

## 낙동강 하류에 분포하는 남조류 *Microcystis aeruginosa* 의 무균분리 및 16S rRNA 유전자 염기서열분석

박흥기\* · 정은영 · 이유정 · 정종문 · 홍용기<sup>1</sup>

부산광역시 상수도사업본부 수질연구소  
<sup>1</sup>부경대학교 생물공학과

### Axenic Isolation and 16S rRNA Gene Sequence of the Cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* in Downstream of Nakdong River

Hong-Ki Park\*, Eun-Young Chung, You-Jung Lee, Jong-Moon Chung and Yong-Ki Hong<sup>1</sup>

Water Quality Institute, Water Works HQ of Pusan Metropolitan City, Kaenam 621-813, Korea  
<sup>1</sup>Department of Biotechnology, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

#### Abstract

For axenic isolation of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*, water bloom at the Mulgura station from the Nakdong River was pretreated by shaking with distilled water. Removal of bacteria was accomplished using antibiotics (150  $\mu\text{g}/\text{ml}$  ampicillin and 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  neomycin) and colonizing on CB solid medium prepared from 0.7% agarose at 30°C under 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  light. Among 26 strains of the *Microcystis* species, only three strains were axenically established. The three strains were examined by PCR-amplified 16S rRNA gene and 16S rRNA sequencing. The similarities were 99.5 ~ 100% with *M. aeruginosa* AF 139292.

**Key words** – Agarose, Antibiotics, *Microcystis aeruginosa*, PCR, 16S rRNA primer

#### 서 론

호소에서의 부영양화가 진행됨에 따라 호소내 식물플랑크톤의 대량증식이 빈번히 일어나며 특히 수온이 높은 시기에는 남조류가 대량 증식하여 수표면에 물꽃을 형성하여 수체내 pH 상승, 어류의 폐사, 이·취미 발생 및 정수처리 과정의 여과 폐쇄 등 수 이용상에 많은 문제를 일으킨다[15]. 이런 남조류 중에서도 대표적인 종인 *Microcystis*는 전 세계

적으로 넓게 발생하고 있는 대표적인 녹조현상 원인 속 (genus)으로, 우리나라에도 낙동강, 대청호, 팔당호 등에서 *Microcystis* 발생이 보고되고 있다[16]. *Microcystis*의 대량번식은 물의 투명도를 저하시켜 수표면 아래 광 투과가 거의 차단되고 부유력이 왕성한 남조류 이외의 다른 조류의 성장을 억제한다. 종 다양성이 감소하고 수표면 아래층의 광합성이 저해를 받아 저층으로 갈수록 DO가 고갈되어 수질을 악화시키게 한다[13]. 따라서 *Microcystis*는 수질오염에 대한 생물학적 지표가 된다[6]. *Microcystis*의 세포는 매우 작은 구형으로 피막 속에 뽕뽕히 모여 군체를 이루며, 세포 내에 기포를 가지고 있어 수면에 떠올라 scum을 띤다. *Microcystis*

\*To whom all correspondence should be addressed  
Tel : +82-55-323-4718, Fax : +82-55-323-4719  
E-mail : pknuaac@hanmail.net

는 이 점액질로 인하여 세균과 집락으로 단단히 결합하고 있어 무균적으로 분리한다는 것은 상당한 기술과 시간이 요하는 등 어려움이 있는 실정이다. 그러나 생리학적, 유전학적, 분류학적 연구를 위해서는 무균의 *Microcystis*를 분리 배양하는 것은 기초가 되는 중요한 일이다. 현재까지 알려져 있는 *Microcystis*를 무균적으로 분리하기 위한 방법에는 자외선 조사, 화학물질 처리, 항생물질 첨가, micro pipette에 의한 직접 분리, 고체배지를 사용한 무균적인 colony 분리 등이 주로 이용되고 있다[3,6]. 최근에는 DNA 염기서열, GC ratio, 색소 합성 (pigment composition) 등이 새로운 방법으로 사용되고 있다는 보고가 있다[4].

