

국내산 유독 남조류의 독소생산 특성

김화빈 · 박혜경^{*,*} · 신교동 · 문정숙

국립환경과학원 한강물환경연구소

*국립환경과학원 물환경연구부

The Characteristics of Toxin Production in the Korean Toxic Cyanobacteria

Hwa-Bin Kim · Hae-Kyung Park^{*,*} · Kyodong Shin · Jeong-Suk Moon

Han River Water Environment Research Center, National Institute of Environmental Research

*Water Environment Research Department, National Institute of Environmental Research

(Received 24 June 2010, Revised 9 August 2010, Accepted 9 August 2010)

Abstract

To find out the toxin production characteristics of Korean harmful cyanobacteria, we isolated 14 cyanobacterial strains from Korean lakes and rivers and analyzed the kinds and cellular content of microcystins (MCYSTs) of cyanobacterial isolates using cultured biomass. And we measured the MCYSTs production by growth phase of two representative toxic strains, *Microcystis aeruginosa* (HG-015) and *Anabaena planktonica* (HG-012). Among seven cyanobacterial species, *Microcystis wesenbergii* showed the highest cellular MCYSTs content. MCYST-RR was the most dominant toxin reaching more than 85% of MCYSTs produced by isolated cyanobacterial strains. During the mass culture, *Microcystis aeruginosa* (HG-015) showed the highest yield and accumulation of MCYSTs in the exponential growth phase. However the cellular content of chlorophyll *a* and MCYSTs of *Anabaena planktonica* (HG-012) showed higher value in the stationary and early death phase than in the exponential growth phase. Our results suggest that control and removal of harmful cyanobacterial bloom before exponential growth phase may be effective to prevent health risk of cyanobacterial toxins in the drinking water sources.

keywords : *Anabaena*, Cyanobacteria, Microcystins, *Microcystis*

1. 서론

부영양호에서 남조류 대량증식은 독소생산 및 이취미 유발로 인해 최근 큰 환경문제로 인식되고 있다. 남조류가 생산하는 독소는 크게 신경독과 간장독으로 분류되며 이중, *Microcystis* spp, *Anabaena* spp, *Oscillatoria* spp, *Aphanizomenon* spp 등에서 생산되는 세포내 간장독소인 microcystins(MCYSTs)이 대표적이다(Gupta et al., 2003). MCYSTs은 7개의 아미노산으로 구성된 환상 펩타이드 구조를 지니고 있고 열에 대해 높은 안정성을 지니는 극성이 낮은 물질로서 두 개의 치환 아미노산에 따라 70 여종의 변이체가 있으며 이 중 가장 독성이 높은 물질은 MCYST-LR(LD₅₀ : 50 µg ~ 1 mg/kg)로 알려져 있다(Dai et al., 2008; Jayaraj and Lakshmana, 2006; Ruangyuttikarn et al., 2004).

현재 MCYSTs에 대한 WHO의 먹는물 가이드라인은 1 µg MCYST-LR/L이며(Chorus and Bartram, 1999) 캐나다와 호주에서는 각각 1.5 µg MCYST-LR/L, 1.3 µg MCYST/L로 제안하고 있다. 우리나라는 남조류 독소에 대해 아직 공식적인 먹는물 가이드라인이 없으며 남조류 독소에 의한

먹는물 위해성 방지를 위해 상수원수를 대상으로 실시되고 있는 조류예보제에서 MCYST-LR 1 µg/L에 해당되는 유해 남조류세포수 약 5,000 cell/mL를 경보기준으로 하고 있다(국립환경과학원, 2008).

이러한 MCYSTs은 *Microcystis* 속을 포함한 일부 남조류가 생산하는 2차대사산물로 남조류의 생리 및 증식상태에 따라 독소 생산량 즉 세포내 함량이 달라질 수 있다(Järvenpää et al., 2007). 따라서 상수원수 중에 남조류가 대발생할 경우, 우점종 및 증식상태에 따라 독소생산량이 달라질 수 있으므로 먹는 물의 안정성 확보를 위해 상수원으로 사용되는 강이나 호수에서 남조류 독소 발생에 적절히 대처하기 위해서는 남조류의 종류에 따른 독소발생량을 먼저 파악할 필요가 있다.

따라서 본 연구에서는 국내 수계에서 출현하는 유독 남조류의 독소생성 특성을 밝히기 위해 국내 호수에서 출현한 유독 남조류 종을 다수 분리하여 독소 생성능을 조사하였고 그중 대표적인 *Microcystis*와 *Anabaena* 2주를 선정하여 실험실 조건에서 대량 배양하여 증식단계에 따른 독소생성특성을 조사하였다.

