Algae
Volume 20(2): 113-120, 2005

수종 담수적조 원인종들의 형광특성과 적용연구

손문호 · **Ismayil S. Zulfugarov**[1] · 권오섭 · 문병용[2] · 정익교[3] · 이춘환[1] · 이진애*

(인제대학교 환경학과, 부산대학교 분자생물학과[1], 인제대학교 생명공학부[2], 부산대학교 해양과학과[3])

The study on the Fluorescence Characteristics of Several Freshwater Bloom Forming Algal Species and Its Application

Moon-Ho Son, Ismayil S. Zulfugarov[1], O-Seob Kwon, Byoung-Young Moon[2], Ik Kyo Chung[3], Choon-Hwan Lee[1] and Jin Ae Lee*

Department of Environmental Science and Engineering, Inje University, Kimhe 621-749,
[1]Department of Molecular Biology, Pusan National University, Busan 609-735,
[2]School of Biotechnology and Biomedical Science, Inje University, Kimhe 621-749 and
[3]Department of Marine Science, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

The freshwater blooms mainly blue-green algal blooms occur frequently in the lower Naktong River in summer, which provoke many socio-economical problems; therefore, the early detection of bloom events are demanding through the quantitative and qualitative analyses of blue green algal species. The i*n vivo* fluorescence properties of cultured strains of *Microcystis aeruginosa, M. viridis, M. wesenbergii, M. ichthyoblabe, Anabaena cylindrica, A. flos-aquae,* and *Synedra* sp. were investigated. Wild phytoplankton communities of the lower Naktong River were also monitored at four stations in terms of their standing stocks, biomass and fluorescence properties compared with its absorption spectram. The 77K fluorescence emission spectra of each cultured strains normalized at 620 nm was very specific and enabled to detect of blue green algal biomass qualitatively and quantitatively. The relative chlorophyll *a* concentration determined by chlorophyll fluorescence analysis method showed significant relationship with chlorophyll *a* concentration determined by solvent extraction method (R^2 = 0.906), and the blue-green algal cell number determined by microscopic observation (R^2 = 0.588), which gives insight into applications to early detection of blue green algal bloom.

Key Words: blue-green algal bloom, chlorophyll, fluorescence, *Microcystis*, 77K fluorescense

서 론

온대나 아열대 기후역에 있는 호수, 강, 저수지는 최근 인간 활동과 관련된 부영양화가 급속히 진행되어 주로 여름철에 수화가 발생하고 있다. 특히 수화의 원인 종인 남조류는 맛과 냄새, 그리고 일부는 독소를 생성하여 공중보건 문제를 일으켜 전세계적인 문제로 대두되고 있다(Carmichael 1993; Velzeboer *et al.* 1995; Namikoshi and Rinehart 1996; Codd 2000). 특히 수자원이 상수원으로 사용되는 경우에는 남조류 대발생 시작 초기에 대발생의 징후를 포착하는 조기 경보시스템이나 조기 생물량 판정 등이 필요하다. 현재 우리나라의 남조류 관한 연구는 주로 현황 파악에 편중되어 있으며, 남조의 생리 · 생태 기초 연구는 일부 연구자에 의해 제한적으로 진행되고 있는 실정이다. 따라서, 낙동강 하류수역 남조의 생리와 생태에 대한 기초연구가 요구되며, 주로 하절기에 크게 번성하는 남조류를 신속히 발견하여 초기에 대처 할 수 있어야 할 것이다.

엽록소는 엽록체 내의 틸라코이드막에서 단백질과 비공유결합 상태로 존재하며, 이를 엽록소-단백질 복합체

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

(chlorophyll-protein complex, CP 복합체)라고 한다. 광의 흡수에 의해 들뜬상태에 있는 CP 복합체의 엽록소 분자의 에너지는 일부가 광합성에 이용되고, 나머지는 형광, 또는 인광 또는 열로 방출되고 기저상태로 된다. 이때 형광은 주로 제2광계에서 방출된다. 방출된 형광스펙트럼은 식물플랑크톤의 광합성 활성에 대한 많은 정보를 갖고 있으며 (Lichenthaler 1988; Eullaffroy and Vernet 2003), 세포내 미세구조와 미묘한 변이도 방출 형광 스펙트럼 분석으로 조사할 수 있다(이 1992).

광합성 생물의 막구조물을 생화학 방법으로 분리하지 않고 비파괴적 방법으로 구조의 변이를 조사하기 위하여 77K 방출 형광 스펙트럼을 이용한 curve-fitting법 (Gaussian deconvolution법)이 흔히 사용되어 왔다(Murata and Satoh 1986; Seely and Connolly 1986). 색소의 형광측정은 흡광을 측정하는 것에 비해 빠르고 더 민감하며, 형광을 분석할 경우 감지도를 수백, 수천배로 높일 수 있을 뿐만 아니라 살아있는 세포를 대상으로 측정할 수 있다(Holm-Hansen *et al.* 1965; Margalef 1983). 이러한 형광특성을 식물플랑크톤의 정량 또는 정성 분석에 이용하고 있으며, 식물플랑크톤 동정의 새로운 방법으로도 제안되고 있다(Yentch and Phinney 1985; Jeffrey 1997). 그러나 아직까지 분류군 간의 차이를 쉽게 나타낼 수 없는 문제점이 있다(이 1992).

