

洛東江 下流域 藍藻 *Anabaena*의 個體群 變動 및 毒性 研究

崔愛蘭¹ · 朴晉弘² · 李眞愛^{2*}

(¹한국생명공학연구원 생물공정연구실, ²인제대학교 환경시스템학부)

Population Dynamics and the Toxin of *Anabaena* in the Lower Naktong River

Ae Ran Choi¹, Jin Hong Park² and Jin Ae Lee^{2*}

¹Biomolecular Process Engineering Laboratory, Korea Research Institute of
Bioscience and Biotechnology, Daejeon 305-333, Korea

²School of Environmental Science and Engineering, Inje University, Gimhae 621-749, Korea

Population dynamics of *Anabaena* and the anatoxin-a concentration were monitored with physicochemical parameters at 3 sites in the lower Naktong River from May to September in 2000. Total 4 species of *Anabaena* (*A. flos-aquae*, *A. smithii*, *A. ucrainica* and *A. mucosa*) were identified with morphological characteristics. *Anabaena flos-aquae* was most abundant among the populations. The standing crop of *Anabaena* ranged from 10 to 11,220 cells · ml⁻¹ and biomass of *Anabaena* more 1,000 cells · ml⁻¹ was observed once at St. Mulgeum and St. Seonam, twice at St. Hagueon out of total 9 samplings. There were not significant correlations between the standing crop of *Anabaena* and other physicochemical parameters such as temperature, nitrate, total nitrogen, phosphate, total phosphorus and N/P ratios. The frequency of trichomes with akinetes was low and ranged from 0 to 4% in the total *Anabaena* population and *A. smithii* showed highest frequency of 2.8% among all species. The population at St. Seonam showed highest frequency of 1.4% among all sampling sites. The population in September showed the highest frequency of 3.0% among all sampling period. The frequency of trichomes with heterocysts was low and ranged from 1 to 87% in the total *Anabaena* population and *A. smithii* showed highest frequency of 55.1% among all species. The population at St. Mulgeum showed highest frequency of 17.6% among all sampling sites. The population in August showed the highest frequency of 21.4% among all sampling period. The frequency of trichomes with akinetes and/or heterocysts was not related to all the physicochemical parameters of temperature, nitrate, total nitrogen, phosphate, total phosphorus and N/P ratios. The anatoxin-a concentrations were determined in algal materials dominated by *Microcystis* and *Anabaena* from June though August by derivatization using 7-fluoro-4-nitro-2, 1, 3-benzoxadiazole (NBD-F) and HPLC analysis with fluorimetric detection. All the concentrations were below the detection limit of 0.1 µg · l⁻¹ in the present study.

Key Words: *Anabaena*, anatoxin-a, blue-green algae, eutrophication, the Naktong River

서 론

수질 부영양화에 따른 여름철 남조류의 대발생은 전 세계적이며, 특히 온대나 아열대기후의 호수, 강, 저수지 등 부영양화된 담수계에서 많이 일어나고 있다

(Carmichael 1993; Namikoshi and Rinehart 1996; Codd 2000). 수화를 이루는 남조는 맛과 냄새, 그리고 일부는 독소를 생성하여 공중 보건학적으로 문제를 일으킨다 (Velzeboer et al. 1995). 특히, 독성을 생성하는 남조류는 *Oscillatoria*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Cylindrospermopsis*, *Microcystis*, *Nodularia*, *Nostoc* 등이 있으며 전 세계적으로 30여 종이 보고되고 있다 (Skulberg et al. 1993).

*Corresponding author (envjal@ijnc.inje.ac.kr)

수화현상을 일으키는 독성 남조에 대한 연구는 주로 *Microcystis*를 중심으로 많이 진행되고 있으며, *Anabaena*에 대한 연구는 호주와 북유럽을 중심으로 활발히 진행되고 있다(Baker and Humpage 1994; Codd 2000). 특히 *Anabaena*의 일부 종은 anatoxin-a, anatoxin-a(s), 마비성 패독(paralytic shellfish poisoning, PSP)과 같은 신경독과 microcystins와 같은 간장독을 생성한다(Rapala and Sivonen 1998). *Anabaena*는 heterocyst(이형세포)를 갖고 있어 질소를 고정할 수 있으므로 질소가 고갈된 수역에서 다른 종에 비해 유리한 성장 조건을 갖게 된다. 우리나라에서는 대청호, 소양호 등지에서 여름철에 빈번한 사례가 있다(김과 이 1996; 이 등 1998; 김 등 1999).

본 연구에서는 부영양화가 심한 낙동강 하류에서 남조 *Anabaena* 분포를 조사하여 *Anabaena*의 개체군 변동을 조사하고자 한다. *Anabaena*의 출현 빈도와 우점의 정도를 조사하고, 물리·화학적 환경요인의 변화를 함께 조사하여 이들의 발생 시기 및 발생 현황을 살펴보았다. 또한, 여름 동안 크게 번무하는 조체 시료에서 신경독소인 anatoxin-a를 정량 및 정성 분석하여 낙동강 하류 수역의 신경독소 발생 현황을 규명하고자 시도되었다.

재료 및 방법

물리·화학적 환경요인

낙동강 하류에서 물금, 하구언, 선암의 3개 지점을 선정하여 2000년 5월부터 9월까지 9회에 걸쳐 조사하였다(Fig. 1). 수온과 용존산소는 현장에서 DO meter (YSI, model 54A)를 이용하여 측정하였고, 무기 영양염 및 엽록소 *a*를 측정하기 위한 시료는 표층수를 채수하여 Standard Methods (APHA 1998)에 의하여 분석하였다.

Anabaena 현존량 및 분류

*Anabaena*의 현존량을 조사하기 위한 시료는 표층수 1 l를 채수하여 현장에서 Lugol 용액으로 고정하였다. 암조건에서 3일 이상 침강시킨 후 상등액을 제거하여 1/10로 농축시키고, 농축된 시료를 1 ml 용량의 Sedgwick-Rafter cell에 분산시킨 뒤 도립현미경 하에서 검경하여 세포수를 계수하였다. *Anabaena* 종의 분류를 위한 시료는 현장에서 식물플랑크톤 net를 이용하여 수계 식물플랑크톤을 채집한 뒤 4% 중성 포르말린용액으로 고정하여 실험실로 운반하였다. Watanabe (1992, 1998, 1999)의 문헌을 참고로 하여, 형태상 특징을 바탕으로 동정하였다. 도립현미경 하에서 100개 이상의 세포사를 계수하고, akinete를 갖는 세포사의 백분율을 계산하여 akinete의 출현 빈도로 하였다. 동일한 방법으로 heterocyst의 출현 빈도를 구하였다.