2. 연구방법

2.1. 분석시료 배양

* To whom correspondence should be addressed.

parkhk@me.go.kr

국내 호수에서 대량 발생한 유해 남조류 시료를 채취하여 고정하지 않고 냉암소에 보관하여 바로 실험실로 옮긴 후 부정형의 군체를 형성하는 *Microcystis* 속의 경우 voltex를 사용해 최대한 작은 크기의 군체로 부순 후 멸균 희석수에서 capillary pipet으로 단계별로 희석하여 단일 군체를 분리하였고, *Anabaena*, *Oscillatoria* 속과 같이 단일 trichome으로 존재하는 경우에는 capillary pipet으로 단일 trichome을 한 개씩 새 멸균 희석수로 옮겨 세척하는 단계를 수회 반복해 분리하였다. 분리된 단일 군체는 현미경 사진 촬영 후 CB 액체배지(Watanabe and Oishi, 1985)로 옮겨 25°C, 12시간 조사의 조건으로 배양하였고 최대증식 후 현미경으로 검정하여 동일종을 확인한 후 다시 군체 1개를 멸균희석수로 옮겨 수회 세척한 후 액체배지에서 배양하는 과정을 반복하여 단조주의 분리가 완료되면 검정하여 종 수준까지 동정한 후 한강물환경연구소 컬렉션의 strain No.를 붙여 약 2~3주 간격으로 계대배양하면서 실험에 사용하였다. 이렇게 분리된 남조류 주는 무균상태는 아니며 단조주 상태로 유지하였다. 본 연구를 위해 단조분리된 남조류는 팔당호에서 7주, 충주호 3주, 의암호 3주, 주암호 1주로 총 14주이며 이중 *Microcystis* 속이 9주, *Anabaena* 속이 3주 그리고 *Aphanizomenon* 속과 *Oscillatoria* 속이 각각 1주이다.

분리된 유해 남조류 단조주 중 대표적인 MCYSTs 생산종으로 알려진 *Microcystis aeruginosa* (HG-015) 1주과 *Anabaena planktonica* (HG-012) 1주를 대상으로 CB 액체배지 8 L가 든 12 L glass culture chamber에서 대량 배양하였다. Culture chamber 입구는 고무마개로 막았으며 교반 및 공기주입을 위해 산기석을 연결한 유리관과 시료채취를 위한 유리관을 고무마개를 통해 바닥부근에 설치하였다. CB 액체배지 200 mL에 전배양된 단조주를 고압 멸균된 12 L glass culture chamber 2개에 나누어 접종한 후 25°C, 조도 1000~3000 Lx, 12시간 조사의 조건으로 배양하였다. 접종초기부터 매일 약 10 mL의 배양액을 채취하여 750 nm, 664 nm 파장에서 흡광도를 측정하여 증식상태를 확인하였다. 흡광도로 확인된 증식상태에 따라 약 2~4일 간격으로 2개의 chamber에서 각각 350 mL 씩 채수하였으며 증식단계별로 사멸기에 이를 때까지 7회 이상 채수하였다. 매 단계별로 채수한 시료는 MCYSTs 및 클로로필 *a* 분석과 세포수 계수를 수행하였다.

2.2. 분석방법

2.2.1. 클로로필 *a*

아세톤 용액으로 클로로필 색소를 추출하여 추출액의 흡광도를 663 nm, 645 nm, 630 nm, 750 nm에서 측정하여 클로로필 *a* 농도를 계산하는 수질오염공정시험방법의 흡광도법에 따라 분석하였다(환경부, 2004).

2.2.2. MCYSTs 분석

MCYSTs 정량을 위해 MCYST-LR, -RR, -YR, -LA 표준품(Alexis, USA)을 100% methanol에 용해한 후 Total MCYSTs 표준시료를 제조하여 -20°C에 보관하면서 희석하여 사용하였다.