다채널 파장 (470 nm, 535 nm, 620 nm, 650 nm) 유도형광 분석을 이용하면, 남조류의 phycobilin계 색소에서 방출되는 낮은 형광값을 보정할 수 있어 각 분류군별 특히 남조, 규조, 녹조 등의 군집의 동태를 신속하고 정확하게 분석할 수 있다. 또한, 각 파장별 (470 nm, 535 nm, 620 nm, 650 nm) 식물플랑크톤 군집의 유도형광으로 각 분류군별 광합성 활성(제2광계)을 분석하여 *in vivo* 상태에서 군집의 천이와 활성, 그리고 현존량을 간접적으로 측정할 수 있다. 남조류의 특징적인 광수집 색소(light harvesting pigment)와 형광스펙트럼을 이용한 남조류의 정량과 정성 분석 방법은 남조류의 신속한 검색에 이용될 수 있으므로, 이에 대한 기초자료를 확보할 필요가 있다. 이것은 주로 광합성 연구에 사용되는데 광합성 시 전자전달의 활성과 에너지 손실과정의 관계를 이용하여 간접적으로 생물량 또는 활성을 측정하는 것이다 (Juneau *et al.* 2001). 그리고 식물체에 대한 중금속 등의 오염물에 의한 영향을 광합성 활성을 측정하여 간접적으로 알아보는 등 여러 환경 요인에 의해 식물체에 영향을 미치는 정도를 알아볼 수 있다(Bentley-Mowat and Reid 1977; Stauber and Florence 1987; Juneau *et al.* 2001; Song *et al.* 2004). 엽록소 형광분석을 통한 연구는 생물검증에도 적용할 수 있는 이점을 이용하여 수행되어져 왔으나, 형광특성을 규명하여 특정한 생물의 양을 측정하고 monitoring하는 연구는 많지 않다.

본 연구의 목적은 식물플랑크톤 군집의 엽록소 혹은 광계의 형광특성을 이용하여 낙동강 하류의 담수 적조 원인 종인 남조류 군집의 변화를 신속하고 정확하게 감지하는 기법의 개발을 위한 기초 연구 자료의 축적이다. 남조류 대발생 현상이 빈번한 낙동강 하류수계에서 남조류 출현이 예측되는 시기에 군집의 구조변화를 엽록소 추출법과 현미경관찰로 정량·정성적으로 규명한 결과와, 현장시료의 형광을 직접 또는 유도형광을 분석한 결과를 비교하여 남조류 대발생의 징후를 조기에 포착할 수 있는 방법을 개발하고자 시도되었다.

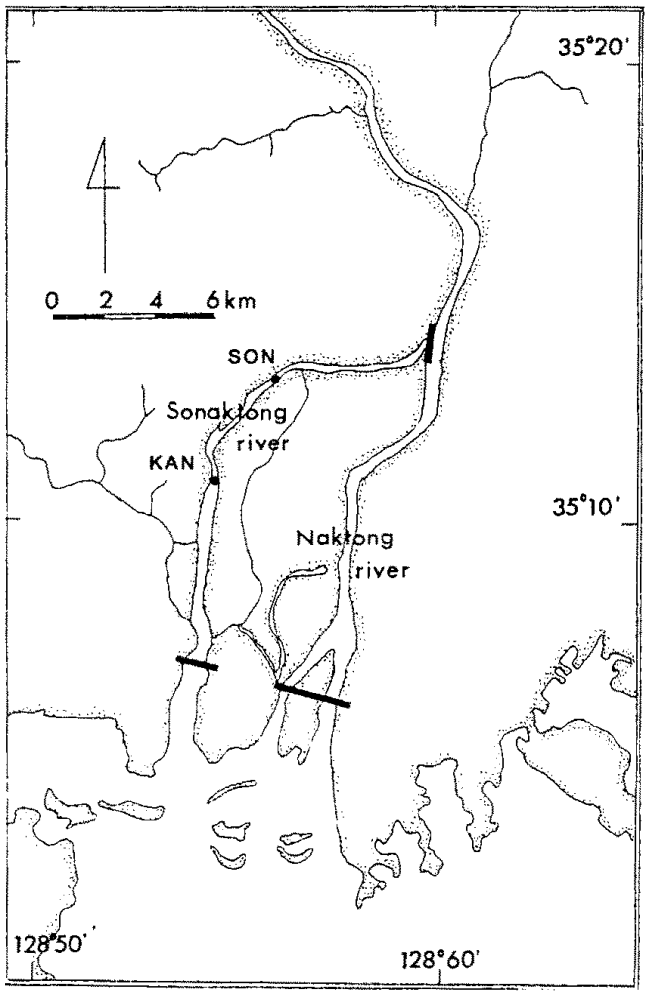

Fig. 1. Map showing the sampling stations; SON (Sonam), KAN (Kangdong).

재료와 방법

조사지점과 조사시기

본 연구에서는 서낙동강 수역에 위치한 선암(SON), 강동(KAN) 등 2개 지점에서 2003년 5월에서 10월까지 1–2주 간격으로 조사하였다(Fig. 1).

Table 1. The culture strains used in the present study

Species name	Collection source & year	Collector
Microcystis aeruginosa	Lake Sapgyo, 1993	National Institue of Environmental Resarch, Korea, Algal Culture Collection
Microcystis viridis	Naktong River, 1997	Choi, A.R., Inje University
Microcystis wesenbergii	Naktong River, 1997	Choi, A.R., Inje University
Anabaena cylindrica	Unknown, 1999	IAM Culture Collection, Japan
Anabaena flos-aquae	ATCC-22664, 1990	National Institue of Environmental Research, Korea, Algal Culture Collection
Synedra sp.	Naktong River, 2002	Cho, K.J., Inje University

식물플랑크톤 군집 분석

식물플랑크톤의 현존량을 측정하기 위해 채수한 시료를 현장에서 Lugol's solution으로 고정한 후 실험실로 운반하였다. 출현한 종을 동정하기 위한 시료는 식물플랑크톤 네트를 이용하여 수계 식물플랑크톤을 채취한 후 현장에서 5% 중성 포르말린 용액으로 고정한 후 실험실로 운반하였다. 1일 이상 침강시킨 후 상등액을 제거하여 1/10로 농축시키고, 농축 시료를 1 m*l* 용량의 Sedgwick-Rafter cell에 골고루 분산시킨 뒤 광학현미경(Olympus, model BX50)으로 세포수를 계수하였다. 군체의 경우 군체당 평균세포수를 계수하여 군체 수와 곱하여 세포수를 구하였고, 정(1968), Mizuno(1977), 정(1993) 등의 도감을 참고로 동정하였다.