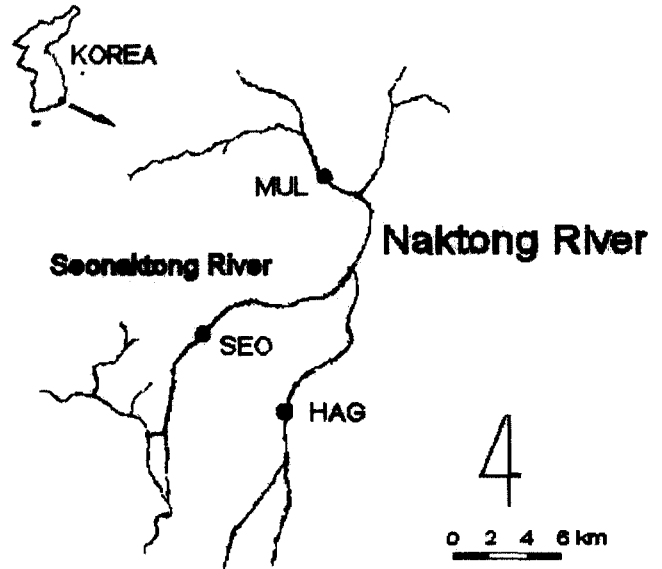


Fig. 1. The sampling sites in the lower Nakdong River (MUL, Mulgeum; HAG, Hagueon; SEO, Seonam).

Anatoxin-a 분석

표층수를 pore size 46 μm 크기의 식물플랑크톤 net에 통과시켜 조체를 채집한 후 냉장 보관하여 실험실로 운반하였다. Pore size 26, 300 μm 크기의 stainless steel sieve를 이용하여 시료를 차례로 여과한 다음 26 μm sieve 위에 남은 조체를 분리시켰다. 여과 분리된 조체는 즉시 동결건조기 (LYPH-LOCK 4.5, Labconco)로 동결 건조시켜 냉동 보관하였다.

동결 건조된 조체 500-1,000 mg을 취하여 5% acetic acid로 추출한 후, 2,500 rpm에서 10분간 원심분리하여 상등액을 모았다. 상등액을 Sep-Pak ODS cartridge를 통과시킨 후, 20% methanol로 세척한 후에 90% methanol로 추출하였다. 6N sodium hydroxide로 pH를 10 이상 조절한 후, OASIS HLB cartridge를 통과시켰다. Methanol과 0.1 mM sodium hydroxide를 20:80(v/v)으로 혼합한 용액으로 세척한 후, methanol과 0.1 mM sodium hydroxide를 60:40(v/v)으로 혼합한 용액으로 추출하였다. 이 용액을 0.01 N hydrochloric acid로 산성화시킨 후, 40°C water bath에서 질소 가스로 건조시켰다. 40 μl D.W., 20 μl 0.1 M borate buffer (pH 8.0)에 녹인 후, 40 μl 40 mM 7-fluoro-4-nitro-2,1,3-benzoxadiazole (NBD-F)를 가하였다. 60°C water bath에서 1-3분간 반응시킨 후, 400 μl 50 mM phosphate buffer (pH 3.0)와 혼합한 후에 HPLC로 분석하였다(Fig. 2).

Anatoxin-a (SIGMA Co.) 250 μg 을 1 ml의 methanol에 녹여 단계별 농도로 제조한 후, 각 농도별로 HPLC에서

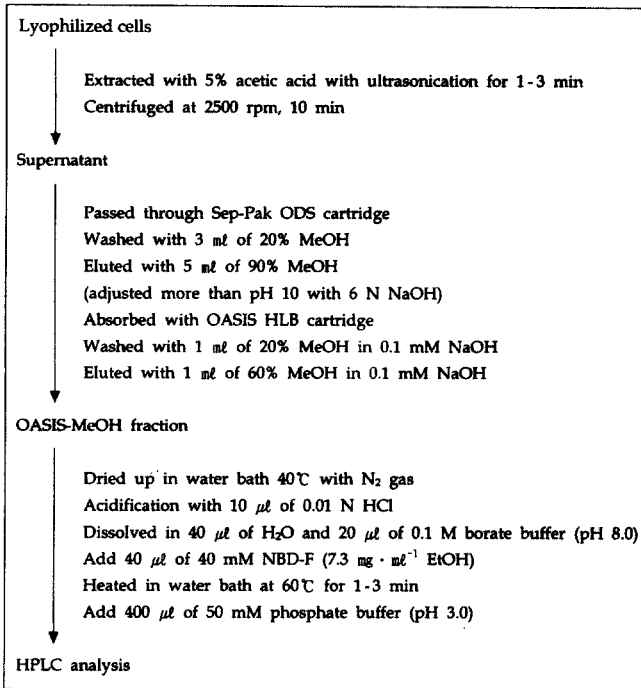


Fig. 2. The analytical procedures for anatoxin-a determination.

얻어진 면적의 상관식으로 회귀직선을 구하여 anatoxin-a를 정량적으로 분석하였다. Anatoxin-a 분석은 Waters 600 Controller, Waters Pump, Hewlett Packard 1046A Programmable Fluorescence Detector로 구성된 HPLC를 사용하였다. 사용한 column은 Mightysil ODS (4.6×250 mm)이었고, injection volume은 20 µl이었다. 이동상은 methanol과 50 mM phosphate buffer를 50:50(v/v)으로 혼합하여 pH를 3.0으로 맞추어 사용하였다. Flow rate는 1.0 ml·min⁻¹로 하여 Fluorescence Detector (ex. 470 nm, em. 530 nm)로 peak를 측정하였다.

결 과

*Anabaena*의 출현 양상과 현존량

엽록소 a의 농도와 식물플랑크톤의 현존량: 조사지점에서 측정된 엽록소 a의 농도는 6-624 µg·l⁻¹의 범위였으며, 6월 16일 하구언지점에서 최대값을, 9월 27일 물금지점에서 최소값을 보였다. 지점별 평균값은 하구언지점이 97 µg·l⁻¹로 최대, 물금지점이 23 µg·l⁻¹로 최소였다. 월별 평균은 6월에 154 µg·l⁻¹로 최대, 9월에 12 µg·l⁻¹로 최소였다 (Fig. 3). 식물플랑크톤의 현존량은 310-1,430,000 cells·ml⁻¹의 범위였으며, 6월 16일 하구언지점에서 최대값을, 8월 24일 물금지점에서 최소값을 보였다. 지점별 평균값은 물금지점에서 6,300 cells·ml⁻¹, 하구언지점 161,000 cells·ml⁻¹, 선암지점 61,000 cells·ml⁻¹로 나타났

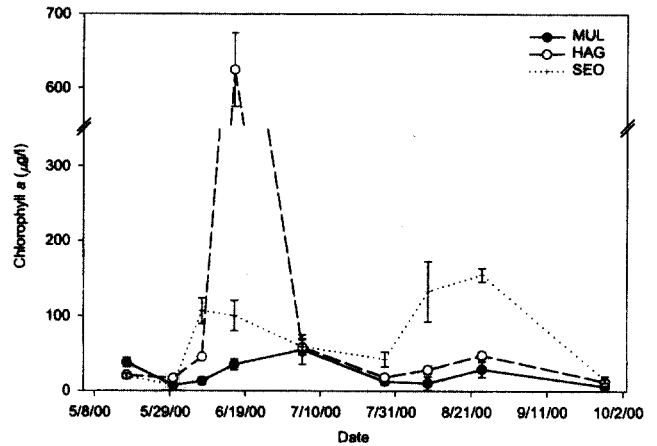


Fig. 3. The variations of chlorophyll a concentration with standard error bars in the lower Nakdong River from May to September in 2000.

