

ORIGINAL ARTICLE

광주지역 영산강 내 식물플랑크톤의 계절적 변동과 남조류 독소합성유전자의 계통발생학적 특성

김하람 · 조광운 · 손경록 · 장동 · 서광엽 · 김연희*

광주광역시보건환경연구원 환경연구부

Seasonal Variation of Phytoplakton and Phylogenetic Characteristics of Cyanotoxin synthetase genes within Youngsan River in Gwangju

Haram Kim, Gwangwoon Cho, Gyeongrok Son, Dong Jang, Gwangyeob Seo, Yunhee Kim*

Department of Environmental Research, Health & Environment Research Institute of Gwangju, Gwangju 61954 Korea

Abstract

Cyanobacteria have been used as pollution indicator species in freshwater ecosystems, and identifying their fluctuations can be an important part about management of surface waters globally. Cyanotoxins produced by cyanobacteria are directly or indirectly a threat to human and environmental health. In order to confirm the potential risk of these cyanotoxins, the fluctuations of phytoplankton and phylogenetic analysis of cyanotoxin synthetase genes were conducted at each point in the Yeongsan River water system in Gwangju from November 2021 to October 2022. Diatoms which grow well in winter were dominant at 99.4 ~ 99.5%, and diatoms and green algae were dominant from the spring to autumn when the water temperature rises. *Stephanodiscus* spp. were dominant at 92.7 to 97.5 % at all sites in the winter, and *Aulacoseira* spp., which grow in warm water temperatures, were dominant in summer and autumn. *Microcystis aeruginosa* was dominant at 25.2% in summer only at site 5. *mcyB* and *anaC* have been detected as cyanotoxin synthetase genes. The phylogenetic tree of *anaC* could be divided into two groups (Group 1 & Group 2). Group 1 contained *Aphanizomenon* sp. and *Cuspidothrix issatschenkoi*. It is combined with *Aphanizomenon* sp. and *Cuspidothrix issatschenkoi*, which are known to produce cyanotoxins.

Key words : MC (microcystin), ATX (anatoxin), Cyanotoxins, *mcyB*, *anaC*, Phylotgenetic tree

1. 서론

영산강은 길이 115.5 km, 유역면적 3,371 km²로 담양군 용추봉에서 발원하여 서·남해로 유입되는 강으로 상류에는 담양댐, 광주댐, 장성댐, 나주댐 등 다목적댐과 4대강 사업으로 광주광역시에 송촌보와 나주시에 죽산보가 건설되었다(Jeong et al., 2014). 이러한 인공구조물은 하천의 정체 수역을 확대시켜 부영양화를 가속

화시키고 그 수계에서 성장하는 생물군의 천이를 일으킬 수 있다(Hummel et al., 1994). 생물군 중 식물플랑크톤은 1차 생산자로 환경 변화에 민감하여 규조류 *Stephanodiscus hantzschii*와 남조류 *Microcystis aeruginosa*가 수생태계의 오염 지표종으로 활용되어 왔다(Reynolds, 1984). 부영양화된 하천에서 하계에는 남조류, 동계에는 규조류의 수화 현상으로 인해 경제적 손실 및 공중위생상 문제가 대두되고 있다.

Received 16 February, 2023; Revised 10 May, 2023;

Accepted 11 May, 2023

*Corresponding author : Yunhee Kim, Chief, Health & Environment Research Institute of Gwangju, Gwangju 61954 Korea
Phone : +82-62-613-6150
E-mail : kyh7513@korea.kr

© The Korean Environmental Sciences Society. All rights reserved.