식물플랑크톤의 생물량은 엽록소 *a* 함량으로 추정하였다. 각 지점의 표층에서 채수하여 시료를 GF/C 여과지로 여과 후, 이를 90% acetone 용액에 담가 마쇄한 뒤 12시간 이상 암냉 상태에서 엽록소 *a*를 추출하였다. 추출 후 여과지로 걸러 흡광도를 측정하여 정량하였다(Jeffrey and Humphrey 1975).

77K 방출 형광 스펙트럼과 흡광스펙트럼 측정

현장에서 분리한 *Microcystis viridis, M. wesenbergii, Synedra* sp. 등 3종과 타 기관에서 분양받은 *M. aeruginosa, Anabaena cylindrica A. flos-aquae* 등 3종을 대상으로 조사하였다. 형광 연구에 사용된 조류 단종 배양종에 대한 정보는 Table 1과 같다.

조류의 단종 배양시료를 준비하여 최대 흡광도 값이 0.05 전도가 되도록 조정 후 77K 형광 스펙트럼을 구하였다. *Microcystis viridis*의 개체밀도에 따른 형광 스펙트럼을 비교한 결과를 토대로 10^3 cells·ml^{-1} 이상의 시료를 이용하여 77K 방출 형광스펙트럼을 작성하였다.

현장 시료는 서낙동강 수계에서 2003년 4회에 걸쳐 표층수를 250–300 m*l*를 채수하여 0.45 μm 크기의 membrane 여과지

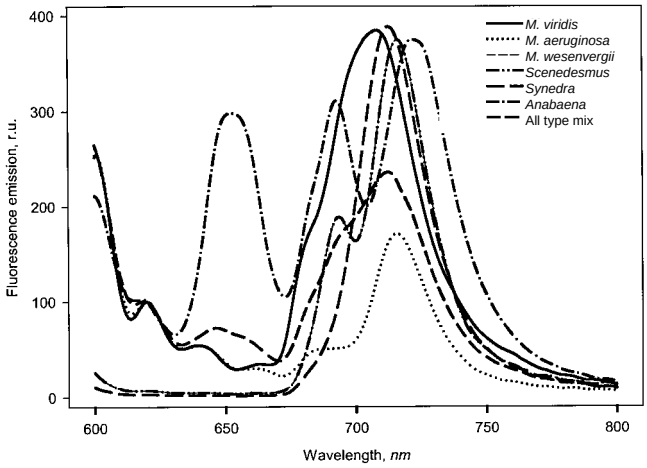

Fig. 2. 77K fluorescence emission spectra of the 4 culture strains. The spectra were normalized on the basis of the value at 620 nm (Excitation wavelength = 440 nm). ——, *Microcystis viridis*; ·····, *M. aeruginosa*; ----, *M. wesenvergii*; –··–, *Scenedesmus*; — —, *Synedra*; – · –, *Anabaena*; – –, All type mix.

(Adventec MFS, Japan)로 여과한 후 0.1M 인산염 완충액(pH 6.8)으로 조류세포를 수집하여 냉장 보관하였고, 24시간 이내에 분석하였다. 수집한 시료를 4 mm 유리 큐벳에 넣어 액체질소로 급냉각시켰고, 형광스펙트럼의 흡수극대가 크게 중첩되는 것을 피하기 위해 77K에서 분석하였다. 시료의 방출 형광의 흡광스펙트럼을 측정하기 위해 F-4500 Fluorescence spectrophotometer(Hitachi, Japan)를 이용하였다. 여기 파장 400–700 nm 방출 파장 400–800 nm에서 형광스펙트럼을 측정하였다. 형광 측정에서 각 여기광 및 방출광이 지나가는 slit의 크기는 5 nm로 하였다. 광합성계의 제1광계와 제2광계의 방출 형광량을 차이를 구하여 분석에 이용하였다. 720 nm는 제1광계(PS I)를, 685 nm와 695 nm는 제2광계(PS II)를 대표하는 값으로 정하였고, F685/F720, F695/F720은 각 파장에 해당하는 방출 형광량을 이용하여 구하였다(Murakami 1997).

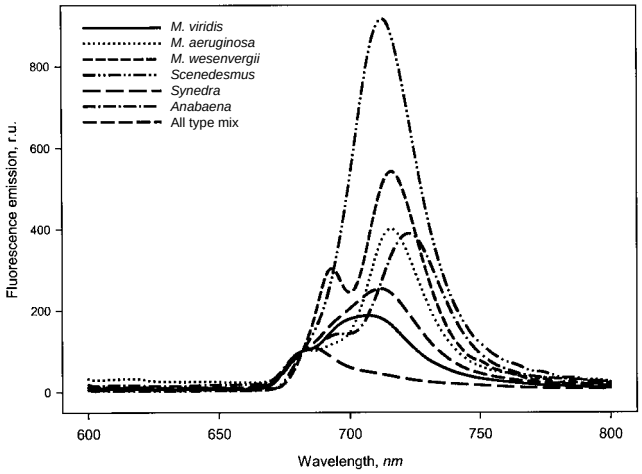

Fig. 3. Fluorescence emission spectrum excited at 440 nm at 77K. Spectrum were normalized at 682 nm. ——, *Microcystis viridis*; ·····, *M. aeruginosa*; ----, *M. wesenvergii*; –··–, *Scenedesmus*; — —, *Synedra*; – · –, *Anabaena*; – –, All type mix.