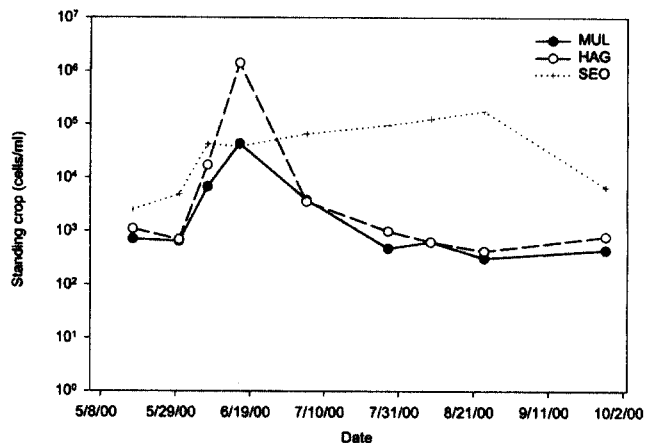


Fig. 4. The variations of standing crop of phytoplankton in the lower Nakdong River from May to September in 2000.

다. 월별 평균은 6월에 260,000 cells·ml⁻¹로 최대, 5월에 1,700 cells·ml⁻¹로 최소였다 (Fig. 4).

*Anabaena*의 현존량 및 개체군 변동: *Anabaena*는 낙동강 하류에서 5월부터 9월까지 지속적으로 관찰되었고, 6월에 현존량이 가장 높았으나 6월 말 장마 이후 급속하게 감소하였다. 선암지점에서는 6월에 처음 출현하여 8월에 최대값을 보였다. 낙동강 하류 3개 지점에서 9회에 걸쳐 *Anabaena*를 관찰한 결과, 하구언지점에서 7회로 출현 빈도가 가장 높았고, 물금지점이 4회로 가장 낮아 하류로 갈수록 *Anabaena*의 현존량과 출현 빈도가 증가하는 경향성을 띠었다 (Table 1). *Anabaena*가 관찰된 경우, 전체 식물플랑크톤 현존량에 대한 *Anabaena*의 상대수도는 조사기간 동안 0.2-15.7%의 범위였고, 평균값은 4.8%이었다. 지점별로는 물금지점에서 3.2-15.7%, 하구언지점에서 0.8-

Table 1. The variations of standing crop* and relative abundance of *Anabaena* of the total phytoplankton community in the lower Naktong River in 2000

		May 17	May 30	Jun 7	Jun 16	Jul 5	Jun 28	Aug 9	Aug 24	Sep 27
MUL	Standing crop (cells·ml ⁻¹)	-	+	++	+++	++	-	-	-	-
	Relative abundance (%)	-	5.0	13.1	3.2	15.7	-	-	-	-
HAG	Standing crop (cells·ml ⁻¹)	-	+	+++	++++	+	-	+	+	-
	Relative abundance (%)	-	5.2	10.7	0.8	2.7	0.5	3.2	12.9	-
SEO	Standing crop (cells·ml ⁻¹)	-	-	-	-	++	++	+++	++	+
	Relative abundance (%)	-	-	-	-	0.3	0.5	3.0	0.3	0.2

* <10, -; 10²-10³, +; 10³-10⁴, ++; 10⁴-10⁵, +++;

Table 2. Morphological comparisons of 4 species of *Anabaena* in the lower Naktong River

	<i>A. flos-aquae</i>	<i>A. smithii</i>	<i>A. ucranica</i>	<i>A. mucosa</i>
Trichome shape	irregular coil	straight	regular coil	regular coil
Cell shape	spherical	spherical or barrel-shape	spherical or barrel-shape	spherical or barrel-shape
Cell diameter (μm)	5 - 7	8 - 12	8 - 12	10 - 12
Cell length (μm)	4 - 7	7 - 11	6 - 10	7 - 11
Heterocyst shape	spherical	spherical	spherical	spherical
Heterocyst length (μm)	6 - 8	11 - 12	8 - 12	9 - 11
Akinete shape	elliptical	spherical or elliptical	spherical or elliptical	elliptical
Akinete diameter (μm)	7 - 11	15 - 19	15 - 20	16 - 19
Akinete length (μm)	14 - 22	16 - 21	16 - 21	16 - 20
Diameter of coil (μm)	-	-	50 - 85	90 - 145
Mucilaginous sheath	absence	presence	presence	presence

12.9%, 물금지점에서 0.2-3.0%이었다(Table 1).

*Anabaena*의 현존량은 10-11,220 cells·ml⁻¹의 범위였으며, 지점별로 물금지점에서 30-1,380 cells·ml⁻¹, 하구언지점에서 10-11,220 cells·ml⁻¹, 선암지점에서 10-3,700 cells·ml⁻¹의 범위였다. *Anabaena* 현존량이 1,000 cells·ml⁻¹ 이상 발생한 것은 총 9회 조사 중 물금지점과 선암지점에서 각 1회, 하구언지점에서 2회였고, 2000년 6월 16일에 하구언지점에서 11,220 cells·ml⁻¹로 최대값을 보였다(Table 1).

본 연구에서 출현이 확인된 *Anabaena*종은 총 4종으로 *A. flos-aquae*, *A. smithii*, *A. ucranica*, *A. mucosa* 등이었다(Table 2). *Anabaena flos-aquae*는 5-9월, *A. smithii*는 6-8월, *A. ucranica*는 6-8월, *A. mucosa*는 7-8월에 각각 관찰되었다. 전체 *Anabaena*속에 대한 *A. flos-aquae*의 상대수도는 물금지점에서 5-100%, 하구언지점에서 40-100%, 선

암지점에서 70-100%로서, 조사기간 동안 출현한 *Anabaena*속 중 가장 우점하였다. *Anabaena smithii*의 상대수도는 일회적으로 물금지점에서 7월 초에 95%에 이르렀다(Fig. 5).