MCYSTs 분석은 크게 HPLC/UV법, LC/MS법, GC/MS법 등을 이용한 기기분석법과 ELISA, PCR, FISH를 이용한 분자생물학적 방법이 있는데 ELISA 분석의 경우 HPLC에 비해 감도가 매우 뛰어나지만 독성을 가진 MCYSTs의 변종에 대한 개별 분석이 어렵고(McDermott et al., 1995). HPLC/UV법, HPLC/PDA법은 분석 값의 오차와 검출한계를 낮추는데 한계가 있으므로 이러한 단점을 보완한 LC/MS/MS를 이용하여 MCYSTs 분석을 진행하였다(김화빈 등, 2009). MCYSTs는 세포내 독소이므로 추출을 위해 시료를 초음파 파쇄기로 처리하여 세포를 파쇄하고 현미경으로 세포가 완전히 다 파쇄 되었는지를 관찰한 후, 파쇄된 현탁액을 원심분리하여 상등액만 취하였다(Spoof et al., 2003). ODS Sep-Pak C₁₈ 카트리지를 100% 메탄올 10 mL와 증류수 10 mL로 활성화 시킨 후 원심분리한 상등액을 통과시켜 MCYSTs를 카트리지에 흡착시켰다. 20% 메탄올 10 mL를 흘려 카트리지의 불순물을 제거한 후 100% 메탄올 10 mL로 카트리지에 흡착된 MCYSTs를 용출시키고 공기펌프를 사용하여 10 mL 메탄올을 모두 증발시키고 남은 분말에 100% 메탄올 1~2 mL를 넣어 MCYSTs를 녹인 후 0.45 μm 실린지 필터로 불순물을 제거한 후 ZORBAX Eclipse XDB-C18 (Agilent) 컬럼을 장착한 Varian사의 320 LC/MS/MS를 사용하여 분석하였다(Ruangyuttikarn et al., 2004). 이동상 용매로는 0.1% formic acid와 acetonitrile을 사용하였으며 이동상의 유속은 0.8 mL/min로 하였다. 모든 실험은 3회 분석하여 재현성을 확인하였고 MCYST-RR, -YR, -LR, -LA의 질량/전하(m/z)비는 본 연구에서 설정한 LC/MS/MS 조건을 바탕으로 조사했을 시 피크가 가장 뚜렷하게 나왔던 520, 1045.5, 995.6, 908.5로 하여 분석하였다.

2.2.3. 남조류 세포수

채수한 시료에 루골용액 1~2 v/v% 가하여 보존한 다음 조류의 농도에 따라 희석 또는 그대로 현미경 검정하였다. 조류종의 동정에는 한국 동식물도감(담수조류편; 정영호, 1968), Komárek(1991)의 분류체계를 따라 동정하였고 계수에는 Sedgwick-Rafter counting chamber를 사용하여 정량 계수하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 국내수계 유해 남조류 시료에서 분리한 배양주 내 독소함량

분리된 모든 남조류 주는 MCYSTs를 생산하는 것으로 조사되었으며 분리주에 따라 생산독소의 종류 및 생산량은 달랐다. 모든 분리주에서 MCYST-RR의 생산이 확인되었으며 이중 9주는 MCYST-YR을, 2주는 MCYST-LR을 생산하였고 MCYST-LA는 모든 분리주에서 검출되지 않았다. 각 분리주의 세포내 MCYSTs 함량은 0.000008~0.009938 pgMCYSTs/cell의 범위를 보였다. 본 연구에서는 각 분리주를 대량배양하지 않고 적은 생물량을 사용하여 독소를 추출하였기 때문에 MCYSTs의 종류에 따라 세포내 함량이 낮은 경우 불검출되었을 가능성이 높다. 따라서 대량의 생

Table 1. Cellular content MCYSTs of Korean cyanobacterial strains

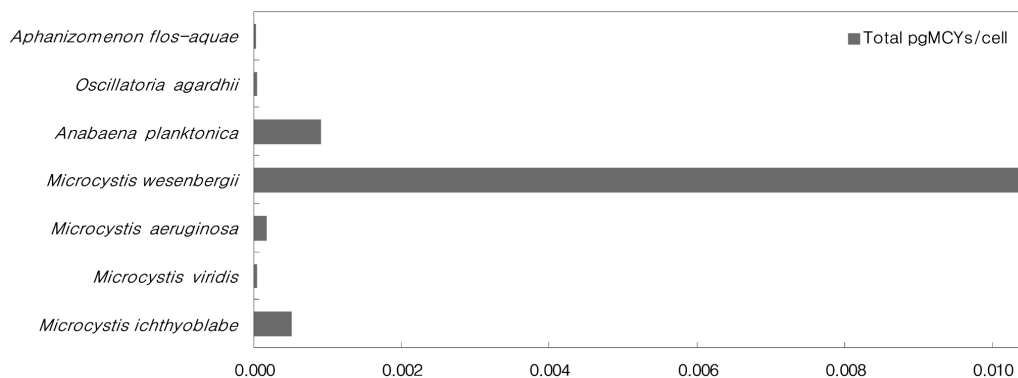
Strain No.	Species	Isolated lake (date)	Cellular content of MCYSTs				Total pg MCYSTs/cell
			pgMCYST -RR/cell	pgMCYST -YR/cell	pgMCYST -LR/cell	pgMCYST -LA/cell	
HG003	<i>Oscillatoria agardhii</i>	Juam	0.000050	N.D	N.D	N.D	0.0001
HG007	<i>Microcystis ichthyoblabe</i>	Paldang (2008.7.7)	0.000008	N.D	0.000032	N.D	0.0001>
HG008	<i>Microcystis ichthyoblabe</i>	Paldang (2008.7.7)	0.000789	N.D	0.000199	N.D	0.0010
HG009	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Paldang (2008.7.7)	0.000015	0.000003	0.000027	N.D	0.0001>
HG010	<i>Anabaena planktonica</i>	Paldang (2008.7.7)	0.000647	N.D	0.000358	N.D	0.0010
HG011	<i>Anabaena planktonica</i>	Paldang (2008.7.7)	0.000182	N.D	N.D	N.D	0.0002
HG012	<i>Anabaena planktonica</i>	Paldang (2008.7.7)	0.001031	N.D	0.000522	N.D	0.0016
HG013	<i>Microcystis viridis</i>	Uiam (2008.7.15)	0.000018	N.D	0.000027	N.D	0.0001>
HG014	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Uiam (2008.7.15)	0.000157	N.D	0.000133	N.D	0.0003
HG015	<i>Microcystis aeruginosa</i>	Uiam (2008.7.15)	0.000142	N.D	0.000060	N.D	0.0002
HG018	<i>Microcystis wesenbergii</i>	Chungju (2008.9.12)	0.024195	N.D	0.003219	N.D	0.0274
HG019	<i>Microcystis wesenbergii</i>	Chungju (2008.9.12)	0.000392	N.D	N.D	N.D	0.0004
HG020	<i>Microcystis wesenbergii</i>	Chungju (2008.9.12)	0.003263	0.000030	N.D	N.D	0.0033
HG021	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i>	Paldang (2008.10.21)	0.000025	N.D	N.D	N.D	0.0001>