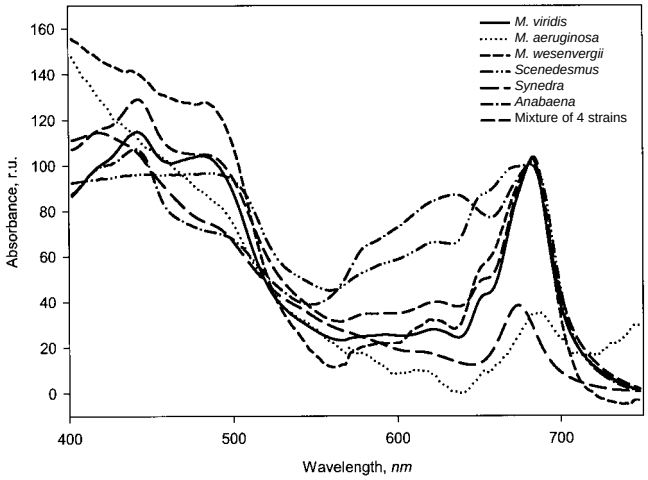

Fig. 4. Absorption spectra of the algae samples at room temperature. ——, *Microcystis viridis*; ·····, *M. aeruginosa*; ----, *M. wesenvergii*; –··–, *Scenedesmus*; — —, *Synedra*; – · –, *Anabaena*; – –, Mixture of 4 strains.

상온 엽록소 형광의 분석

식물플랑크톤 군집의 엽록소 유도 형광의 분석은 Phytopam(Phytoplankton analyzer Pulse-Amplitude-Modulation, Walz, Germany)으로 수행하였다. 제조회사에서 제시된 측정방법에 따라 시료의 형광, 엽록소 함량, 전자전달활성을 2–3번 반복하여 측정했다. 파장별(470 nm, 535 nm, 620 nm, 650 nm) 엽록소 형광을 측정한 후 각 분류군별로 형광의 세기를 구하여 생물량을 간접적으로 추정하였다.

결과와 고찰

배양시료의 77K 방출 형광 스펙트럼

남조류에서 형광을 방출할 수 있는 색소 단백질 복합체는 phycocyanin(PC), allophycocyanin(APC), 광계 2(PS II), 광계 1(PS I)이다. 그러나 PC와 APC는 바로 광계 II로 흡수 에너지를 전달하므로 77K 형광스펙트럼은 주로 광계 I과 광계 II의 형광만을 뚜렷이 보여준다. 단일 배양종 세포로부터 유도된 77K 방출 형광 스펙트럼을 구한 후 유리 phycocyanin의 방출 형광파장인 620 nm에서의 형광세기 기준으로 각 종의 스펙트럼을 보정하여 도시한 결과 종에 따라 크게 다른 특성을 보여주었다(Fig. 2). 남조류인 *Microcystis aeruginosa*와 *M. viridis*는 710 nm 부근에서 단일 극대점의 형광값을 갖는 유사한 경향을 보였지만, *Anabaena cylindrica*는 650, 690, 720 nm에서 최대 형광을 갖는 3개의 극대점을 보였다. 규조류인 *Synedra* sp.는 690 nm에서 최대형광을 갖는 단일 극대점을 나타내었다. 전체적으로 720 nm에서 나타난 방출 형광스펙트럼 수치와 685 nm, 695 nm에서 나타난 수치는 종별로 차이가 다소 많이 나는 것을 볼 수 있다. 따라서 현장의 군집 종구성이 *Microcystis*에서 *Anabaena*, 혹은 *Synedra* 종으로 바뀔 경우나 다른 경우에도 현장 시료의 방출 형광의 스펙트럼의 양상이 변화할 것이다. 본 조사기간 중에 조사된 현장 시료는 이러한 조건에 적합한 경우가 발생하지 않았지만 Fig. 2에 나타난 종들의 형광 스펙트럼의 특성으로 충분히 감지할 수 있을 것이다. 따라서 *Microcystis, Anabaena*와 *Synedra*의 군집 구성과 밀도의 변화는 형광 스펙트럼의 변화에서 감지할 수 있을 것이다. 이러한 경향은 680 nm 값으로 스펙트럼을 표준화한 경우 뚜렷이 확인할 수 있으며(Fig. 3), 상온 흡광스펙트럼에서도 잘 나타났다(Fig. 4). Fig. 4의 스펙트럼은 세포내 색소의 분포를 반영하나 사용한 종 간의 차이가 적어 이들 종들이 혼합된 시료를 구별하려면 Fig. 3과 같은 형광스펙트럼을 근거로 분석하는 것이 좋다고 판단한다.

77K 방출 형광스펙트럼에서 685 nm 695 nm, 710 720 nm 범위의 값은 각각 PS II, PS I로부터 유래한다. *Microcystis aeruginosa*와 *M. viridis*의 경우, 에너지 전이에 따른 APC의 형광은 미미하였고, PSII 보다는 PSI 형광이 강하게 나타났다. *Anabaena cylindrica*는 PC, PS II, PS I이 다른 연구 결과와 같이 비슷한 값으로 나타났다(Bryant 1994; Murakami 1997; Misra and Mahajan 2000). 이에 비해 *Synedra* sp.는 PS II가 PS I에 비해 많이 분포하였다.