© This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

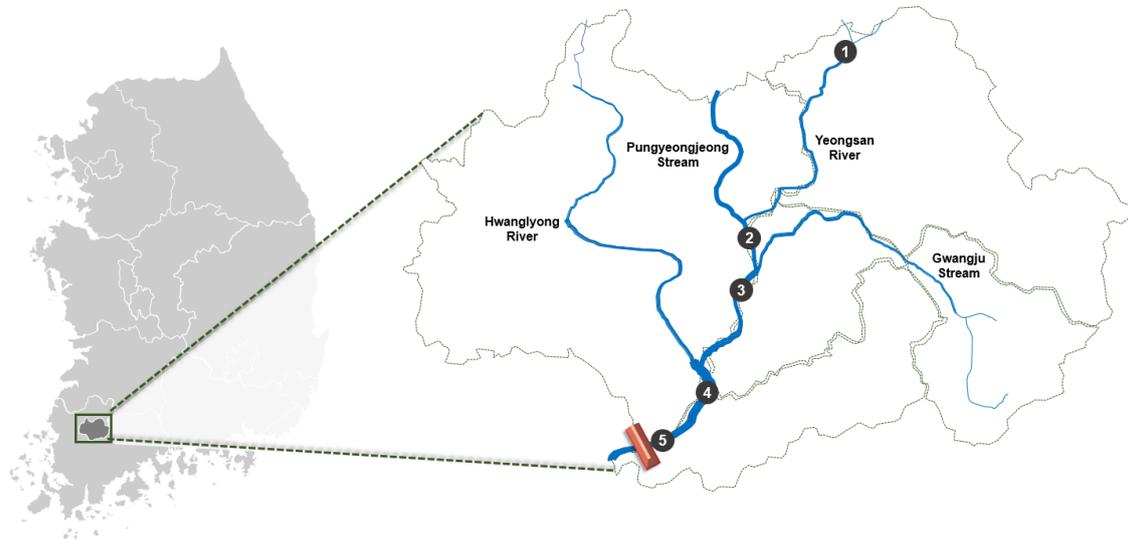


Fig. 1. Map of sampling sites in this study. The numerals represent different sampling sites. 1: site 1(St. 1); 2: site 2(St. 2); 3: site 3(St. 3); 4: site 4(St. 4); 5: site 5(St. 5).

특히, 전 세계적으로 남조류의 증식으로 인한 녹조현상은 지표수 관리에 영향을 끼치는 주요한 수질 문제이다(Chorus and Bartram, 1999). 일부 남조류의 과다 증식은 악취를 유발하거나 경관을 악화시키는 것과 같이 심미적으로 부정적인 영향을 끼치고 다양한 독소물질로 인간과 환경 건강에 위협이 되고 있다(Machado et al., 2017).

남조류가 생성해 내는 독소물질은 간독소인 microcystin (MC), nodularin (NOD), cylindrospermopsin (CYN) 와 신경독소인 anatoxin (ATX), saxitoxin (STX)으로 나뉘어진다(Codd et al., 1999). 간독소인 MC-LR은 저농도로 장기간 노출시 인간에게 암을 유발하고(de Figueiredo et al., 2004), CYN은 이유를 알 수 없는 간염을 유발하는 (Bourke et al., 1983)등 인체에 직접적인 위협을 가할 수 있다. 농업에서는 남조류 독소물질이 씨앗의 발아억제, 농작물의 품질 및 생산성 저하 등과 같은 악영향이 보고되었다(Chen et al., 2004a, 2013b). 또한, 호수나 유속이 느린 하천에서 남조류는 결국 바다에 이르러서 남조류 독소가 해양의 수생생물에 축적된다고 알려져있다(Jeon et al., 2015).

환경부에서는 국내 수계에서 출현 빈도가 높고 독소를 생성할 가능성이 높은 *Microcystis*, *Anabaena*, *Aphanizomenon*, *Oscillatoria* 속을 유해남조류로

지정하여 이들의 총 세포 수 밀도로 조류경보제를 운영하고 있다(NIER, 2020). 하지만 유해남조류라 할지라도 모두 독소를 생성하는 것이 아니므로 그 존재만으로 독소 유해성을 판단할 수 없고(Humbert et al., 2010), 독소생합성유전자의 유무 및 남조류 성장단계 따라 독소합성력이 달라지므로 과다 증식이 나타나기 전 독소유전자를 가진 잠재적 독소생성 남조류를 검출해 내는 것이 중요하다(Meißner et al., 1996; Jeon et al., 2015; Humbert, 2017). 잠재적 독소생성 남조류는 형태학적 방법으로는 구분 할 수 없으며, 독소에 대한 유해성을 신속, 정확하게 파악하기 위해서 검출한계가 낮은 분자생물학적 방법이 동시에 이루어져야 한다(Elnifro et al., 2000; Al-Tebrineh et al., 2012).