* ND : not detected

물량에서 독소를 추출한다면 더 많은 종류의 MCYSTs가 검출될 가능성은 있다(Table 1).

국내 수계에서 분리한 배양주의 세포내독소함량을 분리수역에 상관없이 종별로 비교해 본 결과, *Microcystis wesenbergii*가 0.010367 pgMCYSTs/cell로 가장 높은 세포당 MCYSTs 함량을 나타내었고 *Anabaena planktonica*와 *Microcystis ichthyoblabe*, *Microcystis aeruginosa*가 각각 0.000913, 0.000514, 0.000179 pgMCYSTs/cell 순으로 높게 나타났다(Fig. 1).

남조류 종별 세포 당 MCYSTs 함량 차이는 각 종별 세포 크기의 차이에서 기인하는 것으로 사료되어지는데, *Anabaena planktonica*의 경우 세포크기가 크에도 불구하고 MCYSTs 독소량이 상대적으로 적게 나타난 이유는 *Anabaena* 속은 주로 신경독인 아나톡신을 주로 생성하는 것으로 알려져 있어 상대적으로 MCYSTs 생산량이 적은 것으로 판단된다. MCYST 종류별 생산량을 조사한 결과 국내 호수에서 출현한 남조류에서는 MCYST-RR 89.3%, MCYST-LR 10.6%,

**Fig. 1.** Comparison of cellular MCYSTs content depending on species.

MCYST-YR 0.1%로 나타나 MCYST-RR의 생산량이 가장 많은 것으로 확인되었다.

3.2. 대량배양시료 증식단계별 독소생산량

3.2.1. *Microcystis* 분리주

의암호에서 분리된 *Microcystis aeruginosa* (HG-015)은 액체배지에서 약한 군집을 형성하고 심한 곰팡내를 내는 특성을 나타내었다. HG-015를 실험실 조건에서 대량배양하면서 증식단계를 유도기, 대수 증식기, 정지기, 사멸기로 크게 구분하여 증식초기부터 사멸기까지의 세포수, 클로로필 *a* 농도, MCYST 생산량, 세포당 MCYST 함량, 세포당 클로로필 *a* 함량을 조사한 결과를 Fig. 2에 나타내었다(Fig. 2).

세포수는 접종 후 약 5일간의 유도기를 거친 후 약 17일간 지속적으로 세포수가 증가하는 대수증식기를 거쳐 정지기 없이 바로 세포수가 급격히 감소하는 사멸기를 나타내었다(Fig. 2(a)). 클로로필 *a* 농도도 거의 유사한 패턴을 보였으나 최대 세포수에 이르기 전인 대수 증식기 말기에 최고 농도를 보인 후 감소하였으며(Fig. 2(a)) 결과적으로 세포내 클로로필 *a* 함량은 증식단계별로 달라져 대수 증식기에 급격히 증가하여 대수 증식기 중기에 가장 많은 함량을 보였으며 대수 증식기 말기부터 사멸기에는 세포내 클로로필 *a* 함량이 다시 감소하는 것을 알 수 있었다(Fig. 2(d); Ziegmann et al., 2010). 배양액중의 MCYSTs 농도는 최대 증식을 나타낸 시기에 가장 높았고 그 직후에 세포수의 감소와 함께 MCYSTs 농도도 급감하였다(Fig. 2(b)). 세포내 MCYSTs 함량은 유도기부터 대수증식기 초기에는 매우 낮은 세포내 함량을 보였으나 대수 증식기 말기에 급격히 함량이 증가하여 세포수가 최대를 보인 시기에 세포내 함량도 최대를 나타내었고 사멸기에는 다시 급감하여 유도기와 유사한 함량을 나타내었다(Fig. 2(c)).