광합성에 이용되는 파장에 따라 남조류, 녹조류, 유관속식물 등의 PS I/PS II 비율이 바뀐다. 특히, 남조류의 PS II/PS I 비율은 광도, CO_2 농도, NaCl 농도에 따라 변화하며 phycobilisome이 결여된 돌연변이체는 낮은 PS II/PS I 비율을 갖는다(Bruce *et al.* 1989; Ajlani *et al.* 1995). 77K 방출 형광스펙트럼에서 F685/F720를 조사한 결과 *Microcystis aeruginosa*는 0.03, *M. viridis*는 0.77, *M. wesenbergii*는 0.30, *Anabaena*

Table 2. Composition of 3 major phytoplankton taxa and fluorescence intensity ratio (F685/F720 and F695/F720) in the Sonaktong River in 2003

		Total standing crop (cells · ml^{-1})	Cyanophyceace (%)	Bacillariophyceace (%)	Chlorophyceace (%)	F685/F720	F695/F720
SON	Sep 03	2,490	65	24	10	1.283	1.371
	Sep 18	990	56	7	36	1.263	1.235
	Sep 25	38,900	86	1	12	1.210	1.092
	Oct 01	6,835	90	5	4	1.345	1.285
KAN	Sep 03	5,250	31	11	57	1.432	1.485
	Sep 18	3,037	47	30	22	1.313	1.205
	Sep 25	9,605	34	2	63	1.320	1.178
	Oct 01	5,790	24	35	40	1.377	1.352

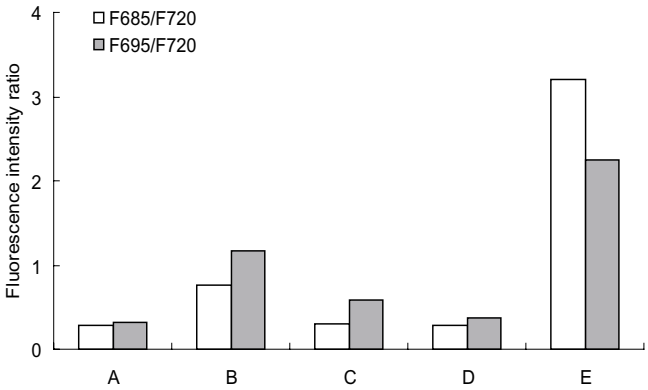

Fig. 5. 77K fluorescence intensity ratio of *Microcystis aeruginosa* (A), *M. viridis* (B), *M. wesenbergii* (C), *Anabaena cylindrica* (D), *and Synedra* sp. (E).

*cylindrica*는 0.28, *Synedra* sp.는 3.21의 비율을 보였다. 또한, F695/F720의 비율을 조사한 결과 *M. aeruginosa*는 0.33, *M. viridis*는 1.17, *M. wesenbergii*는 0.58, *Anabaena cylindrica*는 0.37, *Synedra* sp.는 2.24의 비율을 보였다(Fig. 5). 전체적으로 *Synedra* sp.의 F685/F720과 F695/F720이 가장 높게 나타났다. 이와 달리, 남조류에서는 *M. viridis*의 비율이 높았고, *M. aeruginosa*가 낮았으며 조사된 남조류의 F685/F720과 F695/F720의 평균값은 각각 0.35, 0.61이었다.

F685 혹은 F695는 광합성계의 PS II로부터, 그리고 F720은 PS I으로부터 유래한 형광이므로 F685/F720 혹은 F695/F720의 비율은 PS I과 PS II의 비율을 가리킨다. 배양 플랑크톤 시료에 대한 이들 비율을 분석한 결과 규조류인 *Synedra*의 경우 2.2–3.2 범위의 높은 값을 나타낸 반면 남조류인 *Microcystis*와 *Anabaena*는 0.03–1.17의 비교적 넓은 범위의 값을 보였다. 따라서 이를 이용한 현장 식물플랑크톤 군집의 조성 변화을 조기에 발견할 수 있을 것이다. 그러나 보조색조의 구성과 함량 변화의 차이는 배양 조건에 따라서도 달라질 수 있어 더 많은 연구와 현장 자료가 필요하다(Jeffrey and LeRoi 1997).

서낙동강 시료의 식물플랑크톤 조성과 77K 방출 형광 스펙트럼의 F685/F720와 F695/720 비율

서낙동강 유역에서 식물플랑크톤 조성에서 남조류를 조기에 파악하기 위해 선암지점과 강동지점에서 시료를 채취하여 현존량을 측정하는 동시에 77K 방출 형광스펙트럼을 조사하였다. 2003년 9월동안 선암지점의 생물량의 변화는 990–38,900 cells·ml^{-1} 의 범위를 나타냈다. 이중 남조류는 56–90%로 높은 출현빈도를 보였고, 규조류는 1–24%, 녹조류는 4–36%였다. 77K 형광방출 스펙트럼으로부터 산출한 F685/F720은 1.210–1.345의 범위를 보였으며 이중 10월 1일 시료에서 측정값의 비율이 가장 높았다. F695/F720의 경우 1.092–1.371의 범위를 보였고 9월 1일 시료 측정값의 비율이 가장 높았다. 강동지점의 현존량 변화는 3,037–9,605 cells·ml^{-1}의 범위를 나타내었고, F685/F720은 1.313–1.432의 범위를 보였고 9월 1일 시료 측정값의 비율이 가장 높았다. 선암지점의 방출 형광스펙트럼의 강동지점의 경우 1.178–1.485의 범위를 보였고, 9월 1일 시료 측정값의 비율이 가장 높았다(Table 2). 짧은 조사기간의 제한된 자료에서 결과를 도출할 수는 없지만 본 조사에서 얻은 값들의 변화로 현장의 식물플랑크톤 군집의 동태를 추정할 수 있을 것으로 생각한다.