본 연구는 1987년 하구언 축조 이후 많은 생태계 변화를 초래하고 부영양화의 특징을 가지고 있는 낙동강 하류지역의 물금 취수원을 대상으로 수화를 일으키는 여름철의 대표적 지표종인 *Microcystis aeruginosa*를 여러 가지 방법 중 고체배지를 사용하여 자연수화로부터 무균적으로 분리하고자 하였다. 또한 분리한 무균균주를 16S rRNA primer를 이용하여 유전자를 증폭한 후 염기서열을 분석하여 동일 strains 여부를 확인하였다.

## 재료 및 방법

### 조사지점

낙동강 하류의 물금 취수원을 대상으로 *Microcystis* sp.가 표층에 scum을 형성한 1997년 9월초와 10월초 사이에 4회 채취하여 실험하였다.

### 이화학 및 생물학적 조사

수온 및 pH는 온도계 및 pH meter (Orion, Model 260)로 현장에서 측정하였으며, 생물학적 산소요구량 (BOD)은 시료를 5일 동안 20°C로 저장하여 Winkler 변법에 따라 측정하였다[1]. 화학적 산소요구량 (COD)은 KMnO<sub>4</sub>법으로 측정하였고, 암모니아성 질소 (NH<sub>3</sub>-N)는 Indophenol법에 의해 흡광도 640nm에서 측정하였다[1].

엽록소 농도는 500 ml의 시료를 0.45 μm filter로 여과시킨 후 90% acetone 용액에서 24시간 동안 엽록소를 추출하였다. 이때 엽록소의 불안정화를 막기 위하여 포화 MgCO<sub>3</sub> 용액으로 세척하였다. 추출된 용액을 4,000 rpm에서 10분간

원심분리한 후 상등액을 취해 각각 750, 664, 647, 630 nm에서의 흡광도를 측정하여 trichromatic method의 계산식에 따라 엽록소 a의 양을 계산하였다[1]. 조류 동정은 채수한 표층수 1 l를 15 μm 체로 걸러 최종적으로 20 ml 되게 농축한 후, 중성 포르말린 1~2 ml로 고정하여 Sedgwick-Rafter chamber로 계수하였으며 ml당 세포수로 환산하여 현존량으로 표시하였다. *Microcystis* sp.의 경우 균체를 이루는 종이기 때문에 개개의 세포수를 모두 계수하였다. 종속 영양세균은 R<sub>2</sub>A agar (Difco) 평판배지에 시료 1 ml를 도말한 후 25°C 배양기에서 14일간 배양하여 형성된 집락을 계수하였다.

### *M. aeruginosa*의 무균분리

먼저 *Microcystis* sp. 이외의 다른 부유물질을 제거하기 위해 60 μm 망목으로 시료를 거른 후 현미경으로 균체의 형태 및 세포의 크기, 이형세포의 위치 등을 분류 key로 하여 관찰한 결과 조류 우점종은 *Microcystis aeruginosa*로 동정되었다[3]. 배양 배지는 CB배지로 pH를 9.0으로 조정하여 사용하였다[9].

시료중의 *M. aeruginosa*에 부착되어 있는 세균들을 많이 탈락시키기 위하여 우선 멸균증류수 세정법, phenol 처리법, penicillin G 항생물질 첨가법 그리고 phenol과 penicillin G 혼합법을 사용하여 암실에서 1시간 방치하였다[5,11]. 그리고 많은 수의 집락들을 서로 분리하기 위하여 vortex, homogenize 그리고 lysozyme (20 mg/ml) 처리를 시간별로 비교하였다.

이렇게 전처리한 시료는 각종 항생제에 의한 *M. aeruginosa*의 증식에는 영향을 미치지 않으면서 오염세균들은 억제시킬 수 있는 농도를 조사하기 위하여, 전 배양한 *M. aeruginosa* 10 ml를 multi-well plate에 분주한 후 항생제 종류별로 500 μg/ml 농도까지 첨가하여 30°C, 40 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> 광 조건으로 1일간 정치 배양한 후 ml당 세포수를 측정하였다. 각 항생제 농도에 따른 성장곡선에서 MNLC (maximum non-lethal concentration, 즉 생육에 영향을 미치지 않는 범위 내에서의 최대농도), LC<sub>50</sub> (lethal concentration 50, 즉 50% 생육 저지농도), MLC (minimum lethal concentration, 즉 100% 생육저지 범위 내에서의 최소농도) 농도를 결정하였다.

