

북한강 수계에서 *Dolichospermum*의 유전생태학적 특성 연구

유미나^a · 변정환^b · 백준수^c · 윤석제^d · 유순주^e · 변명섭^{f,†}

국립환경과학원 한강물환경연구소

Ecogenetical Characteristics of *Dolichospermum* in Bukhan River

Yu Mi Na^a · Byun Jeong-Hwan^b · Baek Jun Soo^c · Youn Seok Jea^d · Yu Soon-ju^e · Byeon Myeong Seop^{f,†}

Han River Environmental Research Center, National Institute of Environmental Research
(Received 24 October 2018, Revised 7 December 2018, Accepted 14 December 2018)

Abstract

This study analyzed the occurrence pattern of *Dolichospermum* (= *Anabaena*) in the Bukhan river from March 2012 to December 2014 in order to identify the genotypes of *Dolichospermum*. Furthermore, 16S rRNA were analyzed to identify the genotypes of *Dolichospermum* that occurred in 2015 which were then compared to the reference sequence deposited at NCBI. During this period, the occurrence of *Dolichospermum* was highly correlated to water temperature. In the year 2012 and 2013, *Dolichospermum* appeared in Lake Cheongpyeong (CP), Sambong (SB), and Lake Paldang (P2) between July and August. However, in 2014, it appeared in SB and P2, but not in CP. This reduction in appearance was attributed to the decreased inflow to Lake Uiam as a result of low rainfall in 2014 as compared to 2012. In July 2015, the *Dolichospermum* 16S rRNA genotype was confirmed in five locations; Lake Cheongpyeong (CP), Sejong (SJ), Songchon Sewage Treatment Plant (SC), Joan (P4), and Lake Paldang (PD). *Anabaena crassa* of spiral clone, *A. planctonica* of linear clone, and *A. circinalis* of spiral clone exhibited high genetic similarity with the reference sequence. The 16r RNA genotype showed approximately 3 % sequence variation between the locations and were more similar to each other in locations that were closer.

Key words : 16S rRNA, Bukhan River, *Dolichospermum* sp., Genotype, PCR, Phylogenetic tree

^a 전문위원(Researcher), zmfj2435@korea.kr, https://orcid.org/0000-0003-2047-7589

^b 연구사(Researcher), jh0130@korea.kr, https://orcid.org/0000-0001-5422-2950

^c 전문위원(Researcher), vital100@korea.kr, https://orcid.org/0000-0002-9087-8823

^d 전문위원(Researcher), cooker@korea.kr, https://orcid.org/0000-0003-1045-4754

^e 소장(Director), ysu4205@naver.com, https://orcid.org/0000-0002-1860-131X

^{f,†} Corresponding author, 연구관(Researcher), zacco@korea.kr, https://orcid.org/0000-0003-0997-2415

1. Introduction

우리나라는 물이 단시간 바다로 흘러가는 특성이 있어 용수 확보를 위해 대형 댐을 건설하여 운영하고 있다. 댐으로 인해 호소가 형성되어 체류시간 증가와 정체수역이 형성되면서 부영양화의 가능성도 높아졌다(Park, 2007). 부영양화는 수자원 이용에 어려움을 주며, 조류대발생을 일으키기도 한다. 우리나라에서의 조류대발생은 *Microcystis*, *Anabaena*, *Oscillatoria* 등이 우점하여 발생하며, 상수원 안정성을 확보하기 위하여 조류경보제를 운영하고 있다(Jung et al., 2018, NIER, 2016).

남조류 대발생은 geosmin과 2-MIB 등의 물질을 생성하며, 수중에서 흙냄새 및 비린내 등의 맛·냄새를 나게 하여 수질 관리에 부정적인 영향을 준다. Geosmin은 1965년도에 Gerber에 의해서 분리되었으며, 1968년도에 남조류인 *Symploma muscorum*에서 생성된다는 것이 최초로 보고되었다(Gerber and Lechevalier 1965; Medsker et al., 1968).

Geosmin을 생성하는 남조류는 *Dolichospermum* (= *Anabaena*), *Oscillatoria* 및 *Phormidium* 속 등으로 보고되고 있다(Park and Ryu, 1993; Park et al., 2017; Safferman et al., 1967) 남조류의 발생 사례는 2011년 11월 북한강 수계에서 동절기에 이례적인 *Dolichospermum*의 대량 증식으로 geosmin의 농도가 크게 증가하였고, 2012년 여름에 의암호에서 한강 본류까지 *Dolichospermum*의 대량 증식에 의한 이취미 발생으로 수돗물 이용에 대한 불편을 초래하였다(HRWEMD, 2013; You et al., 2013).