*Anabaena*의 현존량과 수온, 암모니아 질소, 질산 질소, 총질소, 인산염 인, 총인 및 N/P ratio 등의 물리·화학적 환경요인의 상호관계를 조사하였다. *Anabaena*가 출현했을 때의 수온의 범위는 21-31°C이었으며, *Anabaena*의 현존량과 수온의 상관관계수에 대해서 95% 수준에서 그 유의성이 인정되지 않았다. *Anabaena*가 출현했을 때의 암모니아 질소의 범위는 29-100 μg·l⁻¹, 질산 질소 1,463-2,590 μg·l⁻¹, 총질소 2,780-7,076 μg·l⁻¹로, *Anabaena*의 현존량과 상관성이 없었다. *Anabaena*가 출현했을 때의 인산염 인은 15-122 μg·l⁻¹, 총인은 57-213 μg·l⁻¹의 범위로, *Anabaena*의 현존량과 상관성이 없었다. N/P ratio는 31-

Table 3. The variations of frequency (%) of trichomes with akinetes and heterocysts (in parenthesis) in the *Anabaena* population in the lower Nakdong River in 2000

		May 17	May 30	Jun 7	Jun 16	Jul 5	Jun 28	Aug 9	Aug 24	Sep 27
MUL	<i>A. flos-aquae</i>	-	0 (2)	0 (3)	0 (2)	0 (3)	-	-	-	-
	<i>A. smithii</i>	-	-	-	3 (25)	2 (87)	-	-	-	-
	<i>A. ucrainica</i>	-	-	-	0 (1)	-	-	-	-	-
	<i>A. mucosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HAG	<i>A. flos-aquae</i>	-	0 (2)	0 (1)	0 (4)	1 (4)	0 (3)	2 (3)	1 (5)	-
	<i>A. smithii</i>	-	-	-	-	2 (65)	-	4 (44)	3 (72)	-
	<i>A. ucrainica</i>	-	-	-	-	-	-	-	2 (2)	-
	<i>A. mucosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	1 (2)	-
SEO	<i>A. flos-aquae</i>	-	-	-	0 (2)	0 (2)	0 (3)	1 (2)	3 (3)	3 (7)
	<i>A. smithii</i>	-	-	-	-	2 (57)	4 (46)	2 (40)	3 (60)	-
	<i>A. ucrainica</i>	-	-	-	-	0 (1)	0 (1)	1 (2)	-	-
	<i>A. mucosa</i>	-	-	-	-	0 (2)	1 (2)	-	-	-

다. 지점별로는 물금지점에서 평균 0.7%, 하구언지점에서 1.3%, 선암지점에서 1.4%이었다. 월평균 출현 빈도는 6월에 0.4%, 7월 0.9%, 8월 2.1%, 9월에 3.0%로 각각 나타났다(Table 3).

Heterocyst의 출현 빈도는 1-87% 범위였고, 종별로는 *Anabaena flos-aquae*가 평균 3.0%, *A. smithii*가 55.1%, *A. ucrainica*가 1.4%, *A. mucosa*가 2.0%이었다. 지점별로는 물금지점에서 평균 17.6%, 하구언지점에서 17.3%, 선암지점에서 15.3%이었다. 월평균 출현 빈도는 6월에 5.4%, 7월 21.2%, 8월 21.4%, 9월에 7.0%로 각각 나타났다(Table 3).

Akinete 출현 빈도와 물리·화학적 환경요인의 상관관계 조사에서 *Anabaena*가 출현했을 때의 환경요인은 수온 23-31°C, 암모니아 질소 29-87 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 질산 질소 1,765-2,568 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 총질소 3,457-5,270 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 인산염 인 15-71 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 총인 39-145 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, N/P ratio는 31-114의 변화 범위를 보였다. 이들 요인과 akinete의 출현 빈도의 상관계수를 구하여 유의성 검정을 실시한 결과, 95% 수준에서 그 유의성이 인정되지 않았다(Fig. 6).

Heterocyst의 출현 빈도와 물리·화학적 환경요인의 상관관계 조사에서 환경요인의 범위는 수온 21-31°C, 암모니아 질소 29-100 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 질산 질소 1,463-2,590 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 총질소 2,780-7,076 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 인산염 인 15-122 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, 총인 39-213 $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$, N/P ratio는 31-114이었으며, 이들 요인은 모두 heterocyst의 출현 빈도와 의미있는 상관을 나타내지 않았다(Fig. 7).

Fig. 5. The variations of relative abundance (%) of *Anabaena* species in the lower Nakdong River from May to September in 2000.

114의 범위로, *Anabaena*의 현존량과 의미있는 상관을 나타내지 않았다.

Akinete와 heterocyst: akinete의 출현빈도는 0-4% 범위였고, 종별로는 *Anabaena flos-aquae*가 평균 0.6%, *A. smithii* 2.8%, *A. ucrainica* 0.6%, *A. mucosa*가 0.7%이었

Anatoxin-a

표준시료와 회수율: Anatoxin-a는 HPLC법으로 retention time을 비교하여 정성 분석한 결과 24.03±0.02 min으

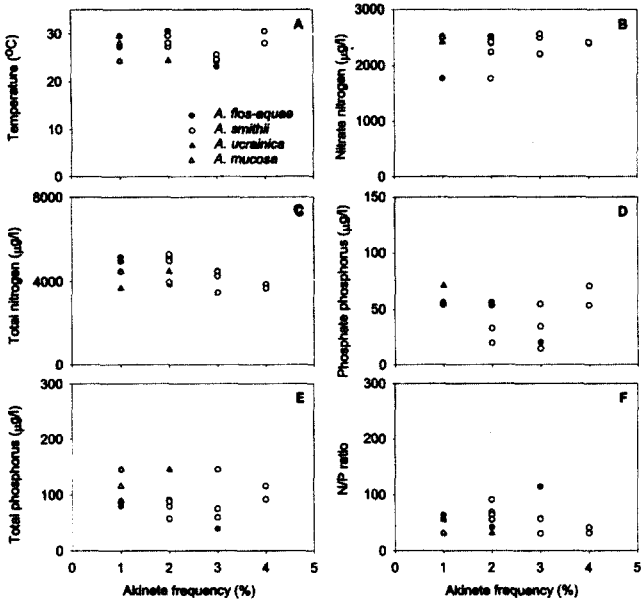


Fig. 6. The correlations between alkinete frequency of *Anabaena* and water temperature (A), nitrate (B), total nitrogen (C), phosphate (D), total phosphorus concentration (D) and N/P ratio (F) in the lower Nakdong River from May to September in 2000.