이런 결과로 볼 때 *Microcystis aeruginosa*의 증식단계에서는 최대증식을 나타내는 대수 증식기 말기에 MCYSTs의 세포내 생산과 축적이 가장 많이 일어나며 증식초기나 사멸기에는 세포내 독소의 함량이 매우 낮은 것으로 판단된다(Ziegmann et al., 2010). 본 연구에서 얻어진 세포내 microcystin 최대함량은 자연환경에서 발생된 *Microcystis* 속의 세포내 함량과 비교할 때 중간값보다 약 10배 낮은 함량으로 조사되었고(국립환경과학원, 2009), HG-015를 300

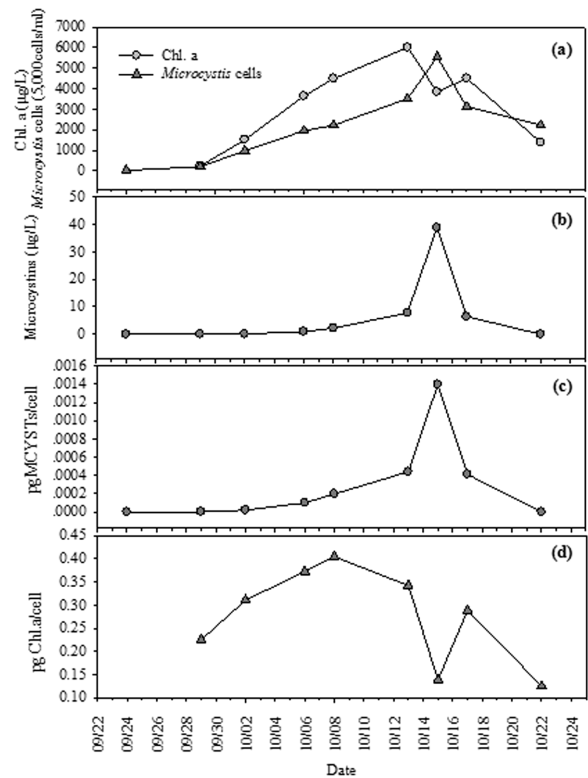


Fig. 2. Temporal variation of cell density, concentration of MCYSTs and chlorophyll *a* of *Microcystis aeruginosa* (HG-015) culture fluid and cellular content of MCYSTs and chlorophyll *a*.

mL의 배양액에서 소량 배양하여 조사했던 세포내 독소량 (Table 1)에 비해서는 높게 나타났으며 소량을 대상으로 하였을 때 검출되지 않았던 MCYST-YR, LA도 추가로 확인되어 독소 생산능을 확인하기 위해서는 대량으로 배양하여 확인하는 것이 효율적인 것으로 사료되었다.

MCYST 종류별로 증식단계별 세포내 함량을 살펴본 결과, MCYST-RR, -LR, -YR, -LA가 모두 검출되었으나 그 검출 시기는 MCYST 종류에 따라 달랐다. 유도기인 약 3일 이후부터 MCYST-RR, -LR과 MCYST-YR이 차례대로 검출되었고 대수증식기인 5단계부터 MCYST-LA가 검출되었다. 최대 증식을 나타낸 6단계에 MCYST-RR, -LR, -YR, -LA 모두 가장 많은 함량을 나타내었고 이후 사멸기 초기인 7단계부터

Table 2. Cellular content of MCYSTs of *Microcystis aeruginosa* (HG-015) culture fluid by growth stages

Stages	Sampling date	Cellular content of MCYSTs				Total pg MCYSTs/cell
		pgMCYST-RR/cell	pgMCYST-YR/cell	pgMCYST-LR/cell	pgMCYST-LA/cell	
1	2008-09-29	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
2	2008-10-02	0.0000154	N.D	0.0000043	N.D	0.0000197
3	2008-10-06	0.0000864	0.0000005	0.0000120	N.D	0.0000989
4	2008-10-08	0.0001688	0.0000022	0.0000255	N.D	0.0001965
5	2008-10-13	0.0003644	0.0000038	0.0000669	0.0000059	0.0004410
6	2008-10-15	0.0008874	0.0000130	0.0004728	0.0000248	0.0013981
7	2008-10-20	0.0003571	0.0000012	0.0000437	0.0000092	0.0004111
8	2008-10-22	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D

전체 MCYSTs 함량은 급격히 감소하였다(Table 2).