남조류의 대량 증식은 수온 상승, 일조량, CO₂ 증가, 높은 pH 뿐만 아니라 영양염의 농도 증가로 일어날 수 있다(Havens, 2008; Soranno, 1997). 특히, 수온과 수질인자의 변화에 민감하며 기후변화에 따른 수온상승은 남조류 생활사에 영향을 미친다(Blenckner et al., 2002, Noh et al., 2014).

*Dolichospermum*과 같은 남조류는 수온과 영양염의 농도 등에 의해 형태와 크기가 다양하게 변한다(Miranda et al., 2005; Yamamoto and Nakahara, 2009b). 또한, 배양조건에 따라 세포나 군체를 형성하는 특성이 달라져 동정의 오류를 유발할 수 있으며, 동일 종 내에서 형태적 변화는 *Dolichospermum*에서도 빈번히 일어난다(Otsyka et al., 2000, Shafik et al., 2003, Youn et al., 2018). 환경 인자에 의한 형태적 변화는 유전형(genotype)의 차이에서 나타난 표현형(phenotype)이며, 분자생물학적 방법을 이용한 genotype 확인으로 오류의 범위를 좁힐 수 있을 것으로 판단된다.

해외에서 연구된 genotype의 변화의 예는 해양남조류인 *Prochlorococcus*가 수심에 따른 광량에 따라 다수의 genotype의 다양성이 보고되었다(Moore and Chisholm, 1999; Nyree et al., 2001; Urbach et al., 1998). Yellowstone hot spring mat에 서식하는 고온성 남조류인 *Synechococcus*는 3가지 genotype (> 10% 16S rRNA sequence variation)이 확인되었고, 온천의 수온과 깊이에 따라 genotype이 달라졌다(Ruff-Roberts et al., 1994). 또한 프랑스의 하천인 Loire에

서 *Microcystis*의 대발생이 일어났을 때 기후 변화와 지점에 따라 주요 genotype의 우점율이 변하였다(Enora et al., 2009). 우리나라는 대청호에서 *Microcystis*의 유전형이 계절에 따라 변화하는 것을 확인한 연구가 있었으나(Kim et al., 2010) *Dolichospermum*을 확인한 사례는 없었다. 이상의 사례로 genotype은 환경에 따른 수질 인자의 영향으로 유전형의 변이가 유도될 수 있는 가능성을 가진다. 이는 북한강에서 *Dolichospermum*의 주요 genotype 변이에 따른 phenotype의 확인으로 종 동정의 오류를 줄일 수 있으며, 대발생 시 우점하는 유전자형과 시작되는 위치를 확인할 수 있을 것으로 판단된다.

본 연구는 북한강의 2012년부터 2014년까지의 *Dolichospermum* 출현 경향성을 분석하여 수체 간 이동을 확인하고, 2015년에 출현한 *Dolichospermum*의 염기서열 분석으로 각 지점 별 genotype을 확인하였다.

2. Materials and Methods

2.1 조사지점 및 기간

조사지점은 북한강수계 중·상류에 위치하는 청평호를 시작으로 팔당댐 앞까지 조사범위로 선정하였다(Fig 1). 출현 경향 조사는 청평호(CP), 삼봉(SB), 팔당호(P2)를 대상으로 하였고 2012년 3월부터 2014년 12월까지 시료 채취 및 수온을 측정하였다. 16S rRNA genotype 확인은 청평호(CP), 서종(SJ), 송촌하수처리장(SC), 조안(P4), 팔당호(P2) 지점을 대상으로 하였고, 2015년 7월에 시료를 채취하였다.

2.2 *Dolichospermum* sp. 세포수 및 환경요인 분석

시료는 표층수를 채취하여 4 °C의 암조건에서 실험실로 운반하였고, *Dolichospermum*의 세포수를 측정하기 위하여 루골용액으로 고정하였다(최종농도 1%, v/v). 고정된 시료는 식물플랑크톤의 농도에 따라 농축 또는 희석하였고, Sedgwick-Rafter counting chamber를 이용하여 위상차 현미경(Nikon eclipse 80i)으로 100배에서 1,000배로 사이로 동정 및 계수

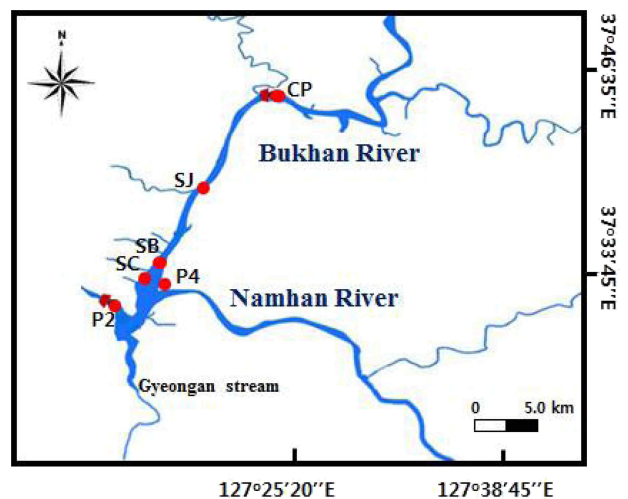


Fig. 1. Map showing the sampling sites in Bukhan river.