영산강은 전라남도의 생활용수 및 농·공업용수로 이용되는 중요한 수자원으로 지속적으로 식물플랑크톤과 남조류의 과다증식에 따른 독소의 확인이 필요하나 타 수계 대비 영산강은 식물플랑크톤의 변동에 대한 연구와 남조류 독소에 관한 연구가 부족한 실정이다(Jeong et al., 2014; Lee, 2020)

본 연구에서는 광주권 영산강 수계에서 형태학적 분석에 따른 식물플랑크톤의 계절 및 지점별 변동 추이 조사뿐만 아니라 분자생물학적 분석 기반으로 독소합성유전자의 계통발생학적 특성 연구를 통해 녹조 대

Table 1. The list of PCR primers used in this study

Target	Gene	Primer name	Sequence(5'→3')	Product size(bp)	References
Microcystin	<i>mcyB</i>	TOX2M	GGAACAAGTTGCACAGAATCCGC	355	Dittmann et al., 1999
		TOX2P	CCAATCCCTATCTAAACACAGTAACTCGG		
Anatoxin-a	<i>anaC</i>	angen-F2	ATGGTCAGAGGTTTTACAAG	861	Legrand et al., 2016
		axgen-R	CGACTCTTAATCATGCGATC		
		anaC-gen-F2	ATCTGGTATTTCAGTCCCCTCTAT	366	
		anaC-gen-R2	CCCAATAGCCTGTCATCAA		
Cylindrospermopsin	<i>cyrJ</i>	cynsulFF	ACTTCTCTCCTTTCCCTATC	585	Mihali et al., 2008
		cynamR	GAGCGAAAATGCGTAGAACTTG		

응을 위한 기초자료를 제공하고자 수행되었다.

2. 재료 및 방법

2.1. 연구지점 및 시기

영산강의 시료채취를 위한 현장 조사는 2021년 11월부터 2022년 10월까지 월 1회 실시하였으며, 남조류 과다 증식이 예상되는 8월과 9월은 월 2회 이상 조사를 수행하였다.

조사지점은 광주권 내에 있는 영산강 수계 중 상단 부분인 지점 1, 합류되는 천이나 강의 영향을 확인하기 위해 풍영정천 합류 후인 지점 2, 광주천 합류 후인 지점 3, 황룡강 합류 후인 지점 4, 하단 부분인 지점 5로 총 다섯 지점을 선정하였다(Fig. 1).

2.2. 시료채수 및 현장측정

현장측정항목은 다항목수질측정기 YSI 556 MPS(USA)로 채수 시 현장에서 바로 측정하였다. 시료를 채수하여 조류의 형태학적 분석을 위한 시료는 150 mL 무균채수병에 루골용액 (최종농도 2%)으로 고정하였고, 남조류의 독소합성유전자 분석을 위한 시료는 무균채수병 2 L에 채수하여 냉암 조건으로 운반하였다.

2.3. 식물플랑크톤 군집다양성 분석 및 생체량 분석

식물플랑크톤의 개체수 정량은 세즈워-라프터 챔버에 고정 시료 1 mL를 분취하고 광학현미경(Carl Zeiss AXIO Imager. A2, Germany)으로 200배율로 챔버 내에 격자를 40~50개를 계수하였다. 계산은 수질오염

공정시험기준 식물플랑크톤-현미경계수법에 따라 개체수를 산출하였다. 식물플랑크톤의 군집 다양성 분석을 위해 종다양성지수(*H*, species diversity index)의 Shannon-Wiener 공식, 균등도지수(*J*, evenness index)와 우점도지수(*C*, dominance index)는 Pielou 공식을 이용하여 군집다양성을 분석하였으며, 그 식은 아래와 같다.

$$H = -\sum P_i \times \ln P_i \tag{1}$$

$$J = H / \ln S \tag{2}$$

$$C = \sum n_i(n_i-1) / N(N-1) \tag{3}$$

위에서 *S*는 총 출현종수, *P_i*는 전체 개체수(*N*)에서 *i*번째 종이 차지하는 비율(*n_i/N*)이며 *n_i*는 *i*번째 종의 개체수를 의미한다.