무균상태의 *M. aeruginosa* 집락을 분리하기 위하여 사용

된 고체배지는 CB배지에 6종류의 고형화 gelling agent를 농도별로 비교하여 가장 집락 형성에 좋은 gelling agent를 염록소 a 함량 측정으로 비교 선정하였다. 형성된 집락을 최종적으로 무균 상태 인지의 여부확인으 우선 백금이로 각 집락을 취해 CB액체배지 (5 ml)에서 같은 조건으로 2주 동안 배양하였다. 오염여부를 현미경으로 확인한 후 액체배지 (100 ml)에 다시 접종하여 동일한 조건으로 대량 배양하였다[6]. 배양된 *M. aeruginosa*를 Nutrient agar, Potato dextrose agar와 Tryptone broth agar 고체배지에도 접종하여 30℃, 10일 동안 배양한 후 최종적으로 세균 오염여부를 확인하였다[5].

#### DNA의 추출 및 정제

무균적으로 분리한 *Microcystis aeruginosa*의 DNA를 추출하기 위하여, 배양한 *Microcystis aeruginosa* 세포( $2 \times 10^5 \sim 10^7$ )를 6000 rpm으로 원심분리하여 수거하였다. 이를 Lysis Buffer (0.01M Tris(pH7.8), 0.005M EDTA, 0.5% SDS) 500 $\mu$ l에 Proteinase K(20 mg/ml)를 최종농도 50  $\mu$ g/ml이 되도록 넣고 잘 섞은 후 56℃에서 2시간이상 반응시켰다. 반응 후 각 튜브에 동량의 phenol을 넣고 30초간 조심스럽게 inverting하고, 30초간 정치시켰다. 12,000 rpm, 15분간 원심 분리하여 상등액을 조심스럽게 새로운 튜브로 옮겨, 여기에 1:1이 되도록 phenol과 choroform을 첨가하여 잘 섞은 후 12,000 rpm, 15분간 원심 분리하여 상등액을 새로운 튜브로 옮겼다. 동량의 choroform을 첨가하여 잘 섞은 후 12,000 rpm, 15분간 원심분리 하였다. 상등액을 취하여 1/10부피의 3M sodium acetate를 넣고, 2.5배의 ethanol을 넣고 1시간이상 침전시켰다. 12,000 rpm, 10분간 원심 분리하여 상등액을 제거하고 70% ethanol을 넣고 세척하여 이를 PCR의 주형으로 사용하였다.

남조류의 염기서열분석을 위한 primer쌍은 현장시료에 많이 분포하는 특이적인 primer를 작성하기 위하여, Gene Bank상에 나와있는 20여 가지의 남조류의 16s rRNA종을 비교 분석하여 primer를 작성하고, 이를 CJM198F, CJM1141R (Table 5)로 명명하였다[2]. 이 두 가지의 primer를 PCR에 사용하였다.

#### PCR 증폭

PCR 반응액은 총 100  $\mu$ l volume (DNA (1-100ng), 10x re-

action buffer, 1.5mM MgCl<sub>2</sub>, primers (CJM198F, CJM1141R 각각 50 pmol/ $\mu$ l), 5 U/ $\mu$ l Taq polymerase (Takara사)이 되도록 하여 PCR 반응을 수행하였다. PCR은 95℃에서 30초, 56℃에서 45초, 72℃에서 45초 동안 40번을 반복시켜 PCR 산물을 얻었다. PCR 반응 결과 생겨난 산물을 1% agarose gel에 전기 영동하여 약 943bp band 형성 유무를 확인하였다.

#### 염기서열분석

위에서 얻은 PCR 산물을 pT7-blue T Vector (Takara)에 cloning하고 plasmid DNA를 추출하여 DNA autosequencer ABI PRISM 3700 DNA Analyzer를 이용하여 염기서열을 결정하였다. 염기서열의 분석은 Gene Bank에 의뢰하여 기존에 알려진 남조류들의 염기서열과 그 유사성을 비교하였다.