하였다. 수온은 YSI 6600 meter로 표층에서 측정하였고, 2012년에서 2014년의 강우량은 기상청(<http://www.weather.go.kr>) 자료를 이용하였다.

2.3 *Dolichospermum* sp. 단일 세포 분리 및 PCR

*Dolichospermum*의 단일 세포는 채취된 표층수에서 Capillary pipette로 형태(직선형, 나선형)에 따라 분리하였다. 분리한 *Dolichospermum*의 DNA 추출은 DNA Mini Spin kit (Qiagen, Valencia, CA)의 protocol을 따랐다. 추출된 시료에서 16S rDNA를 증폭하기 위한 primer로 CYA106F (CGG/ACG/GGT/GAG/TAA/CGC/GTG/A)/CYA781R(GAC/TAC/T(A)GG/GGT/ATC/TAA/TCC/CA(T)T/T)를 이용하였다(Nübel et al., 1997). PCR은 solg™ 2X Taq smart mix 2 (Solgent, Korea)을 사용하였으며 제조 방법에 따라 2X Taq PCR smart mix 2 12.5 µL, primer 0.2µM, 주형 DNA 2.5 µL에 멸균된 증류수를 첨가하여 최종 25 µL로 제조하였다. PCR 반응 조건은 95 °C에서 5분간 초기 denaturation을 준 후, 95 °C (denaturation)에서 20초, 59 °C (annealing)에서 1분, 72 °C (elongation)에서 1분을 35회 반복하였으며, 최종적으로 72 °C에서 10분간 elongation 추가하였다. 증폭된 PCR 산물은 1.5 % agarose gel에서 전기영동(100 V, 25 min)하여 band의 크기를 확인하였다.

2.4 염기서열 분석 및 계통도 작성

염기서열은 마크로젠(Korea)에서 Standard-Seq 분석을 의뢰하였다. 염기서열 분석을 위한 시약은 BigDye (R) Terminator v3.1 Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, CA)를 사용하였고, 분석은 ABI PRISM 3730xl DNA analyzer (Applied Biosystems, CA)를 이용하였다. 분석된 염기서열은 NCBI에서 제공하는 BLAST를 이용하여 등록된 염기서열과 비교하였다. 확인된 염기서열은 BioEdit의 Cluster W2 (Larkin et al., 2007)로 정렬하였고, 계통도는 MEGA 5.2 program의 neighbor-joining tree algorithm으로 작성하였다(Tamura et al., 2011).

3. Results and Discussion

3.1 *Dolichospermum* 출현 경향 분석

2012년부터 2014년까지 북한강 수계 청평호(CP), 삼봉(SB) 및 팔당호(P2) 지점의 *Dolichospermum* 출현 경향을 조사하였다(Fig. 2). 2012년 7월~8월까지 *Dolichospermum* 최대 출현량은 CP에서 16.8×10^3 cells/mL, SB에서 19.7×10^3 cells/mL 및 P2에서 11.1×10^3 cells/mL였고, 수온은 19.8~33.7 °C 범위로 조사되었다. 2013년 7월~8월에는 CP에서 74 cells/mL, SB에서 117 cells/mL 및 P2에서 114 cells/mL였고, 수온은 16.3~28.8 °C 범위로 조사되었다. 2014년에는 CP에서 출현하지 않았고, SB에서 13.9×10^3 cells/mL 및 P2에서 8.4×10^3 cells/mL였고, 수온은 21.1~28.3 °C 범위였다(Fig. 2).