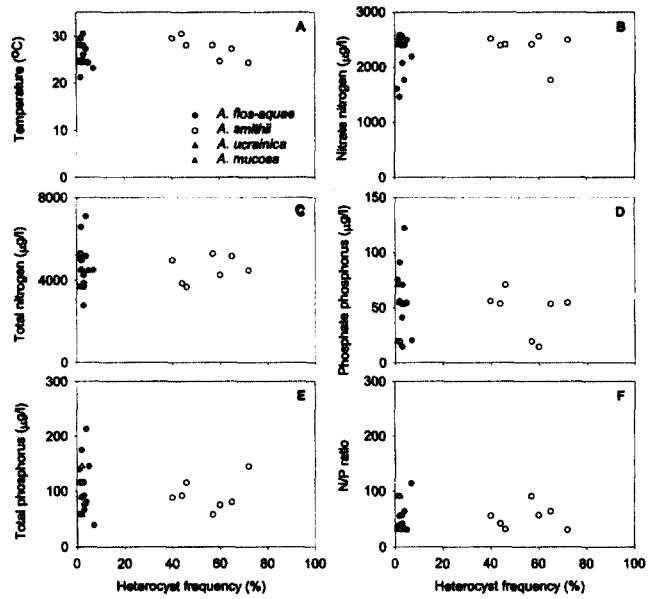


Fig. 7. The correlations between heterocyst frequency of *Anabaena* and water temperature (A), nitrate (B), total nitrogen (C), phosphate (D), total phosphorus concentration (E) and N/P ratio (F) in the lower Nakdong River from May to September in 2000.

Table 4. The seasonal and spatial variations of dominant algal taxa and anatoxin-a in the algal materials collected from the lower Nakdong River in summer 2000

Site	Date	Dominant taxa	Anatoxin-a ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ dry weight)
MUL	Jun 7	<i>Microcystis</i> <i>Anabaena</i>	N.D.
	Jun 16	<i>Microcystis</i> <i>Anabaena</i>	N.D.
HAG	Jun 7	<i>Microcystis</i> <i>Anabaena</i>	N.D.
	Jun 16	<i>Microcystis</i> <i>Anabaena</i>	N.D.
SEO	Jul 28	<i>Microcystis</i> <i>Anabaena</i>	N.D.
	Aug 9	<i>Microcystis</i> <i>Anabaena</i>	N.D.

N.D., Not Detectable

로 나타났다. HPLC를 이용하여 시료로부터 anatoxin-a를 추출하는 회수율을 조사하기 위하여 표준시료 0.05 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ 를 methanol에 녹여 세포 내 anatoxin-a 분석법과 같은 방법으로 실험하여 HPLC로 분석하였다. 동일한 양의 anatoxin-a를 분석한 후 이때 peak의 면적을 100%로 하여 추정된 결과 평균 91%의 회수율을 보였다. 본 실험

방법에서 검출 한계는 0.1 $\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ 이었다.

조체의 Anatoxin-a의 농도: 식물플랑크톤의 군집에서 *Microcystis*, *Anabaena*가 우점종으로 나타난 6월부터 8월까지의 총 6개의 조체 시료에서 anatoxin-a를 HPLC로 분석하였다. 모든 결과에서 HPLC 검출 한계 이하로 나타나, 불검출로 판단하였다(Table 4).

고찰

본 연구에서 물금, 하구언, 선암지점 수계의 영양단계를 무기질소, 총질소의 농도 기준으로 구분하면 Vollenweider (1968)의 polytrophic에 속하며, 총인과 엽록소 a의 농도 기준으로 구분하면 OECD의 eutrophic-hypertrophic에 속하여, 본 낙동강 하류 수역은 부영양화가 상당히 진행되어 있다고 판단하였다. 부영양화로 영양분이 충분한 수계에서는 여름철 수온 상승에 따라 남조류 우점 군집으로 천이가 일어난다고 보고되어 있다 (Bormans and Condie 1998; Sherman et al. 1998). 본 연구에서 *Anabaena*는 5월과 6월의 수온 상승기에 출현하였고, 따라서 수온 상승에 따른 남조류로 천이가 이 시기에 일어나는 것으로 추정하였다.

본 연구에서 주로 *Anabaena*의 세포사, heterocyst, alkinete 등의 크기 및 모양 등의 형태학적 특징에 의해 낙동강 하류에서 *A. flos-aquae*, *A. smithii*, *A. ucrainica*, *A.*

mucosa 등 총 4종이 관찰되었다(Table 2). 가장 많은 분류학적 형질을 제공하는 *akinetes*의 관찰이 드물어 다른 종들의 동정이 용이하지 않았다. 일반적으로 *akinetes*는 매우 중요한 형태 분류 수단이 되며, 추후 *Anabaena*의 종 동정에는 각 종의 실내배양을 통해 *akinetes* 형성을 유도하는 실험 등이 요구된다. Hiroki et al.(1998)은 *Anabaena*의 형태 분류 형질을 총 26개 제안하였으며, 그 중에서 *akinetes*의 색깔, 위치, 크기 등 *akinetes* 관련 형질이 총 10개로서 *akinetes*의 관찰 없이 *Anabaena*의 종 동정은 불가능하다고 보고한 바 있다. 우리나라에는 *Anabaena affinis*, *A. azollae*, *A. catenula*, *A. circinalis*, *A. fertilissima*, *A. flos-aquae*, *A. inaequalis*, *A. oscillarioides*, *A. planktonica*, *A. spiroides*, *A. torulosa*, *A. wisconsinense* 등 총 12종의 *Anabaena*가 출현하는 것으로 보고되어 있다(정 1993).

*Anabaena*의 현존량은 6월에 최고 11,220 cells·ml⁻¹에 이르렀으나, 1,000 cells·ml⁻¹ 이상 발생한 것은 총 9회 조사 중 물금과 선암지점에서 각 1회, 하구언지점에서 2회로 나타났다(Table 1). 또한, 전체 식물플랑크톤 현존량에 대한 *Anabaena*의 상대수도는 조사기간 동안 0.2-15.7%의 범위이고 그 평균값은 4.8%로 나타나, 낙동강 하류에서 전체 식물플랑크톤 군집 중 *Anabaena*의 개체군이 차지하는 비율은 크지 않았다(Table 1). 하절기에 본 수역에서 *Microcystis*에 의한 우점도는 거의 100%에 이르는 것으로 보고되고 있다(환경부 2000).

낙동강 하류의 3개 지점 중 전반적으로 하구언지점에서 *Anabaena*의 출현 빈도와 현존량이 가장 높게 나타났다(Table 1). 본 연구에서 하구언 지점은 다른 지점에 비하여 인산염 인, 총인 등이 높게 나타났고, 질산 질소는 낮았다. 일반적으로 *Anabaena*는 무기질소가 낮을 때 다른 남조류에 비하여 생육이 좋다고 보고되어 있다(De Nobel et al. 1998). 또한 인의 농도가 높은 수환경일 때 *Anabaena*가 번성하기에 유리하다고 보고된 바 있다(Al-Homaidan and Arif 1998). 따라서 다른 지점에 비하여 하구언지점에서 *Anabaena*의 출현빈도와 현존량이 높게 나타난 본 연구 결과는 지점별 영양염의 차이에 의한 것으로 추정하였다. 또한, 하구언지점은 본 연구의 3개 지점 중 가장 하류에 위치한 곳이므로 유속의 영향으로 높은 *Anabaena*의 출현빈도와 현존량을 나타낼 가능성이 있다고 추정되었다. 여러 연구들이 유속의 감소가 *Anabaena*의 번무의 중요한 변수가 된다고 보고하고 있다(Hötzl and Croome 1994; Paerl 1996; Maier and Dandy 1997).