#### 균주보관

무균적으로 분리한 *M. aeruginosa*는 -70℃에 동결 보존시켜 두었다가 실험시 계대 배양하여 사용하였다.

## 결과 및 고찰

#### 시료수의 수집

시료를 채수한 시점의 이화학적 조사 결과 수치가 대부분 오염정도가 높은 경향을 보였다(Table 1). 수온은 평균 25.2℃, pH8.6으로서 남조류가 증식하기에 알맞은 조건을 갖추고 있는 것으로 나타났다. 수질오염의 대표적인 지표인

Table 1. Water quality at the Mulgum station from the Nakdong River. Values are expressed as average from four measurements during September to October, 1997

Parameter	Result
pH	8.6
Temperature (°C)	25.2
BOD (mg/ℓ)	4.7
COD (mg/ℓ)	8.0
NH <sub>3</sub> -N (mg/ℓ)	0.07
Chlorophyll-a (μg/ℓ)	87
Dominant species	<i>M. aeruginosa</i> ( $1.08 \times 10^4$ cells/ml)
HPC (CFU/mm <sup>3</sup> )	$1.2 \times 10^5$

BOD, NH<sub>3</sub>-N는 각각 4.7, 0.07 mg/ℓ 범위로 나타나 유기물의 오염이 악화되었음을 보여 주었다. 이는 남조류에 의한 수화현상이 어느 정도 진행되었기 때문인 것으로 생각된다 [14]. 특히 현미경 관찰에 의한 조류 우점종은 *M. aeruginosa*가 대부분이었으며(약 97%), 그 외 *Anabena*속, *Oscillatoria*속 등이 드물게 관찰되었다.

*M. aeruginosa*의 무균분리

*Microcystis*의 증식에 영향을 미치는 요인은 온도, 조도, pH, 교반상태, 인, 질소 등이 있다[8]. *Microcystis*는 자연계에서 군체 형성을 하는 특징을 가지고 있으나, 실내에서 플라스크 배양시 군체의 형성능을 상실하여 군체 배양이 어렵다고 알려져 있다. 그러나 본 실험의 물금에서 분리한 *Microcystis*는 플라스크 배양시에도 군체를 형성하였다.

Yagi와 Sudo[17]에 의하면 *Microcystis*의 증식 조건을 검토해 보았을 때 먼저 온도가 25~35℃에서의 비증식속도(specific growth rate)  $u=0.25 \text{ day}^{-1}$ 로 높게 나타났으며, 또한 교반 조건에서는 70 rpm 진탕배양시  $u=0.25 \text{ day}^{-1}$ 로 정지배양시  $u=0.18 \text{ day}^{-1}$ 보다 높게 나타났다. 그리고 조도의 경우 광포화점 이상인  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ 에서의  $u=0.5 \text{ day}^{-1}$ 로 높게 나타났는 것으로 보고되었다. 본 실험에서는 이들 조건에 대한 영향을 고려하여 30℃,  $40 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , 70 rpm 조건으로 배양하였다.

무균화를 위한 전처리 방법에서는 멸균 증류수를 이용한 세정법에서만 3개의 무균 *M. aeruginosa* 균주를 얻을 수 있었으며, 그 외 방법에서는 분리하지 못했다. 많은 수의 집락이 형성될 수 있도록 하기 위한 cell dissociation 방법에서는 vortex, homogenize 순으로 집락이 많이 형성되었으며, lysozyme 처리에서는 집락이 형성되지 않았다. 시간별 *M. aeruginosa* 집락 형성에서는 vortex 2분 처리가 가장 많은 수의 집락을 형성하는 것으로 나타났다(Table 2).