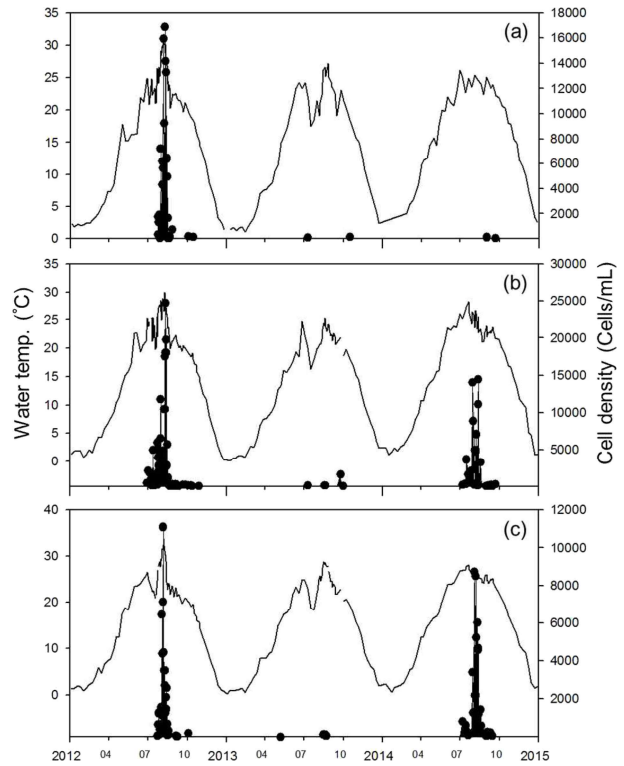


Fig. 2. Relationship between water temperature and *Dolichospermum* cell density: (a) Cheongpyeong (CP), (b) Sambong (SB), (c) Paldang (P2).

Table 1. Annual rainfall and number of rainy days in Chuncheon

Site	Year	Rainfall	
		(mm)	(days)
Chuncheon	2012	1324	111
	2013	1740	125
	2014	677	90

2014년은 춘천지점의 강우량과 강우 일수가 2012년과 2013년도에 비해 낮았다. 북한강 상류인 춘천지점 2012년과 2014년의 강수량은 647 mm 차이가 있었고, 2013년과 2014년 대비 1,063 mm의 차이가 나타났다. 또한 강우일수는 2012년과 2014년의 차이가 약 21일이었고, 2013년과 2014년은 35일의 차이가 났다(Table 1). 2012년과 2013년 강수량과 강우 일수 차이는 416 mm, 14일로 크지 않았으나, 2012년에 *Dolichospermum*의 증가는 의암호에서 발생하여 북한강 수계 하류방향 댐호로 확산된 후 팔당호에서 대량 증식되었을 것으로 판단된다(Byun et al., 2014). 2014년도에는 2012년과 2013년 대비 강우 주기와 강우량이 낮아 체류시간이 증가하여 SB와 P2에서 *Dolichospermum*이 출현하였고 반면에 CP에서는 출현하지 않았다.

*Dolichospermum*는 수온 하강, 영양염류 부족 등의 성장에 불리한 환경에서 휴면포자(akinete)를 만들어 퇴적층에 가라앉아 있다가 유리한 조건이 형성되면 발아하여 표층으로 떠오른다(Yamamoto and Nakahara, 2009a). 휴면포자의

발아율은 20~25 °C에서 가장 높은 것으로 보고되었다(Li et al., 2013; Park et al., 2014). 초여름에 SB와 P2 지점의 수온이 20.9~24.9 °C 사이로 측정되어 휴면포자의 발아율의 높았을 것으로 판단되며(Kim et al., 2015), 강우에 의한 수체 이동 감소로 의암호에서 유입량이 줄어들어 CP에서는 *Dolichospermum*이 출현하지 않았을 것으로 사료된다. 12년과 14년의 *Dolichospermum* 출현 경향 차이는 강우에 의한 수체의 이동에 의한 것으로, 퇴적층에서 휴면포자로 존재하다가 발아하여 증식하였을 것으로 판단된다.

3.2 16S rRNA의 genotype 확인

북한강에서 분리된 *Dolichospermum*의 clone들은 목표 크기인 699 bp에서 확인되었다. BLAST 분석 결과, 직선형인 clone들은 주로 *Anabaena planctonica*와 99%로 유전적으로 유사도가 높게 나타났고 나선형인 *A. circinalis*도 유사도가 높았다. 나선형인 clone은 주로 *Anabaena crassa*와 99%로 높은 유사도를 나타내었으며, 그 외에 *A. spiroides*, *A. circinalis*,

*D. crassum*과도 유사하였다.

Dolichospermum genotype은 형태적으로 직선형(Group A)과 나선형(Group B)으로 분리되었다. Group A는 직선형의 염기서열들이 속하였고 Group B는 주로 나선형의 clone들이 속하였다(Fig. 3).

Group A는 북한강 clone인 A'와 NCBI에 등재된 *Dolichospermum* 염기서열인 A''로 재분지 되었으며, Group B도 동일하게 B'(북한강 clone)와 B''(NCBI의 염기서열)로 재분지 되었다. A'와 B' *Dolichospermum* 염기서열은 염기서열 분석 중 유실된 부분을 제외한 510 bp 내에서 대부분 3% 이내의 차이가 나타났다. 형태적으로 나선형보다 직선형 염기서열의 변이가 많이 나타났으며, 지점 간 거리가 멀어질수록 염기서열의 차이가 커졌다. 염기서열의 차이는 직선형이 최대 16 bp, 나선형이 17 bp의 차이를 나타내었다(Table 2).