증식단계에 따라 검출되는 MCYST의 종류가 다른 이유는 *Microcystis aeruginosa* (HG-015)가 MCYST 종류에 따라 생산하는 시기가 다르기 때문은 아닌 것으로 판단되며 MCYST의 종류에 따라 생산량이 달라 검출이 되거나 검출되지 않았기 때문으로 판단된다. 본 조사 결과를 종합하여 보면 *Microcystis aeruginosa* (HG-015)는 증식단계에 따라 독소생산량이 달라 최대 증식기에 가장 많은 독소를 생산하며 증식초기와 사멸기에는 독소생산량이 크게 감소하고, 생산하는 독소의 종류와 종류별 생산비율은 증식단계별 거의 차이가 없는 것을 알 수 있었다.

3.2.2. *Anabaena* 분리주

팔당호에서 분리된 *Anabaena planktonica* (HG-012)는 대량배양과정에서 액체배지에서 군집을 거의 형성하지 않았고 사멸기로 갈수록 노란빛을 띄었다. HG-012를 실험실 조건에서 대량배양하면서 증식단계를 유도기, 대수 증식기, 정지기, 사멸기로 크게 구분하여 증식초기부터 사멸기까지의 세포수, 클로로필 *a* 농도, MCYST 생산량, 세포 당 MCYST 함량, 세포 당 클로로필 *a* 함량을 조사한 결과를 Fig. 3에 나타내었다(Fig. 3).

증식단계를 유도기, 대수 증식기, 정지기, 사멸기로 크게 구분하여 보면 먼저 세포수는 접종 후 약 6일간의 유도기를 거친 후 증가하기 시작하여 약 23일까지 지속적으로 세포수가 증가하는 대수 증식기를 거쳐 최대세포수를 나타내었

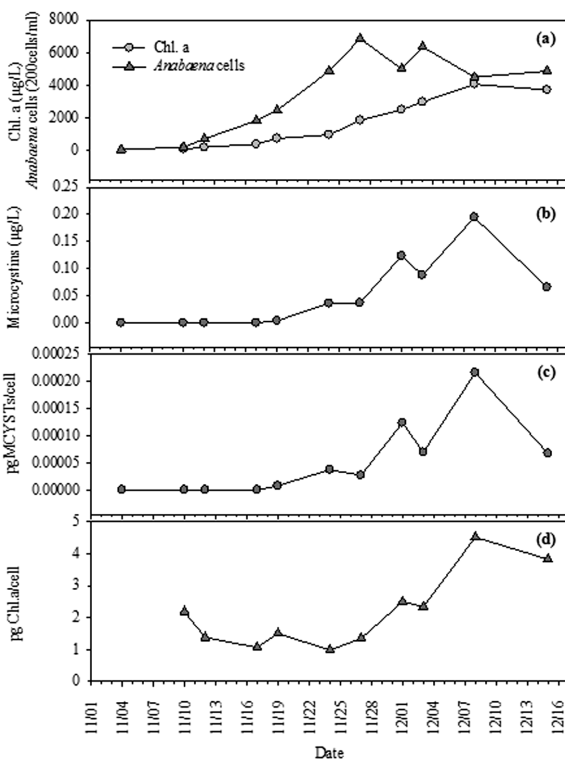


Fig. 3. Temporal variation of cell density, concentration of MCYSTs and chlorophyll *a* of *Anabaena planktonica* (HG-012) culture fluid and cellular content of MCYSTs and chlorophyll *a*.

고 이후 세포수가 증감을 반복하면서 서서히 감소하는 사멸기를 나타내었으나 *Microcystis aeruginosa* (HG-015)와는 달리 증식말기에도 세포수가 크게 감소하지는 않았다(Fig. 3(a)).

클로로필 *a* 농도는 세포수와는 달리 6일간의 유도기 이후 약 14일 동안 매우 느린 속도로 증가하였으며 세포수가 최대성장을 보인 시기부터 약간 빠른 속도로 증가하여 접종 34일후 최대 농도를 보이고 이후 약간 감소하였다(Fig. 3(a)). 이에 따라 세포 내 클로로필 *a* 함량도 증식말기에 가장 높게 나타나(Fig. 3(d)) *Microcystis aeruginosa* (HG-015)와는 다른 경향을 보였으며 남조류 속에 따라 서로 다른 증식특성을 가진 것으로 나타났다.