남조류의 배양시료 스펙트럼에서는 F685/F720과 F695/F720의 값이 평균 0.35, 0.61으로 PS I이 높게 나타났으나 현장시료의 스펙트럼의 경우는 비율이 1이상으로 PS II가 다소 높게 나타났다. 이것은 야외의 강한 광조건에서 PS II가 PS I에 비해 함량이 증가된 결과라 볼 수도 있으나 현장시료에는 남조류 외에도 형광발생에 영향을 미치는 규조류, 녹조류 등 다양한 생물과 화합물이 혼재되어 있어 형광의 방출스펙트럼에 영향을 미칠 수 있다.

따라서 현장시료의 형광방출 특성에 관한 자료를 시료에 포함된 남조류의 정성 또는 정량 분석에 직접 이용할 수 있는 실험식을 구축하기 위해서는 더 많은 현장자료의 축적과

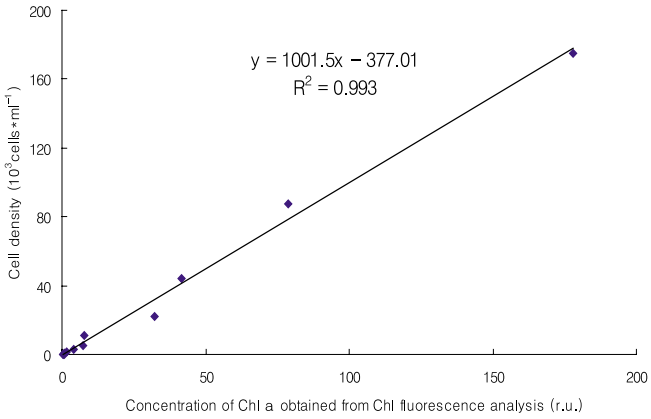

Fig. 6. The correlation between cell density and chlorophyll *a* concentration of *Anabaena flos-aquae*.

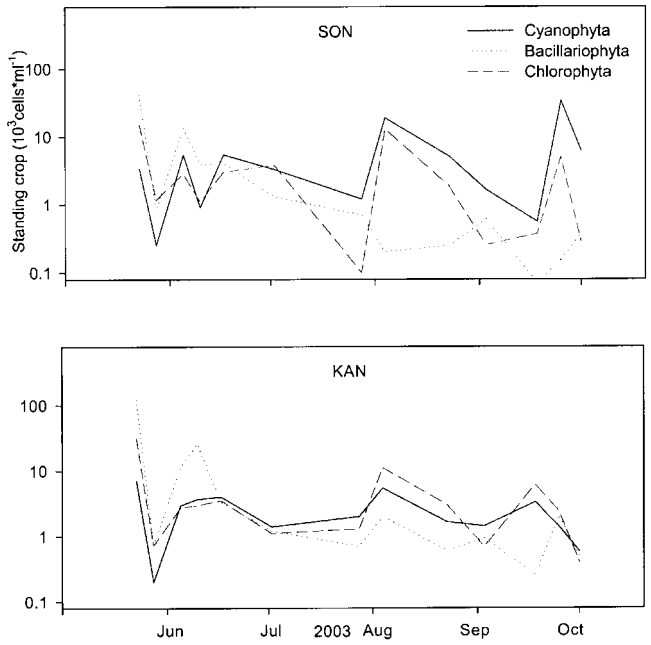

Fig. 7. The seasonal variation of standing crops of the 3 major phytoplankton taxa in the Sonaktong River in 2003.

이들의 비교분석이 필요하다.

상온 엽록소 흡광스펙트럼

상온에서 유도한 엽록소 형광분석을 통해 조류 현존량을 추산하기 위한 기초 자료를 얻기 위해 단종배양 중인 *Anabaena flos-aquae*의 개체수가 증가함에 따라 변화하는 현존량의 추이를 형광분석법으로 조사하였다(Fig. 6). 그 결과 대체로 개체수가 증가함에 따라 엽록소 함량이 증가하였고, 회귀분석에 의해 $R^2 = 0.993$의 유의한 상관 값을 보였다. 이러한 결과로 미루어 볼 때 상온 유도엽록소 형광은 남조류의 정량 또는 정성 분석에 유용하게 사용될 수 있을 것으로 판단된다.

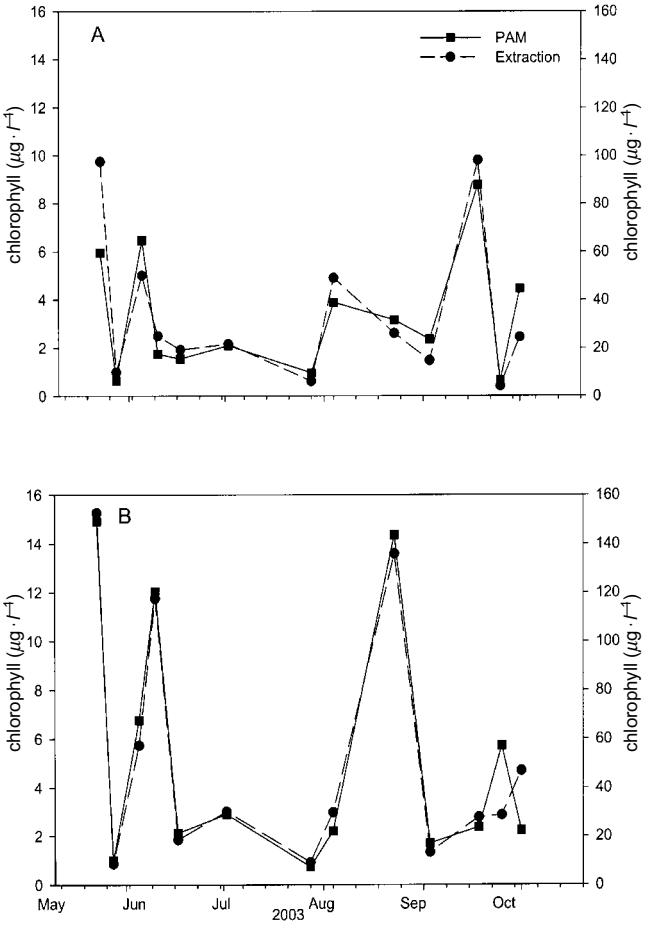

Fig. 8. The seasonal variation of chlorophyll *a* concentration in the Sonaktong River. chlorophyll *a* concentrations were measured by chlorophyll fluorescence analysis method (left Y axis; —■—) and solvent extraction method (right Y axis; —●—); SON (A), KAN (B).