세균제거 및 무균상태를 계속 유지하기 위하여 8종의 항생물질을 처리하여 *Microcystis*에는 영향을 주지 않고 일반 세균들은 생육하지 못하는 농도를 결정하기 위하여 우선 *Microcystis*에 대한 각 항생물질들의 MNLC, LC<sub>50</sub> 및 MLC 농도 실험을 한 결과는 Table 3과 같다. 실험 결과에서 *Microcystis*가 높은 내성을 나타낸 항생제인 ampicillin 및 neomycin만의 MNLC 농도들을 섞어 만든 antibiotic cocktail (ampicillin 150  $\mu\text{g/ml}$ , neomycin 25  $\mu\text{g/ml}$ )을 배지에

Table 2. Effect of pretreatment for cell dissociation. The result was expressed as colony formation unit ( $10^3 \text{ CFU/ml}$ )

Treatment	Contact time (min)			
	0.5	1	2	3
Vortex	3.1	7.3	8.2	2.2
Homogenize	6.9	7.4	3.0	0
Lysozyme	0	0	0	0

Table 3. Resistance of *M. aeruginosa* to several antibiotics. The resistant concentration was determined from the dose-response curve against antibiotic concentrations.

Antibiotics	MNLC ( $\mu\text{g/ml}$ )	LC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	MLC ( $\mu\text{g/ml}$ )
Ampicillin	150	175	400
Carbenicilin	0.3	1	12
Chloramphenicol	0.2	1	4
Gentamycin	0.5	2	35
Kanamycin	5	25	50
Neomycin	25	100	500
Streptomycin	4	18	50
Tetracycline	0.5	2	25

첨가하여 세균제거 및 무균상태 유지를 위해 사용하였다.

이렇게 무균처리된 *M. aeruginosa* strain들을 독립 집락으로 형성시켜 오염 기회를 줄이기 위하여 고체배지에 배양하였다. 고체배지의 gelling agent 종류별에 따른 성장 조사는 고체배지에 자란 집락을 모두 회수하여 엽록소 a 함량을 측정함으로써 상대적인 성장도를 비교하였다. Table 4에서 보는바와 같이 agarose, high gel strength agar, phytigel, agar 순으로 성장을 보였으며, transfer gel, alginic acid를 사용한 고체배지에서는 집락을 형성하지 않았다. 그 중 가장 높은 성장을 보인 것은 0.7% agarose였다.

낙동강 하류지역에서 발생하고 있는 대표적인 *Microcystis*는 6종류인데[4], 본 실험의 물금 지역 수화로부터 분리한 대표적 *Microcystis* strain (Fig. 1)은 세포의 직경이 대부분 3~4  $\mu\text{m}$ 이고 군체의 형태가 부정형이며 상피막이 명료한 것이 특징인 *M. aeruginosa*였다[4,9,11].

PCR 증폭

낙동강 물금 지점에서 무균분리한 3개의 *M. aeruginosa*

Table 4. Amount of chlorophyll-a ( $\mu\text{g}/\ell$ ) from the *M. aeruginosa* cells grown on solid media prepared with different gelling agents

Solid media	Gelling agent (%)				
	1.5	1.0	0.7	0.4	0.2
Agar	0	0	6	3	0
Agarose	6	19	83	50	3
Alginate acid	0	0	0	0	0
High gel strength agar	2	20	7	10	0
Phytigel	0	15	18	0	0
Transfer gel	0	0	0	0	0

Table 5. Primer pairs used for the detection of cyanobacteria

Target	Sequence(5'-3')
16s rRNA of <i>CJM 198F</i>	5'cgatcggtagctggctgaga-3'
Cyanobacteria <i>CJM 1141R</i>	5'cattgtagtacgtgtgtagcca-3'

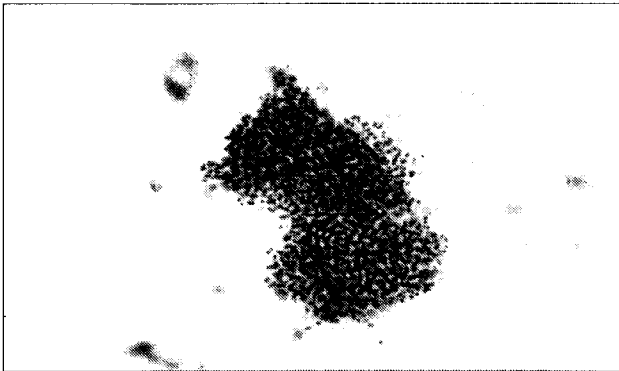


Fig. 1. Typical colony of *Microcystis aeruginosa* isolated at the Mulgum station from the Nakdong river ( $\times 200$ ).

strain를 각각 순수 배양하여 DNA를 분리하였다. 분리된 DNA를 주형으로 하여 합성한 primer를 이용하여 PCR을 수행하였다. 1% garose gel을 사용하여 전기영동을 실시한 결과 3개 모두 943 bp의 16S rRNA의 band를 관찰할 수 있었다(Fig. 2).