배양액 중의 MCYSTs 농도도 *Microcystis aeruginosa* (HG-015)와는 다른 경향을 보여 세포수의 변동패턴과 다르게 최대증식기가 아닌 사멸기에 가장 높은 농도를 보였고(Fig. 3(b)) 이에 따라 세포내 MCYSTs 함량도 유도기부터 대수 증식기 초기에는 매우 낮은 세포내 함량을 보였으나 대수 증식기 말기에 급격히 함량이 증가하여 클로로필 *a* 농도가 최대를 보인 시기인 사멸기 초기에 세포내 독소 함량도 최대를 나타내었고 이후에 다시 급감하였다(Fig. 3(c)). 이런 결과로 볼 때 *Anabaena planktonica* (HG-012)는 대수 증식기 보다는 정지기와 사멸기 초기에 세포내 클로로필 *a*와 독소의 생산과 축적이 가장 많이 일어나는 것으로 판단된다.

Anabaena planktonica (HG-012)의 대량배양결과 MCYST-YR을 제외한 MCYST-RR, LR, LA 세 종류의 MCYST의 생산이 확인되었으며 *Microcystis aeruginosa* (HG-015)와 마찬가지로 생산량의 차이로 인해 검출된 시기는 증식단계에 따라 달랐다. 배양을 시작한 약 9일 뒤인 4단계부터 MCYST-RR, LR가 차례로 검출되어 MCYSTs 전체농도도 급격히 높아졌다. MCYST-LA는 사멸기인 8단계부터 검출되었다(Table 3).

Anabaena planktonica (HG-012)의 증식단계별 독소함량 조사결과를 종합하여 보면 증식단계에 따라 독소생산량은 달랐으나 *Microcystis aeruginosa* (HG-015)는 달리 증식초기에는 독소생산량이 매우 적었고 정지기와 사멸기 초기에 세포내 클로로필 *a*와 독소의 생산과 축적이 가장 많이 일어났으며, 생산하는 독소의 종류와 종류별 생산비율은 증식단계별로 거의 차이가 없는 것을 알 수 있었다.

가장 대표적인 MCYSTs 생산 남조류인 *Microcystis* 속과 *Anabaena* 속을 국내 수계에서 분리하여 대량배양하면서 증식단계별 독소생산특성을 조사한 결과, 남조류 속에 따라 독소생산 특성이 다르게 나타났다. 두 속 모두 증식초기보다는 대수 증식기부터 독소의 생산량이 많았고 특히 *Anabaena* 속의 경우 사멸기에 독소함량이 가장 많은 것으로 조사되어 상수원에서 유독 남조류의 증식을 제어할 때에는 증식후기나 말기보다는 증식초기에 제어하는 것이 바람직하며, 수계에서 대량 발생한 유독 남조류의 스킴은 발생 이후 시간이 경과하여 변색되거나 분해과정에 있더라도 매우 많은 독소를 포함할 가능성이 높으므로 수계 내에서 신속히 제거하는 것이 필요하며 수계 내에서 파쇄하는 처리 방식은 지양해야 할 것으로 판단된다.

Table 3. Cellular content of MCYSTs of *Anabaena planktonica* (HG-012) culture fluid by growth stages

Stages	Sampling date	Cellular content of MCYSTs				Total pg MCYSTs/cell
		pgMCYST-RR/cell	pgMCYST-YR/cell	pgMCYST-LR/cell	pgMCYST-LA/cell	
1	2008-11-10	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
2	2008-11-12	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
3	2008-11-17	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
4	2008-11-19	0.0000079	N.D	N.D	N.D	0.00000786
5	2008-11-24	0.0000269	N.D	0.0000103	N.D	0.00003717
6	2008-11-27	0.0000271	N.D	N.D	N.D	0.00002711
7	2008-12-01	0.0000903	N.D	0.0000335	N.D	0.0001238
8	2008-12-03	0.0000478	N.D	N.D	0.0000216	0.0000694
9	2008-12-08	0.0001360	N.D	0.0000649	0.0000154	0.0002163
10	2008-12-15	0.0000443	N.D	N.D	0.0000231	0.0000674

4. 결론

본 연구에서는 국내 호수에서 출현한 남조류의 독소생산 특성을 밝히기 위해 국내 호수에서 남조류 7종, 총 14주를 분리, 배양하여 독소 생성능을 조사하였고, 그중 *Microcystis aeruginosa* 와 *Anabaena planktonica* 분리주를 대상으로 대량 배양하여 증식단계별로 클로로필 및 독소생산량을 조사하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