이러한 차이는 유전적 보존성이 높은 16S rRNA의 시간적 변이 정보를 내포한다. 유전적 변이는 16S rRNA 구조를 따라 특정 region에 집중되어 서서히 일어나기 때문에 종

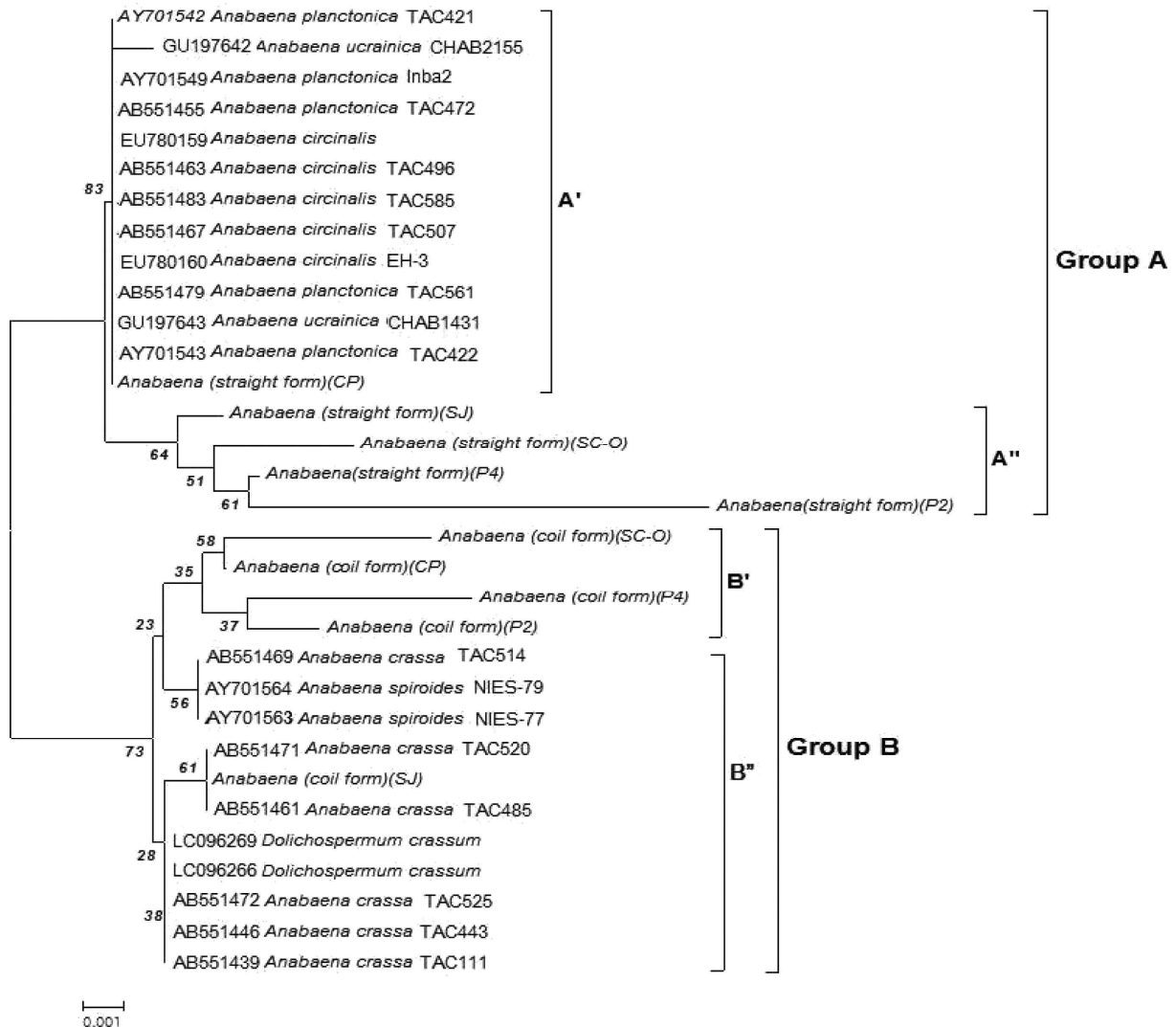


Fig. 3. Phylogenetic relationships of *Dolichospermum* taxa using neighbor-joining tree algorithm. The algorithm was based on partial 16S rRNA sequence (699 bp). The Clones used were isolated single *Dolichospermum* cell from Bukhan river.

Table 2. Sequence comparisons among *Dolichospermum* with similar morphology

Straight	CP	SJ	SC	P4	P2
CP	-				
SJ	3	-			
SC	6	5	-		
P4	6	5	6	-	
P2	16	16	17	15	-
Coil	CP	SJ	SC	P4	P2
CP	-				
SJ	4	-			
SC	5	8	-		
P4	6	3	9	-	
P2	6	10	12	7	-

(species) 간 비교에 많이 이용된다(Rebecca et al., 2007; Stackebrandt and Goebel, 1994). 같은 종에서 나타나는 염기서열의 차이는 분류학적 측면에서 다양하게 보고되고 있으며, 동일종의 2~3% 유전적 차이는 형태적 변이종으로 판별할 수 있을 것으로 보고하였다(Kim et al., 2014).