본 연구에서 *Anabaena*의 현존량은 수온과 유의한 상관성을 나타내지 않았다. Maier and Dandy (1997)는 일주간격으로 탁도, 색도, 수온을 측정하고, 일간격으로 유속을, 월간격으로 TN, SRP, TP 농도 등을 측정하여

Anabaena 번무를 모델링한 결과, 유속과 수온만이 남조 번무의 유발 및 번무 기간을 결정하는 우세한 변수이며, 다른 요인들은 중요한 변수가 되지 않는다고 보고하였다. 또한 Hötzel and Croome(1994)은 호주의 Darling River에서 1980년부터 12년간 *Anabaena* 번무에 관한 연구를 종합하여 수온이 유속보다 중요한 변수가 된다고 주장하였다. 본 연구에서는 *Anabaena*가 5월과 6월의 수온 상승에 따라 출현하였으나, 출현 이후 *Anabaena* 현존량의 증감에는 수온의 영향이 미미하였다.

본 연구에서 *Anabaena*의 현존량과 질산 질소 등 영양염과 상관 관계를 조사한 결과, 모든 상관계수가 95% 수준에서 그 유의성이 인정되지 않았다. 특히, 수중의 N/P ratio도 유의한 상관을 나타내지 않았다. 일반적으로 영양염은 남조류의 번무에 중요한 변수로 추정되고 있다(De Nobel et al. 1997, 1998; Al-Homaidan and Arif 1998). 그러나 영양염은 광 조건과 pH 등 다른 요소들과 복합적으로 작용하기 때문에, 남조류 번무에 대한 영양염의 영향을 조사할 때 다양한 관점에서 분석하여야 한다고 보고되고 있다(Mur and Schreurs 1995). 남조류의 생육에 끼치는 N/P ratio의 영향에 대하여도 확실한 상관성은 없다는 연구 결과가 있다(Pick and Lean 1987).

*Akinetes*는 Nostocales에 속하는 남조류에서만 볼 수 있는, 형태학적으로나 기능적으로 분화된 특별한 세포이다(Fay et al. 1984). *Akinetes*의 형성은 일반적으로 영양분의 영향보다는 광의 영향을 더 많이 받으며, 특히 인을 제한하면 *akinetes*가 형성되고 인의 농도가 높아질수록 *akinetes*를 형성하는데 걸리는 시간은 길어진다고 보고되어 있다. 또한 배양 조건에 따라서도 그 형성 정도가 달라져 혼합의 정도가 강하면 *akinetes*가 감소하고, 질소나 무기질, 미량 원소, 광 등을 제한하거나 용존산소를 증가시킬 때는 *akinetes*가 형성되지 않는다고 보고되고 있다(Herdman 1987; Dok and Hart 1996). 본 연구에서 *akinetes*를 가진 사상체는 전체의 0-4% 범위였고, 종별로는 *Anabaena smithii*가 2.8%, 지점별로는 선암지점에서 1.4%, 월별로는 9월에 3.0%로 각각 최고를 나타내는 등 전체적으로 *akinetes*의 형성의 정도가 매우 낮았다(Table 3). *Anabaena flos-aquae*, *A. ucrainica*, *A. mucosa* 등은 20°C, 30°C, 35°C에서는 *akinetes*가 형성되지 않으며, 10°C와 15°C에서는 13-77%의 빈도로 *akinetes*가 형성된다고 보고되었다(Li et al. 1997). 본 연구에서는 *Anabaena*의 채집 시 현장의 수온의 범위가 23-31°C이었고, 따라서 높은 수온의 영향으로 *akinetes*의 출현 빈도가 낮을 것이라 추정하였다.

본 연구에서 *akinetes*의 출현 빈도는 수온, 영양염 등 모든 물리·화학적 환경요인들과 상관성이 없었다(Fig. 6). Li et al.(1997)은 *akinetes*의 형성이 영양염의 영향을 받지

않는다고 보고한 바 있다. 대체로 개체군 성장기가 중요하여 개체군 성장정지기에 akinete가 주로 형성되며, 수온의 영향을 가장 많이 받는다고 보고하였다. 특히 akinete와 heterocyst의 형성은 상관성이 높아, heterocyst의 존재가 akinete의 유도에 관여하는 것으로 추정하였다. 본 낙동강 하류의 연구 결과에서 heterocyst가 많이 형성되었을 때 akinete의 출현 빈도가 높아 Li *et al.* (1997)의 결과와 일치하였다 (Table 3).

본 연구에서 heterocyst의 출현 빈도는 1-87% 범위를 나타냈고, 종별로는 *Anabaena smithii*가 55.1%, 지점별로는 물금지점에서 17.6%, 월별로는 8월에 21.4%로 각각 최고를 나타내었고, heterocyst의 출현 빈도는 수온, 영양염 등의 조사한 모든 물리·화학적 환경요인들과 상관성이 없었다 (Fig. 7). Heterocyst는 호기성 질소 고정에 일어나는 장소로서, 이들의 형성에 미치는 영양염의 영향에 대해서는 논란이 진행되고 있는 실정이다. Dok and Hart (1996)는 암모니아 질소의 농도가 0-2.7 mg·l⁻¹의 범위에서 heterocyst 형성의 차이가 없다고 발표하였다. 그러나 Meeks (1998)는 *Nostoc*에서 암모니아 질소 또는 질산 질소 등의 무기질소가 존재하면 heterocyst가 형성되지 않는다고 발표하였고, Vaishampayan *et al.* (1998)은 *Nostoc muscorum*에서 질소의 유무가 heterocyst의 빈도에 큰 차이를 일으킨다고 보고하는 등 현재까지도 논란이 진행되고 있다. 대체로 *Anabaena*는 20°C에서 질소 고정 능력이 최대가 되는 것으로 알려져 있다 (Liengen 1999). 특히, 이미 성숙했거나 발달 과정에 있는 heterocyst는 근접한 체세포의 분화를 저해하는 것으로 보고되고 있다 (Wolk 1996).

*Anabaena*의 질소 고정은 에너지를 소비하기 때문에, 부영양화된 수계에서 질소를 고정할 수 있는 *Anabaena*는 질소를 고정하지 않는 남조 *Microcystis*, *Oscillatoria*에 비하여 생육이 불리하며, 이에 따라 부영양화된 네덜란드 수계에서 *Anabaena*는 *Microcystis*에 비해 현존량이 적다고 보고된 바 있다 (Zevenboom and Mur 1980). 우리나라에서도 소양호와 대청호를 제외한 거의 모든 호수에서 여름철 우점종은 주로 *Microcystis*나 *Oscillatoria* 등이다 (Park *et al.* 1998). 본 연구에서도 *Anabaena*가 크게 번무하지 못한 것은 부영양화 수계에서 *Anabaena*의 생육이 불리하다는 기존의 보고와 상관성이 있을 것으로 추정하였다.