- 1) 국내 수계에서 분리한 남조류 배양주의 독소함량을 각 증별로 조사한 결과 *Microcystis wesenbergii* 가 가장 높은 세포 당 MCYSTs 함량을 나타내었고 국내 호수에서 분리한 남조류에서는 MCYST-RR이 약 80%의 비율로 가장 생산량이 많았다.
- 2) 대량배양을 통해 남조류 속별 증식단계별 독소생산량을 조사한 결과, 두 속 모두 증식단계에 따라 독소생산량이 달랐으며 생산하는 독소의 종류와 종류별 생산비율은 증식단계별로 거의 차이가 없었다. *Microcystis aeruginosa* (HG-015)는 최대 증식기에 가장 많은 독소를 생산하며 증식초기와 사멸기에는 독소생산량이 크게 감소하였으나 *Anabaena planktonica* (HG-012)는 *Microcystis aeruginosa* (HG-015)는 달리 증식초기와 대수 증식기에는 독소생산량이 매우 적었고 정지기와 사멸기 초기에 세포내 클로로필 a와 독소의 생산과 축적이 가장 많이 일어났다.
- 3) 본 연구 결과 남조류의 독소생산량이 남조류 속과 세포 증식단계에 따라 다르게 나타나는 것을 확인할 수 있었으며 따라서 상수원에서 유독 남조류를 제어할 때 우점 남조류 및 증식단계를 파악하여 독소를 최대생산하기 이전에 남조류를 수거 및 제어하여야 하며 또한 상수원에서 유독 남조류 제거기술 적용 시에 남조류 종과 증식단계를 고려한 기술적용이 필요할 것으로 사료된다.

사 사

본 연구는 2008-2009년도 국립환경과학원의 환경현안지원연구인 『조류예보제 발령기준 적정화 방안연구』의 일환으로 수행되었습니다.

참고문헌

국립환경과학원(2008). 조류예보제 발령기준 적정화 방안연구(I). NIER No. 2008-49-999.

국립환경과학원(2009). 조류예보제 발령기준 적정화 방안연구(II). NIER No. 2009-89-1145.

김화빈, 박혜경, 문정숙(2009). LC/MS/MS 분석을 위한 MCYSTs 전처리 단계별 효율성 연구. 수질보전 한국물환경학회지, **25**(5), pp. 720-726.

정영호(1968). 韓國 動植物 圖鑑. 제 9 권 淡水藻類편, 아카데미출판사.

환경부(2004). 수질오염공정시험방법.

Chorus, I. and Bartram, J. (1999). *Toxic Cyanobacteria In Water*, Spon Press.

Dai, M., Xie, P., Liang, G., Chen, J., and Lei, H. (2008). Simultaneous determination of MCYST-LR and its glutathione conjugate in fish tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography B*, **862**(1-2), pp. 43-50.

Gupta, N., Pant, S. C., Vijayaraghavan, R., and Lakshmana, P. V. (2003). Comparative toxicity evaluation of cyanobacterial cyclic peptide toxin MCYST variants (LR, RR, YR) in mice. *Toxicology*, **188**(2-3), pp. 285-296.

Jayaraj, R. and Lakshmana Rao, P. V. (2006). Protein phosphorylation profile and adduct formation in liver and kidney of MCYST-LR-treated mice. *Toxicol*, **48**(3), pp. 272-277.

Järvenpää, S., Lundberg-Niinistö, C., Spoof, L., Sjövall, O., Tyystjärvi, E., and Meriluoto, J. (2007). Effects of MCYSTs on broccoli and mustard, and analysis of accumulated toxin by liquid chromatography mass spectrometry. *Toxicol*, **49**(6), pp. 865-874.

Komárek, J. (1991). A review of water-bloom forming *Microcystis* species with regard to populations from Japan. *Archiv Hydrobiologie*, **92**(64), pp. 115-127.

McDermott, C. M., Feola, R., and Plude, J. (1995). Detection of cyanobacterial toxins (Microcystins) in waters of northeastern Wisconsin by a new immunoassay technique. *Toxicol*, **33**(11), pp. 1433-1442.

Ruangyuttikarn, W., Miksik, I., Pekkoh, J., Peerapornpisal, Y., and Deyl, P. (2004). Reversed-phase liquid chromatographic-mass spectrometric determination of MCYST-LR in cyanobacteria blooms under alkaline conditions. *Journal of*

- Chromatography B*, **800**(1-2), pp. 315-319.
- Spoof, L., Vesterkvist, P., Lindholm, T., and Meriluoto, J. (2003). Screening for cyanobacterial hepatotoxins, MCYSTs and nodularin in environmental water samples by reversed-phase liquid chromatography - electrospray ionisation mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, **1020**(1), pp. 105-119.
- Watanabe, M. and Oishi, S. (1985). Effect of environmental factors on toxicity of a cyanobacterium under culture condition. *Applied Environmental Microbiology*, **49**, pp. 1342-1344.
- Ziegmann, M., Abert, M., Müller, M., and Frimmel, F. M. (2010). Use of fluorescence fingerprints for the estimation of bloom formation and toxin production of *Microcystis aeruginosa*. *Water Research*, **44**(1), pp. 195-204.