식물플랑크톤의 생체량 분석은 수질오염공정시험기준 클로로필 a에 따라 실험하여 농도를 산출하였다.

2.4. 남조류의 독소합성유전자 분석

남조류의 독소합성유전자 분석을 위해 시료를 pore size 0.45 μm membrane filter와 MicroFunnel™ (Pall, US)를 이용하여 여과 한 후 DNAeasy PowerWater kit (Qiagen, Germany)를 이용해 genomic DNA를 추출하여 -20℃에 보관하였다.

독소합성유전자 *mcyB* (microcystin synthetase), *anaC* (anatoxin synthetase), *cyrJ* (cylindrospermopsin synthetase) 유전자의 특이적인 primer를 제작하여 PCR을 수행하였다(Table 1.). PCR 반응액은 TaKaRa Taq™ (TaKaRa, Japan)를 이용하여 DNA template

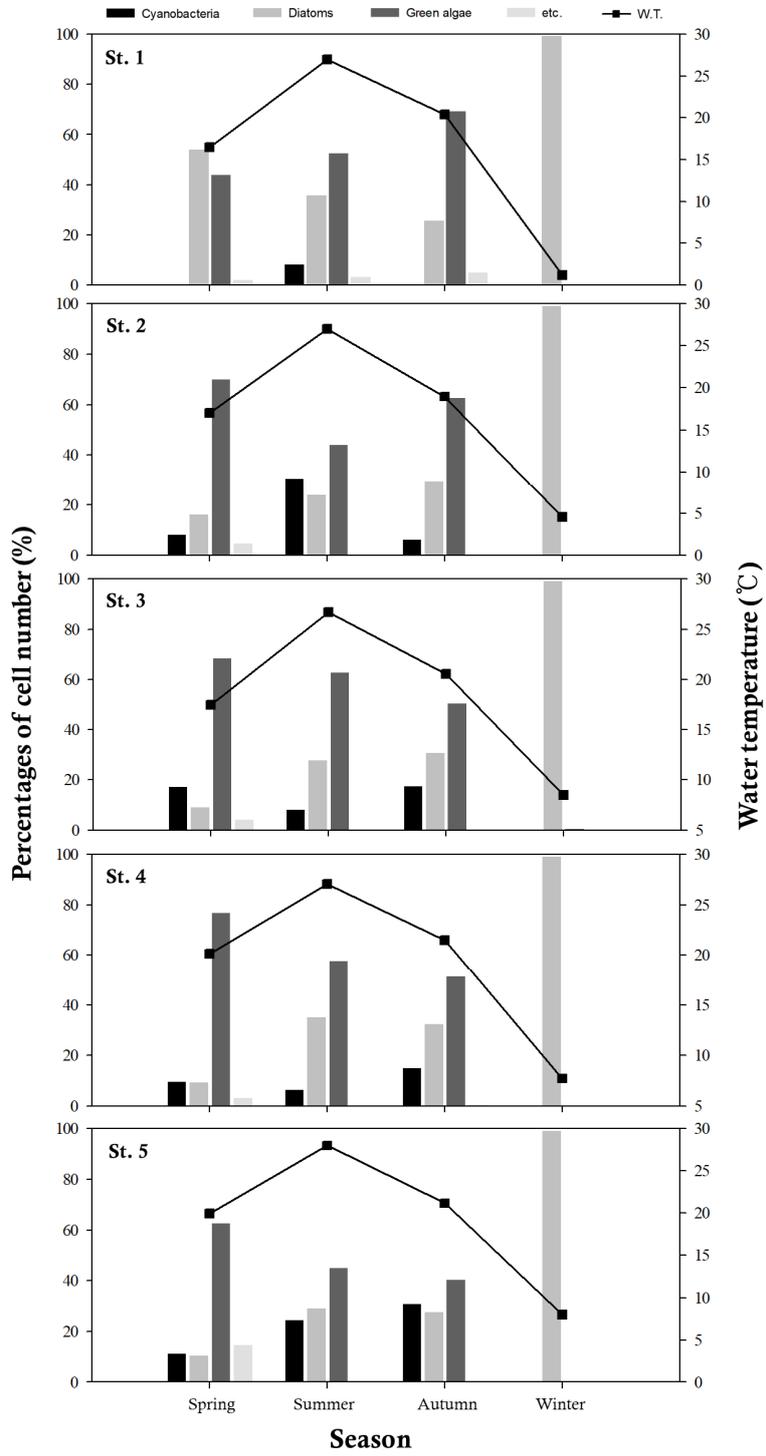


Fig. 2. Relative phytoplankton composition of Yeongsan River for 1 year.

Table 2. Ecological index of sampling sites by season

Season	Site	Diversity	Evenness	Dominance	Season	Site	Diversity	Evenness	Dominance
Spring	1	1.91	0.77	0.21	Autumn	1	2.39	0.88	0.11
	2	1.79	0.78	0.24		2	2.14	0.84	0.16
	3	1.75	0.86	0.21		3	1.93	0.83	0.17
	4	1.93	0.83	0.19		4	2.08	0.81	0.14
	5	1.72	0.74	0.27		5	1.80	0.70	0.17
Summer	1	1.77	0.78	0.24	Winter	1	0.66	0.34	0.68
	2	2.05	0.78	0.17		2	0.68	0.28	0.72
	3	1.96	0.58	0.16		3	0.61	0.36	0.72
	4	2.07	0.79	0.17		4	0.64	0.33	0.70
	5	2.08	0.75	0.18		5	0.71	0.33	0.69