염기서열 분석

이들의 염기서열 분석을 위하여 각 PCR 산물을 정제하여 pGEM-T vector (Promega)에 cloning하고 다량의 DNA를 순수 정제하여 염기서열을 분석하였다. 본 연구에서 합

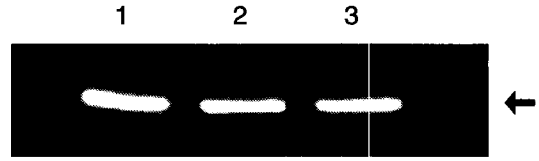


Fig. 2. PCR amplification of the 16S rRNA region of *Microcystis* from an environmental bloom. *Microcystis* bloom samples collected in Nakdong River. 1 : Mul gum-1, 2 : Mul gum-2, 3 : Mul gum-3

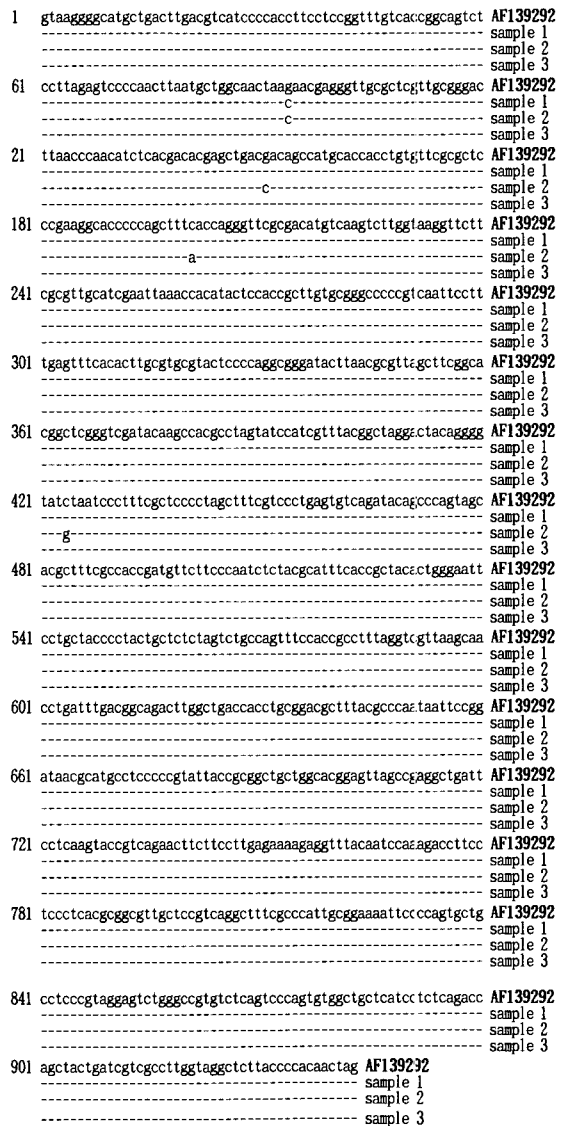


Fig. 3. 16S rRNA sequence of *Microcystis aeruginosa* from Nakdong River aligned with that of *M. aeruginosa* (AF 139292). Mul gum-1 sample(1); Mul gum-2 sample(2); Mul gum-3 sample(3)

성한 16S rRNA를 사용하여 무균분리한 3개의 *Microcystis aeruginosa* strain에 대한 3차례의 염기서열 분석결과 *M. aeruginosa* AF139292의 16S rRNA 염기서열[7]과 가장 높은 상동성(99.5~100%)을 보이는 것으로 나타났다[Fig. 3].