직선형 *Dolichospermum* 그룹인 A'과 나선형 그룹인 B'은 북한강 내에서 각 지점마다 genotype의 차이를 나타내었으며 가까운 지점 간에 근연관계를 내포하였다. A'는 P4를 기준으로 P2와 SC, SJ가 가까운 지점 간 클러스터(Cluster)가 되었으며, B'는 CP, SC와 P2, P4로 가까운 지점과 다른 가지로 클러스터 되었다. 수체에서 genotype은 수심 및 지점간의 수온, 광량, 영양염 등에 의해서 영향을 받으며 특히 수온은 유전적 변이에 큰 영향을 주는 trigger로 작용할 수 있을 것으로 보고되었다(Gabrielle et al., 2003; Yang et al., 2014) *Dolichospermum* 출현량은 CP, SB, P2 에서 수온의 변화와 연관성이 높았으며, 이는 수온이 genotype에 영향을 주는 하나의 요소일 것으로 판단된다.

본 연구는 북한강에서 출현한 *Dolichospermum* genotype이 3%의 차이로 지점 간 다르다는 것을 확인하였다. 이와 같은 연구는 남조류 대발생 시 지점 별 유전자 군집구조 분석으로 genotype 다양성과 계절적 변화에 따른 유전자 풀(Gene pool)의 이동을 추적할 수 있을 것으로 판단된다.

4. Conclusion

본 연구는 북한강에서 출현하는 *Dolichospermum*의 genotype을 확인하기 위해 2012년 3월부터 2014년 12월까지 *Dolichospermum*의 출현경향을 분석하였다. 또한 2015년에 출현한 *Dolichospermum*의 genotype을 확인하기 위해 16S rRNA를 분석하였고, NCBI에 등록된 염기서열과 비교분석하였다.

조사 기간 동안 *Dolichospermum* 출현은 수온의 변화와 연관성이 높았다. *Dolichospermum*은 2012년과 2013년의 7월에서 8월 사이에 청평호(CP), 삼봉(SB), 팔당호(P2)에서

출현하였다. 2014년에는 삼봉과 팔당호에서 출현하였고, 청평호에서는 출현하지 않았다. 이는 2012년도 대비 강우의 감소로 의암호에서 유입이 줄어들어 출현이 감소하였을 것으로 판단된다.

2015년 7월에 청평호(CP), 서종(SJ), 송촌하수처리장(SC), 조안(P4), 팔당호(P2) 앞의 5개 지점에서 *Dolichospermum* 16S rRNA genotype을 확인하였다. *Dolichospermum* 염기서열은 나선형의 clone이 *Anabaena crassa*와 유전적 유사도가 높았고, 직선형 clone인 *Anabaena planctonica*와 유전적 유사도가 높았으며 나선형의 clone인 *A. circinalis*와도 유사도가 높았다. 16r RNA genotype은 지점 간 3% 내외의 염기서열 차이가 나타났고, 가까운 지점 간에 클러스터 되었다.

염기서열의 3% 차이는 다양한 환경요인에 의하여 변이가 일어날 수 있다. 환경요인 중 수온이 trigger로 작용할 것으로 보고되었으며, 북한강 수계의 *Dolichospermum* genotype도 동일한 요인에 의하여 염기서열 차이가 났을 것으로 판단된다.

Acknowledgement

본 연구는 국립환경과학원 한강물환경연구소 조사연구사업(NIER-2018-01-01-074)의 일환으로 수행되었습니다.

References

- Blencker, T., Pettersson, K., and Padisak, J. (2002). Lake plankton as tracer to discover climate signals, *Verhandlungen Internationale Vereinigung Limnologie*, 28, 1327-1327.
- Byun, J. H., Cho, I. H., Hwang, S. J., Park, M. H., Byeon, M. S., and Kim, B. H. (2014). Relationship between a dense Bloom of cyanobacterium *Anabaena* spp. and rainfalls in the North Han river systems of South Korea, *The Korean Society of Limnology*, 47(2), 116-126. [Korean Literature]
- Enora, B., Nicolas, E., Cécile, S., Marion, S., Catherine, Q., and Jean-François, H. (2009). Spatiotemporal changes in the genetic diversity of a bloom-forming *Microcystis eruginosa* (Cyanobacteria) population, *International Society for Microbiol Ecology*, 3, 419-429.
- Gabrielle, R., Frank, W. L., Jane, L., Stephanie, M., Patrick, C., Nathan, A. A., Andrae, A., Maureen, C., Loren, H., Wolfgang, R. H., Zackary, I. J., Miriam, L., Debbie, L., Anton, F. P., Warren, R., Manesh, S., Stephanie, L. S., Claudia, S., Matthew, B. S., Claire, S. T., Andrew, T., Eric, A. W., Erik, R. Z., and Chisholm, W. C. (2003). Genome divergence in two *Prochlorococcus* ecotypes reflects oceanic niche differentiation, *Nature*, 424, 1042-1047.
- Gerber, N. N. and Lechevalier, H. A. (1965). Geosmin, an earthy-smelling substance isolated from actinomycetes, *Applied Microbiology*, 13(6), 935-938.
- Han River Watershed and Environment Management District (HRWEMD). (2013). *Distribution and eco-physiological characteristics of harmful algae in the North Han river, Final report*, Han River Watershed and Environment Management