2003년 5월부터 9월 동안 서낙동강 수계에서 남조류, 규조류, 녹조류의 현존량은 선암지점의 경우 남조류는 900–33,750 cells·ml^{-1}, 규조류는 70–41,060 cells·ml^{-1} 그리고 녹조류는 100–15,080 cells·ml^{-1}의 범위였다. 강동지점의 경우 남조류는 200–7,080 cells·ml^{-1}, 규조류는 255–121,640 cells·ml^{-1}, 녹조류는 395–31,780 cells·ml^{-1}의 범위였다(Fig. 7). 선암지점과 강동지점 모두 남조류는 *Microcystis*가 우점하였고, 간혹 *Anabaena*도 다수 출현하였다.

서낙동강 수계의 선암지점에서 채취한 현장 시료에 대하여 유도엽록소 형광분석으로 측정한 식물플랑크톤의 총 생물량은 0.7–8.7 μg chlorophyll·$^{-1}$의 범위를 나타내었고, 강동지점은 1.0–16.0 μg chlorophyll·$^{-1}$의 범위를 보였다(Fig. 8).

형광분석을 통한 현존량 추산은 유기용매를 이용한 엽록소 *a* 추출법으로 산출한 현존량과 거의 유사한 변화를 보였으며 상관성의 회귀분석 결과 $R^2 = 0.906$로 유의한 상관관

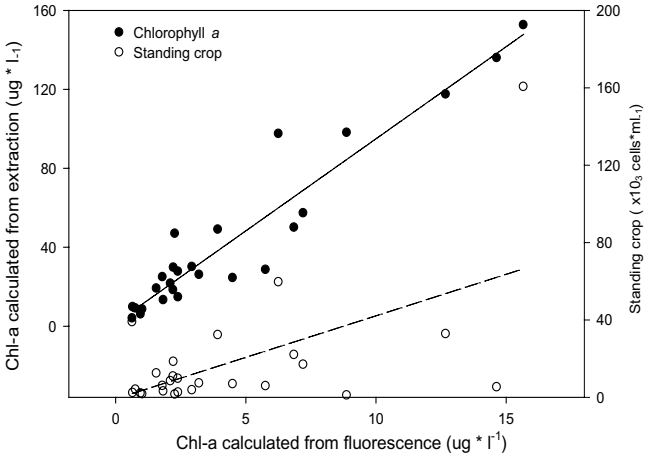

Fig. 9. The correlation between chlorophyll *a* estimated from fluorescence and chlorophyll *a* determined from extraction and standing crop.

계를 보였다. 단, 측정값의 절대치는 형광분석을 통한 현존량 산출의 경우 약 10배 정도 낮게 측정되었다. 한편, 엽록소 형광분석으로 추산한 현존량과 식물 플랑크톤의 총 개체수를 비교한 실험에서는 R^2 = 0.323로 낮은 상관성을 보였다 (Fig. 9). 이는 기존의 고정된 시료를 검경하고 계수한 현존량 자료와 생시료의 엽록소를 추출한 생물량과 엽록소 형광 정량으로 추정한 생물량 자료는 차이가 있다는 점으로 추정할 수 있다. 특히 남조류 군체의 현존량 계수에 대한 정량법은 아직도 확립되어 있지 않다. 또한 고정으로 형태가 변형되거나 세포가 와해되는 경우에도 계수한 현존량과 엽록소 추정 생물량의 차이가 있을 수 있다는 점도 간과할 수 없지만 두 자료가 상호 보완적으로 제시되는 것이 바람직하다.

이와 같은 차이는 용매 추출법을 통한 현존량 계산의 경우 phaeophytin이 포함된 값이기 때문 실제 엽록소 함량보다 다소 높은 값으로 나타날 수 있다. 엽록소 형광 분석의 경우, 높은 세포밀도는 엽록소 농도로 인한 방출 형광의 가림 현상 때문에 현존량이 실제보다 다소 낮게 추정 될 수 있다. 뿐만 아니라 일반적으로 엽록소 형광 분석은 색소의 함량 보다는 색소의 활성을 기초로 하여 현존량을 추산하는 특성이 있기 때문에 향후 형광 관련 측정치를 이용하여 현존량으로 환산하는 경우에 참고해야 할 것이다. 더불어 유기용매로 추출하여 얻은 엽록소 a는 색소의 활성에 상관없이 색소의 함량에 근거하는 것이므로 이 값을 식물 플랑크톤의 현존량으로 환산할 경우 실제보다 과대평가될 수 있다. 또는 유도형광으로 현존량을 추정할 경우 엽록소의 활성을 바탕으로 측정한 값으로 생물량을 군집의 생리활성에 따라 다르게 나타날 수 있다.