## 요 약

남조류 *Microcystis aeruginosa*를 무균적으로 분리하기 위해 낙동강 물금지역의 수화를 멸균 증류수로 vortex 진처리를 하였으며, 세균제거 및 무균상태를 계속 유지하기 위하여 항생물질(ampicillin 150  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , neomycin 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )을 배지에 첨가하고, 독립 집락으로 형성시켜 오염 기회를 줄이기 위하여 0.7% agarose로 고형화시킨 CB고체배지에서 30°C, 40  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$  광 조건으로 배양하였다. 그 결과 분리되어진 26개의 *Microcystis aeruginosa* colony 중 3개의 무균 균주만이 확보되었다. 3개의 무균균주를 16S rRNA primer를 이용하여 PCR 증폭한 결과 *M. aeruginosa* AF 139292와 99.5에서 100%의 상동성을 가지는 것으로 나타났다.

## 참 고 문 헌

1. APHA. 1992. Standard methods for the examination of water and wastewater. 18th eds. APHA-AWWA-WPCF, New York.
2. Benson, D. A., M. S. Boguski, D. J. Lipman and J. Ostell. 1997. Genbank. *Nucleic Acids Research* **25**, 1-6.
3. Castenholz R. W. 1989. Culturing method for cyanobacteria. *Methods in Enzymology* **167**, 68-93.
4. Lee, J. A., A. R. Choi and W. Masayuki. 1997. Taxonomic implications of the genus *Microcystis* (cyanophyceae) from the Nakdong River. *Algae* **12**, 123-135.
5. Makoto S., O. Akio, S. Takaki, M. Seiichiro and S. Takuya. 1991. Toxicity and toxins of natural blooms and isolated strains of *Microcystis* spp. (cyanobacteria) and improved procedure for purification of cultures (cyanobacteria). *Applied Environmental Microbiology* **57**, 1241-1245.
6. Makoto, S., M. Katsumi, O. Akio, T. Yoshichika, A. Tokujiro and N. Masayasu 1989. Development of solid medium for growth and isolation of axenic *Microcystis* strains (cyanobacteria). *Applied Environmental Microbiology* **55**, 2569-2571.
7. Neilan, B. A., P. T. Cox, P. R. Hawkins and A. E. Goodman. 1994. 16S ribosomal RNA gene sequence and phylogeny of toxic *Microcystis* sp.(Cyanobacteria). *DNA Sequence* **4**, 333-337.
8. Takamara, N. and M. M. Watanabe. 1987. Seasonal changes in the biomass of four species of *Microcystis* in the Lake kasumigaura. *Japan Journal Limnology* **48**, 139-144.
9. Watanabe, M. and S. Oishi. 1985. Effects of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium (*Microcystis aeruginosa*) under culture conditions. *Applied Environmental Microbiology* **49**, 1342-1344.
10. Watanabe, M. and F. Kasai. 1985. NIES-collection list of strains. pp. 75-76, 4th eds., National Institute for Environmental Studies.
11. Yagi, O., M. Okada, R. Sudo, T. Hagiwara and Y. Takamura. 1981. Growth characteristics of *Microcystis*. *Res. Rep. Natl. Inst. Environ. Stud.* **25**, 47-58.
12. Yagi, O. and R. Sudo. 1981, Isolation of *Microcystis*. *Res. Rep. Nat. Inst. Environ. Stud.*, **25**, 7-15.
13. 신재기, 조경제. 1997. 낙동강 수계에서 남조류 *Microcystis*의 분포와 개체군 변동. *Algae* **12**, 283-290.
14. 박흥기, 정중문, 박재림, 홍용기. 1999. 낙동강 하류에서 식물플랑크톤과 수질변화와의 관계. *한국환경과학회지* **8**, 101-106.
15. 박혜경, 천세억, 박승익, 이문호, 류재근. 1992. 국내 주요 담호에 있어서의 계절별 조류종 천이. *한국수질보전학회지* **8**, 150-158.
16. 박혜경. 1998. 한국산 남조류 *Microcystis* spp.의 생리·생태적 연구. 경북대학교 박사학위논문.

(Received February 1, 2002; Accepted April 3, 2002)