- District. [Korean Literature]
- Havens, K. E. (2008). *Cyanobacteria blooms: effects on aquatic ecosystems*, Cyanobacterial Harmful Algal Blooms, Hudnell, K. D. (ed), (619), State of the Science and Research Springer New York, 733-747.
- Jung, H. C., Yim, B. C., Lim, S. J., Kim, B. H., Yoon, B. S., and Lee, O. M. (2018). Development of mcyB-specific ultra-rapid real-time PCR for quantitative detection of *Microcystis aeruginosa*, *Journal of Korean Society on Water Environment*, 34(1), 46-56. [Korean Literature]
- Kim, K. H., Lim, B. J., You, K. A., Park M. H., Park, J. H., Kim B. H., and Hwang. S. J. (2014). Identification and analysis of geosmin production potential of *Anabaena* stain isolated from North Han river using genetic methods, *The Korean Society of Limnology*, 47(4), 342-349. [Korean Literature]
- Kim, S. G., Joung, S. H., Ahn, C. Y., Ko, S. R., Boo, S. M., and Oh, H. M. (2010). Annual variation of *Microcystis* genotypes and their potential toxicity in water and sediment from eutrophic reservoir, *FEMS Microbiology Ecology*, 74, 93-102.
- Kim Y. J., Youn S. J., Kim H. Y., Hwang M. Y., Park J. L., Lee B. C., and Lee J. K. (2015). Formation of phytoplankton community and occurrences of odorous compounds for sediment incubation by water temperature, *Journal of Korean Society on Water Environment*, 31(5), 460-467. [Korean Literature]
- Larkin, M. A., Blackshields, G., Brown, N. P., Chenna, R., McGettigan P. A., McWilliam, H., Valentin, F., Wallace, I. M., Wilm, A., Lopez, R., Thompson, J. D., Gibson, T. J., and Higgins, D. G. (2007). ClustalW2 and ClustalX version 2, *Bioinformatics*, 23, 2947-2948.
- Li, Z., Han, M. S., Hwang, S. O., Byeon, M. S., Hwang S. J., and Kim B. H. (2013). Molecular identification of the bloom-forming cyanobacterium *Anabaena* from North Han river system in summer 2012, *Korean Journal of Ecology and Environment*, 46, 301-309.
- Medsker, L. L., David J., and Jerome, F. T. (1968). Odorous compounds in natural water. An earthy-smelling compound associated with blue-green algae and actinomycetes, *Environmental Science and Technology*, 2(6), 461-464.
- Miranda, M. D., Gaviano, M., and Serra, E. (2005). Changes in the cell size of the diatom *Cylindrotheca closterium* in a hyperhaline pond, *Chemistry and Ecology*, 21(1), 77-81.
- Moore, L. R. and Chisholm, S. W. (1999). Photophysiology of the marine cyanobacterium *Prochlorococcus* ecotypic differences among culture isolates, *Limnology and Oceanography*, 44, 628-638.
- National Institute of Environmental Research (NIER). (2016). *White paper of algae in lake Paldang*, NIER-GP2016-273, Han-River Environment Research Center, National Institute of Environmental Research. [Korean Literature]
- Noh, S. Y., Park, H. K., Choi, H. L., and Lee, J. A. (2014). Effect of climate for cyanobacteria growth pattern in Chudong station of lake Daechung, *Journal of Korean Society on Water Environment*, 30(4), 377-385. [Korean Literature]
- Nübel, U., Ferran, G. P., and Gerard, M. (1997). PCR primers To amplify 16S rRNA genes from cyanobacteria, *Environmental Microbiology*, 63(8), 3327-3332.
- Nyree, J. W., Wilhelm, A. S., Nicholas, J. F., Rudolf, I. A., Rosmarie, R., Anton, F. P., and David, J. S. (2001). Closely related *Prochlorococcus* genotypes show remarkably difference depth distribution in two oceanic regions as revealed by *in situ* hybridization using 16S rRNA-targeted oligonucleotides, *Microbiology*, 147, 1731-1744.
- Otsyka, S., Suda, S., Li, R., Matsumoto, S., and Watanabe, M. (2000). Morphological variability of colonies of *Microcystis* morphospecies in culture, *The Journal of General and Applied Microbiology*, 46(1), 39-50.
- Park, C. H., Lim, B. J., You, K. A., Park, M. H., and Hwang, S. J. (2014). Effects of environmental factors on akinete germination of *Anabaena circinalis* (Cyanobacteriaceae). Isolated from the North Han River, Korea, *The Korean Society of Limnology*, 47(4), 292-301. [Korean Literature]
- Park, H. J. (2007). Survey method relation freshwater phytoplankton for the management of water resources, *National Institute of Environmental Research*, 29(6), 593-609. [Korean Literature]
- Park, H. J., Park, M. H., Sim, Y. B., Im, J. K., and Hwang, S. J. (2017). Geosmin production potential of a cyanobacterium, *Anabaena circinalis* isolated from lake Paldang, Korea, *The Korean Society of Limnology*, 50(4), 363-373. [Korean Literature]
- Park, J. H. and Ryu, S. H. (1993). Reasons and measures of odors in drinking water, *Korea Society Water Wastewater*, 6(1), 58-90. [Korean Literature]
- Rebecca, J. C., Yan, B., Ingela, D. D., Carola, H., Doolittle, W. F., and Staffan, K. (2007). Use of 16S rRNA and *rpoB* genes as molecular markers for microbial ecology studies, *Applied and Environmental Microbiology*, 73(1), 278-288.
- Ruff-Robert, A. L., Kuenen, J. G., and Ward, D. M. (1994). Distribution of cultivated and uncultivated cyanobacteria and *Chloroflexus*-like bacteria in hot spring microbial mats, *Environmental Microbiology*, 60, 697-704.
- Safferman, R. S., Rosen, A. A., Mashini, C. I., and Morris, R. E. (1967). Earth-smelling substance from a blue green alga, *Environmental Science and Technology*, 1, 429-430.
- Shafik, H. M., Voros, L., Sporver, P., Presing, M., and Kovacs, A. W. (2003). Some special morphological features of *Cylindrospermopsis raciborskii* in batch and continuous cultures, *Hydrobiologia*, 506(1-3), 163-167.
- Soranno, P. A. (1997). Factors affecting the timing of surface scums and epilimnetic blooms of blue-green algae in a eutrophic lake, *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 54, 1965-1975.
- Stackebrandt, E. and Goebel, B. M., (1994). Taxonomic Note: A Place for DNA-DNA Reassociation and 16s rRNA Sequence Analysis in the Present Species Definition in Bacteriology, *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44(4), 846-849.
- Tamura, K., Daniel, P., Nicholas, P., Glen, S., Masatoshi N., and Sudhir, K. (2011). MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods, *Molecular Biology and*