식물의 광합성 활성은 광조건 뿐만 아니라 오염과 같은 영양염류 등에 의해서도 다양한 변화를 보이며 이것은 영양염류에 대한 생리생화학 반응이나 식물 플랑크톤종의 형태의 특징과 대사활성의 변화와 연관되어 있다(Bentley-Mowat and Reid 1977; Bringman and Kuhn 1978). 따라서 엽록소 형광분석을 통한 현존량 측정은 식물 플랑크톤 개체군의 생장, 노화, 쇠퇴 등의 과정을 거치는 동안 시기별로 다를 것으로 추정된다. 이상의 결과를 통해 배양시료와 현장 시료에 대한 엽록소 형광 분석 연구는 향후 남조류 개체군 또는 군집의 생장 시기에 따른 현존량 추산의 효과적인 정성 또는 정량분석 기법으로 현장 적용이 가능할 것으로 판단된다.

Acknowledgements

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

참고문헌

이춘환. 1992. 엽록소에서 방출되는 형광의 분석을 통한 광합성 연구. 제4권 생화학 총설집. pp. 265-271.

정영호. 1968. 한국동식물도감 제9권. 식물편(담수조류). 문교부. 삼화출판사.

정준. 1993. 한국담수조류도감. 아카데미서적.

Ajlani G., Vernotte C., Dimagno L. and Haselkorn R. 1995. Phycobilisome core mutants of *Synechosystis* PCC 6803. *Biochim. Biophys. Acta* **1231:** 189-196.

Bentley-Mowat J.A. and Reid S.M. 1977. Survival of marine phytoplankton in high concentration of heavy metals and uptake of copper. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **26:** 249-264.

Bringman G. and Kuhn R. 1978. Survey of algal species sensitivity to a wide range of toxicants. *Mitt. Int. Verein. Limnol.* **21:** 275-284.

Bruce D., Brimble S. and Bryant D.A. 1989. State transition in a phycobilisome-less mutant of the cyanobacterium *Synechococcus* sp. PCC 7002. *Biochim. Biophys. Acta* **974:** 66-73.

Bryant D.A. 1994. *The molecular biology of cyanobacteria*. Kluwer Academic press, Dordrecht.

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*. Cambridge 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.

Eullaffroy P. and Vernet G. 2003. The F684/F735 chlorophyll fluorescence ratio; a potential tool for rapid detection and determination of herbicide phytotoxicity in algae. *Water Res.* **37:** 1983-1990.

Holm-Hansen O., Lorenzen C.J., Holmes R.W. and Strickland J.D.H. 1965. Fluorometric determination of chlorophyll. *J. Cons. Perm. Int. Explor. Mer*. **30:** 3-15.

Jeffrey S.W. 1997. Application of pigment methods to

oceanography. In: Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C. and Wright S.W. (eds), *Phytoplankton pigments in oceanography*. UNESCO Publ. pp. 127-166.

Jeffrey S.W. and Humphrey G.F. 1975. New spectrometric equations for determining chlorophyll *a*, *b*, and *c*, in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanzen*. **167:** 191-194

Jeffrey S.W. and LeRoi J.-M. 1997. Simple procedure for growing SCOR reference microalgal cultures. In: Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C. and Wright S.W. (eds), *Phytoplankton pigments in oceanography*. UNESCO Publ. pp. 181-205.

Juneau P., Dewez D., Matsui S., Kim S.G. and Popovic R. 2001. Evaluation of different algal species sensitivity to mercury and metolachlor by PAM-fluorometry. *Chemosphere* **45:** 589-598.

Lichenthaler H.H. 1988. *Application of chlorophyll fluorescence*. Kluwer Academic Press, Dordrecht.

Margalef R. 1983. *Ecologia del fitoplancon in Limnologia. Omega, Barcelona.* pp. 247-330.

Misra H.S. and Mahajan S.K. 2000. Excitation energy transfer from phycobilisomes to photosystems: a phenomenon associated with the temporal separation of photosynthesis and nitrogen fixation in a cyanobacterium *Plectonema boryamum*. *Biochim. Biophys. Acta* **1459:** 139-147.

Mizuno T. 1977. *Illustrations of the freshwater plankton of Japan*. Hoikusha Publ.

Murakami A. 1997. Quantitative analysis of 77K fluorescence emission spectra in *Synechocystis* sp. PCC 6714 and *Chlamydomanas reinhardtii* with variable PS Ⅰ /PS Ⅱ stoichiometries. *Photosynth. Res.* **53:** 141-148.

Murata N. and Satoh K. 1986. Absorption and fluorescence emission by intact cells, chloroplasts and chlorophyll-protein complexes. In: Gonindjee, Amesz J. and Fork D.C. (eds), *Light emission by plants and bacteria*. New York Academic Press, New York. pp. 137-159.

Namikoshi M. and Rinehart K.L. 1996. Bioactive compounds produced by cyanobacteria. *J. Indus. Microbiol.* **17:** 373-384.

Seely G.R. and Connolly J.S. 1986. Fluorescence of photosynthetic pigments *in vitro*. In: Gonindjee, Amesz J. and Fork D.C. (eds), *Light emission by plants and bacteria.* New York Academic Press, New York. pp. 99-133.

Song E,K., Zulfugarov I.S., Kim J.-H., Kim E.H. Lee W.S. and Lee C.-H. 2004. Selection and characterization of transposon tagging mutants of *Synechocystis* sp. PCC 6803 sensitive to high-light and oxidative stresses. *J. Plant Biol.* **47:** 289-299.

Stauber J.L. and Florence T.M. 1987. Mechanism of toxicity of ionic copper and copper complexes to algae. *Mar. Biol.* **94:** 511-519.

Velzeboer R., Drikas M., Donati C., Burch M. and Steffensen D. 1995. Release of geosmin *Anabaena circinalis* following treatment with aluminium sulphate. *Water Sci. Tech.* **31:** 187-194.

Yentch C.S. and Phinney D.A. 1985. Spectral fluorescence: a taxonomic tool for studying the structure of phytoplankton populations. *J. Plankton Res.* **7:** 617-632.

Received 7 March 2005
Accepted 23 March 2005