity.

forming unit)가 변화하지 않으나, 3.5% 이상으로 염분이 높아지면 그 수가 줄어드는 것으로 나타났다(21). 그러나, 몇몇 세균들은 스스로 높은 염분에서 방어 기작을 작동한다. 예로 *Rhizobium*은 삼투압이 높은 상태에서 polypeptide를 합성하여 삼투압 stress에 대항하고(23), *Salmonella* 는 삼투압이 높은 상태에서 osmoprotectant인 trehalose를 합성하는 등 생리 대사과정이 바뀌고 있다(13).

Eubacteria에 대한 각 group의 비율을 보면, 염분의 영향을 더욱 더 자세히 파악할 수 있다. 염분이 0%인 경우에는 각 세균 군집 비율이 크게 변화하지 않으나, 염분이 1%인 경우 α-group이 시간에 따라 증가하며, *Cytophaga-Flavobacteruim* group은 24시간 이후부터 감소하고 있다. 염분이 5%인 경우에는 γ-group이 증가하고, *Cytophaga-Flavobadterium* group, 'other' bacteria group은 감소하고 있다. *Cytophaga*와 *Flavobadterium*은 호수와 지하수 등 염분농도가 낮은 환경에 서식하는 세균이므로(18) 염분이 증가함에 따라 이 group이 줄어드는 것으로 사료된다.

따라서, 이 연구처럼 인위적으로 염분을 높인 경우, 삼투압을 방어하는 세균류들이 증식하는 데에 36시간 이상이 걸리는 것으로 확인되었다. 이번 조사에서 나타난 결과로 폐수처리장의 세균 군집에 미치는 염분의 영향은 다음과 같이 설명할 수 있다. 염분 stress가 없을 때에는 시간에 따라 세균수, Eubacteria의 비율과 각 세균 군집의 변화가 크지 않았다. 염분이 1%일 때에는 Eubacteria의 비율이 약간 줄어들며, 세균 군집의 비율도 변화한다. 그러나, 종속영양세균의 수는 크게 변화하지 않는다. 즉, 염분이 1% 정도에서는 배지에서 배양되는 종속영양세균에는 영향이 없고, 살아있으나 배양이 되지 않는(viable but unculturable: VBUC) 세균(9)에만 영향을 미치는 것으로 판단된다. 이러한 결과는 대부분의 미생물이 염분 1% 정도에서는 큰 영향을 받지 않는다는 보고(4)와 일치한다. 염분이 2% 이상이 되면 종속영양세균의 수에도 영향을 미치며, 세균 군집도 변화한다. 특히 염분이 5% 이상이 되면 배양이 되는 종속영양세균은 거의 사멸할 정도의 피해를 입는 것으로 나타났다. 그러나, 염분의 농도가 3%일 때는 이 염분농도에 적응하는 새로운 종속영양세균과 세균군집이 24~36 시간 후에 나타나는 것으로 확인되었다. 하수처리에서 세균군집이 변화하면, 처리 효율이 감소하므로(11) 안전적인 세균 군집 유지가 매우 중요하다. 따라서 앞으로 해수가 침투할 가능성이 있는 폐수처리장, 하수종말처리장과 김치공장폐수, 수산물 가공공장 등 염분이 높은 하, 폐수 처리에는 가급적 염분을 세균군집 구조에 영향을 미치지 않는 1% 이내로 유지시켜야 하며 폐수의 염분이 간헐적으로 높아질 우려가 있는 경우에는 조정조에서 충분히 희석시켜 염분 stress를 줄여야 한다. 만약 유입수의 평균 염분의 농도가 2~3%가 될 경우, 일정 시간이 지나면 세균 군집이 이 염분에 적응할 것으로 예상된다. 그러나, 세균 군집이 안정 한 것과 처리 효율은 다른 문제이므로 처리효율은 따로 검증하여야 한다.

감사의 글

이 연구는 강원대학교 생물다양성 연구소 지원으로 수행되었음.