본 조사에서 낙동강 하류의 남조의 조체 시료에서 anatoxin-a를 분석한 결과, 전 시료에서 HPLC 검출 한계 이하로 나타났다 (Table 4). 우리나라에서 조사된 anatoxin-a의 농도는 불검출에서부터 장성호의 1,444 µg·l⁻¹에 이르는 것으로 보고되었다 (Table 5).

Anatoxin-a의 분석 방법에는 HPLC가 가장 흔히 사용

Table 5. The anatoxin-a concentrations in the natural algal materials from Korean freshwater

Location	Date	Anatoxin-a (µg·g ⁻¹ dry weight)
Lake Soyang	October, 1993	N.D. ¹
Lake Chungju	September, 1992	1,190 ¹
Lake Daechong	October, 1994	N.D. ¹
Lake Jangseong	October, 1992	1,444 ¹
Lake Yeongnang	October, 1993	417 ¹
Lake Yeongsan	October, 1992	570 ¹
Naktong River		
Lake Hapcheon	October, 1994	N.D. ¹
Mulgeum	August, 1994	N.D. ¹
	May - September, 2000	N.D. ²
Hagyeon	May - September, 2000	N.D. ²
Seonam	May - September, 2000	N.D. ²

N.D., Not Detectable

¹ Park *et al.* (1998)

² The present study

되며, 최근에는 본 연구 방법에서와 같이 NBD-F로 유도 체화하여 Fluorescence Detector로 검출하는 방법이 사용되고 있다. 이 기법의 검출 한계는 0.1 µg·l⁻¹이며, 1-20 µg·l⁻¹의 범위에서 좋은 상관관계를 보였다 (James and Sherlock 1996). 본 연구의 분석 방법의 검출 한계는 0.1 µg·l⁻¹이었고, anatoxin-a 표준시료의 회수율이 평균 91%를 보여 우수한 분석법이라고 사료되었다.

일반적으로 *Anabaena*는 종에 따라 독성의 정도가 다르다고 보고되고 있고, 본 연구에서 출현 빈도가 가장 높은 *A. flos-aquae*는 신경독소가 있을 확률이 40%인 것으로 보고된 바 있다 (Willén and Mattsson 1997). 본 연구에서 *A. flos-aquae*가 우점할 시기의 조체 분석에서 anatoxin-a는 검출되지 않아 독성이 없는 strain으로 추정하였다. 우리나라에서는 충주호, 영랑호 등지에서 anatoxin-a가 검출된 바 있다 (Park *et al.* 1998) (Table 5).

*Anabaena*는 환경요인에 따라 독성의 생성 정도가 달라진다. 특히 인산염 인과 질산 질소과 같은 영양염의 농도에 따라 독성의 정도가 다르고, 인산염 인이 낮고 질산 질소가 높을 때 신경독소가 증가하며, 인산염 인이 높으면 무독성이 된다고 보고되고 있다 (Sivonen *et al.* 1989). 본 연구에서 낙동강 하류의 남조의 조체 시료에서 anatoxin-a를 분석한 결과, 전 시료에서 HPLC 검출 한계 이하로 나타났다 (Table 4). 이 때 질산 질소는 1,447-2,591 µg·l⁻¹, 인산염 인은 15-122 µg·l⁻¹로 비교적 높은 농도를 나타내었다.

본 연구의 *Anabaena* 개체군에서 *A. flos-aquae*는 가장 출현 빈도가 높은 종이였다 (Fig. 5). 이 종은 대량 번무를

이루는 *Anabaena* 중 가장 출현 빈도가 높아 43%에 이르는 대표적 scum forming *Anabaena*로 보고되고 있고, anatoxin-a, microcystin, anatoxin-a(s) 등의 독소를 생산하는 것으로 보고되어 있다(Krishnamyrthy et al. 1989; Matsunaga et al. 1989; Sivonen et al. 1989; Park et al. 1993; James et al. 1997). 특히 이 종은 신경독소가 있을 확률이 40%, 간독소가 있을 확률이 5%가 되어, 독성의 확률이 높다고 보고되어 있다(Willén and Mattsson 1997). 낙동강 하류 수역은 용수원 및 식수원으로 역할이 큰 만큼 추후 이 종에 대한 면밀한 개체군 동태 연구가 요구된다.

Acknowledgments

본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(R01-2000-000-00068-0) 지원으로 수행되었음.