- Evolution*, 28(10), 2731-2739.
- Urbah, E. S., Scanlan, D. J., Distel, D. L., Waterbury, J. B., and Chrisholm, S. W. (1998). Rapid diversification of marine picophytoplankton with dissimilar light-harvesting structures inferred from sequence of *Prochlorococcus* and *Synechococcus*, *Journal of Molecular Evolution*, 46(2), 188-201.
- Yamamoto, Y. and Nakahara, H. (2009a). Life cycle of cyanobacterium *Aphanizomenon flos-aquae*, *Taiwania*, 54(2), 113-117.
- Yamamoto, Y. and Nakahara, H. (2009b). Seasonal variations in the morphology of bloom-forming cyanobacteria in a eutrophic pond, *Limnology*, 10(3), 185-193.
- Yang, L., Yao, X., Peng, X., Qianqian, P., Gongliang, Y., and Renhui, L. (2014). Genetic analysis on *Dolichospermum* (Cyanobacteria; sensu *Anabaena*) populations based on the culture-Independent clone libraries revealed the dominant genotypes existing in lake Taihu, China, *Harmful Algae*, 31, 76-81.
- You, K. A., Byeon, M. S., Youn, S. J., Hwang, S. J., and Rhew, D. H. (2013). Growth characteristics of blue-green algae(*Anabaena spiroides*) causing tastes and odors in the North-Han river, Korea. *The Korean Society of Limnology*, 46(1), 135-144. [Korean Literature]
- Youn, S. J, Kim, Y. J., Kim, H. Y., Yu, M. N., Lee, E. J., and Yu, S. J. (2018). Geosmin and morphological characteristics for *anabaena circinalis*, obtained from the Bukhan River, *Journal of Environmental Science Internatinal*, 27(1), 27-38. [Korean Literature]