참고문헌

1. 김동주, 홍선희, 최승익, 안태석. 2000. 소양호 세균군집구조와 그 구조에 영향을 주는 환경요인. 한국미생물학회지. 36, 136-141.
2. 배성호, 박찬규. 1996. 삼투압에 대한 미생물의 반응과 조절. 한국미생물학회. 미생물과 산업. 22, 377-383.
3. 이영옥. 1993. 침수성 수생관속 식물, 말즘(*Potamogeton-crispus* L.)의 부착미생물 변이에 관한 고찰. 육수학회지. 26, 151-154.
4. 조무제. 1988. 내염성 미생물의 생태학과 산업적 이용가능성. 미생물과 산업. 14, 31-32.
5. 홍선희, 변명섭, 안태석. 1997. 16S와 23S rRNA에 결합하는 probe를 이용한 겨울철 소양호 세균 군집 구조의 분석. 미생물학회지. 33, 257-261.
6. 홍선희, 안태석. 1998. Fluorescent *in situ* hybridization 방법으로 분석한 소양호 세균 군집 구조의 계절적 변화. 미생물학회지. 34, 169-174.
7. Ahn, T.S., S.-H. Hong, D.-J. Kim, J.-H. Suck, and V.V. Drucker. 1999. The bacterial community of Southern Lake Baikal in winter. *J. Microbiol.* 37. 10-13.
8. Alfreidner, A., J. Pernthhaler, R. Amman, B. Sattler, F.-O. Gl ckner, 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.
9. 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.
10. Amann, R., W. Ludwig, and K.H. Schleifer. 1994. Identification of uncultured bacteria: A challenging task for molecular taxonomists. *ASM News.* 60, 360-365.
11. Bill, T. 1991. Wastewater Engineering: Treatment, Disposal and Reuse (3rd ed.). p. 259-279. McGraw-Hill, New York.
12. Csonka., L.N., 1989. Physiological and genetic responses of bacteria to osmotic stress. *Microbiol. Rev.* 53, 121-147.
13. Durpray, E., A. Derrien, and R. Pichon. 1995. Osmoregulation by trehalose synthesis in Salmonella manhattan after exposure to waste waters. *Lett. Appl. Microbiol.* 20, 148-151.
14. Hawkes, H.A. 1975. The Ecology of Waste Water Treatment. p. 23-25. Pergamon Press Ltd., Oxford, England.
15. Hobbie, J.E., R.J. Daley, and S. Japer. 1977. Use of Nuclepore filters for counting bacteria by flourescence microscopy. *Appl. Environ. Microbiol.* 33, 1225-1228.
16. 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.* 15, 593-600.
17. Monfort, P. and B. Baleux. 1994. Effects of environmental factors present in the St. Lawrence estuary (Quebec, Canada) on experimental survival of Salmonella slalmae as determined by flow cytometry. *Can. J. Microbiol.* 40, 712-129.
18. Rheinheimer, G. 1985. Aquatic microbiology. 3rd. ed., p. 158-159. John Wiley and Sons. Chichester.
19. Smith, J.J., J.P. Howington, and G.A. McFeters. 1994. Survival, physiological response and recovery of enteric bacteria exposed to a polar marine environment. *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 2977-2984.
20. Tenney, M.W. and W. Stumm. 1965. Chemical flocculation of

microorganism biological waste treatment. *J. Water Pollut. Control Fed.* 37, 1370-1388.
21. Thorsen, B.K., O. Enger, S. Norland, and K.A. Hoff. 1992. Long-term starvation survival of *Yersinia ruckeri* at different salinities studied by microscopical and flow cytometric methods. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 1624-1628.
22. 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.
23. Wankhade, S. S.K. Apte, and K.K. Rao. 1996. Salinity and osmotic stress-regulated proteins in cowpea *Rhizobium* 4a (peanut isolate). *Biochem. Mol. Biol. Int.* 39, 621-628.
24. Woese, C.R. 1981. Archaebacteria. *Scientific American* 244, 98-122.

(Received February 5, 2001/Accepted February 22, 2000)

ABSTRACT : Effect of Salinity on the Bacterial Community in the Sewage Treatment System

Mi-Ae Seo, Sun-Hee Hong, Dong-Joo Kim, Kyung-Mi Park, and Tae-Seok Ahn[1] (Department of Environmental Science, Kangwon National University, Chunchon, 200-701, Korea, [1]Institute of Biodiversity Research, Kangwon National University, Chunchon, 200-701, Korea)

For elucidating the effect of salinity to the effect of wastewater treatment, the heterotrophic bacterial numbers, total bacterial numbers, and the bacterial community structure by FISH method were analyzed. The total bacterial numbers were not significantly changed by the salinity. But the heterotrophic bacterial numbers and bacterial community structures were drastically changed by the increase of salinity. In case of 1% salinity, the heterotrophic bacterial numbers and structure were slightly changed comparing to those of contol. In case of 2% and higher salinities, the numbers of heterotrophic bacteria and the proportions of Eubacteria, Proteobacteria α-group, ρ-group and *Cytophaga-Flavobacterium* groups were deceasing. By these results, the salinity stress to bacterial community in waste water treatment was unveiled, and for sustaining the wastewater treatment system, the salinity should be lower than 1%.