참고문헌

- 김범철, 김재욱, 전만식, 황순진. 1999. 소양호 동·식물플랑크톤의 계절변동. 한국육수학회지 32: 127-134.
- 김용재, 이정호. 1996. 낙동강 수계에 6개 댐호의 식물플랑크톤 군집구조 비교. 한국육수학회지 29: 347-362.
- 이은주, 김범철, 조규송. 1998. 소양호 지류(상절리)에서의 식물플랑크톤 군집구조(1982-1997). 한국육수학회지 31: 119-128.
- 정 준. 1993. 한국담수조류도감. 도서출판 아카데미서적. 469 pp.
- 환경부. 2000. 낙동강 수계에서의 남조류독성 연구 및 그 제거방안. 489pp.
- Al-Homaidan A.A. and Arif I.A. 1998. Ecology and bloom-forming algae of a semipermanent rain-fed pool at Al-Kharj, Saudi Arabia. *J. Arid Environ.* 38: 15-25.
- APHA, AWWA, WEF. 1998. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th ed. Washington, D.C.
- Baker P.D. and Humpage A.R. 1994. Toxicity associated with commonly occurring cyanobacteria in surface waters of the Murray-Darling Basin, Australia. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 45: 773-786.
- Bormans M. and Condie S.A. 1998. Modelling the distribution of *Anabaena* and *Melosira* in a stratified river weir pool. *Hydrobiologia* 364: 3-13.
- Carmichael W.W. 1993. Disease related to freshwater blue-green algae toxins and control measures. In: Falconer I.R. (ed.), *Algal Toxins in Seafood and Drinking Water*. Academic Press, Cambridge. pp. 187-209.
- Codd G.A. 2000. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. *Ecol. Engineer.* 16: 51-60.
- De Nobel W.T. (Pim), Huisman J., Snoep J.L. and Mur L.R. 1997. Competition for phosphorus between the nitrogen-fixing cyanobacteria *Anabaena* and *Aphanizomenon*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 24: 259-267.
- De Nobel W.T. (Pim), Matthijs H.C.P., Elert E.R. and Mur L.R. 1998. Comparison of light-limited growth of the nitrogen-fixing cyanobacteria *Anabaena* and *Aphanizomenon*. *New Phytol.* 138: 579-587.
- Dok W. and Hart B.T. 1996. Akinete differentiation in *Anabaena circinalis* (Cyanophyta). *J. Phycol.* 32: 557-565.
- Fay P., Lynn J.A. and Majer S.C. 1984. Akinete development in the planktonic blue-green alga *Anabaena circinalis*. *Br. Phycol. J.* 19: 163-173.
- Herdman M. 1987. Akinetes: structure and function. In: Fay P. and Van Baalen C. (eds), *The Cyanobacteria*. Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, New York, Oxford. pp. 227-250.
- Hiroki M., Shimizu A., Li R., Watanabe M. and Watanabe M.M. 1998. Development of a database system useful for identification of *Anabaena* spp. (Cyanobacteria). *Phycol. Res.* 46: 85-93.
- Hötzel G. and Croome R. 1994. Long-term phytoplankton monitoring of the Darling River at Burtundy, New South Wales: incidence and significance of cyanobacterial blooms. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.* 45: 747-759.
- James K.J. and Sherlock I.R. 1996. Determination of cyanobacterial neurotoxin, anatoxin-a, by derivatization using 7-fluoro-4-nitro-2,1,3-benzoxadiazole (NBD-F) and HPLC analysis with fluorimetric detection. *Biomed. Chromatogr.* 10: 46-47.
- James K.J., Sherlock I.R. and Stack M.A. 1997. Anatoxin-a in Irish freshwater and cyanobacteria, determined using a new fluorimetric liquid chromatographic method. *Toxicon* 35: 963-971.
- Krishnamyrthy T., Szafraniec L., Hunt D.F., Shabanowitz J., Yates J.R., Hauer C.R., Carmichael W.W., Skulberg O., Codd G.A. and Missler S. 1989. Structural characterization of toxic cyclic peptides from blue-green algae by tandem mass spectrometry. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 86: 770-774.
- Li R., Watanabe M. and Watanabe M.M. 1997. Akinete formation in planktonic *Anabaena* spp. (cyanobacteria) by treatment with low temperature. *J. phycol.* 33: 576-584.
- Liengen T. 1999. Environmental factors influencing the nitrogen fixation activity of tree-living terrestrial cyanobacteria from a high arctic area, Spitsbergen. *Can. J. Microbiol.* 45: 573-581.
- Maier H.R. and Dandy G.C. 1997. Modelling cyanobacteria (blue-green algae) in the River Murray using artificial neural networks. *Math. Comput. Simul.* 43: 377-386.
- Matsunaga S., Moore R.E., Niemczura W.P. and Carmichael W.W. 1989. Anatoxin-a(s), a potent anticholinesterase from *Anabaena flos-aquae*. *J. Amer. Chem. Soc.* 111: 8021-8023.
- Meeks J.C. 1998. Symbiosis between nitrogen-fixing cyanobacteria and plants. *BioScience* 48: 266-276.
- Mur L.R. and Schreurs H. 1995. Light as a selective factor in the distribution of phytoplankton species. *Wat. Sci. Technol.* 32: 25-34.
- Namikoshi M. and Rinehart K.L. 1996. Bioactive compounds produced by cyanobacteria. *J. Indus. Microbiol.* 17: 373-384.

- Paerl H.W. 1996. A comparison of cyanobacterial bloom dynamics in freshwater, estuarine and marine environments. *Phycologia* **35** (Suppl.): 25-35.
- Park H.-D., Kim B., Kim E. and Okino T. 1998. Hepatotoxic microcystins and neurotoxic anatoxin-a in cyanobacterial blooms from Korean Lakes. *Environ. Toxicol. Water Qual.* **13**: 225-234.
- Park H.-D., Watanabe M.F., Harada K.-I., Nagai H., Suzuki M., Watanabe M. and Hayashi H. 1993. Hepatotoxin (microcystin) and neurotoxin (anatoxin-a) contained in natural blooms and strains of cyanobacteria from Japanese freshwater. *Nat. Toxins* **1**: 353-360.
- Pick F.R. and Lean D.R.S. 1987. The role of macronutrients (C, N, P) in controlling cyanobacterial dominance in temperate lakes. *N.Z. J. Mar. Freshwat. Res.* **21**: 425-434.
- Rapala J. and Sivonen K. 1998. Assessment of environmental conditions that favor hepatotoxic and neurotoxic *Anabaena* spp. strains cultured under light limitation at different temperatures. *Microb. Ecol.* **36**: 181-192.
- Sherman B.S., Webster I.T., Jones G.J. and Oliver R.L. 1998. Transitions between *Aulacoseira* and *Anabaena* dominance in turbid river weir pool. *Limnol. Oceanogr.* **43**: 1902-1915.
- Sivonen K., Himberg K., Luukkainen R., Niemilä S.I., Poon G.K. and Codd G.A. 1989. Preliminary characterization of neurotoxic blooms and strains from Finland. *Tox. Assess.* **4**: 339-352.
- Skulberg O.M., Carmichael W.W., Codd G.A. and Skulberg R. 1993. Taxonomy of toxic cyanophyceae (cyanobacteria). In: Falconer I.R. (ed.), *Algal Toxins in Seafood and Drinking Water*. Academic Press, London. pp. 145-164.
- Vaishampayan A., Sinha R.P. and H der D.-P. 1998. Use of genetically improved nitrogen-fixing cyanobacteria in rice paddy fields: Prospects as a source material for engineering herbicide sensitivity and resistance in plants. *Bot. Acta.* **111**: 176-190.
- Velzeboer R., Drikas M., Donati C., Burch M. and Steffensen D. 1995. Release of geosmin *Anabaena circinalis* following treatment with aluminium sulphate. *Wat. Sci. Technol.* **31**: 187-194.
- Vollenweider, R.A. 1968. *Water Management Research; Scientific Fundamentals of the Eutrophication of Lakes and Flowing Water, with Particular Reference to Nitrogen and Phosphorus as Factors in Eutrophication*. OECD, Paris, Technical Report DAS/CSI/68.27.
- Watanabe M. 1992. Studies on planktonic blue-green algae 4. Some *Anabaena* species with straight trichomes in Japan. *Bull. Natn. Sci. Mus., Tokyo, Ser. B.* **18**: 123-137.
- Watanabe M. 1998. Studies on planktonic blue-green algae 8. *Anabaena* species with twisted trichomes in Japan. *Bull. Natn. Sci. Mus., Tokyo, Ser. B.* **24**: 1-3.
- Watanabe M. 1999. 日本のアオコ. 東京. 52 pp.
- Willén T. and Mattsson R. 1997. Water-blooming and toxin-producing cyanobacteria in Swedish fresh and brackish waters, 1981-1995. *Hydrobiologia* **353**: 181-192.
- Wolk C.P. 1996. Heterocyst formation. *Ann. Rev. Genetics* **30**: 59-78.
- Zevenboom W. and Mur L.R. 1980. N₂ fixing cyanobacteria, why they do not become dominant in Dutch hypertrophic lakes. *Dev. Hydrobiol.* **2**: 123-130.