1~1.5 µL, TakaRa Taq polymerase 0.2 µL, 10 x PCR buffer 5 µL, dNTP mixture 4 µL, 각각의 primer 1.0 µM(최종 농도)를 넣은 후 D.W로 총 부피 50 µL로 맞췄다.

mcyB, *cyrJ* PCR 조건은 pre-denaturation 9 5°C, 5 min, denaturation 95°C, 30 sec, annealing 56 ~ 57°C, 30 sec, extension 72°C, 50 sec 3단계를 35회 반복하고 extension 72°C, 8 min으로 진행하였다. *anaC* PCR 조건은 pre-denaturation 95°C, 5 min, denaturation 95°C, 30 sec, annealing 55°C, 30 sec, extension 72°C, 50 sec 3단계를 35회 반복하고 extension 72°C, 8 min으로 수행하였다. 1차 PCR 1 µL를 template로 하여 nested PCR을 진행하였으며 PCR 조건은 pre-denaturation 95°C, 5 min, denaturation 95°C, 30 sec, annealing 56.5°C, 30 sec, extension 72°C, 50 sec 3단계를 35회 반복하고 extension 72°C, 8 min으로 하였다.

PCR 완료 후 전기영동을 통해 각각의 유전자 크기를 확인하였고 유전자 서열 분석을 의뢰하였다(BIONICS, Korea).

2.5. 독소합성유전자 계통발생학적 분석

계통분류학적 분석을 위해 확인된 각각 유전자들의 sequences는 MUSCLE를 이용하여 조정하였고 MEGAX 프로그램으로 유전자별 최적 모델을 탐색하였다. 통계적 방법은 Maximum Likelihood (ML) tree를 이용하였으며 bootstrap replication 수치는 1,000회로 지정하였다.

3. 결과 및 고찰

3.1. 식물플랑크톤의 군집 및 우점도 변화

3.1.1. 식물플랑크톤의 계절별 군집 변화

광주권 내 영산강의 식물플랑크톤의 계절별 군집 변화를 확인하기 위해 각 지점에 따라 남조류, 규조류, 녹조류, 기타 조류로 구분하였다(Fig. 2). 기타 조류는 와편모조류, 유글레나류, 황색편모조류, 갈색편모조류를 포함하고 있다.

현장 평균 수온이 1.2 ~ 8.5°C인 겨울에는 5지점 모두 규조류가 99.4 ~ 99.5%로 극우점하고 있었으며 남조류는 관찰되지 않았다. 지점 1은 봄철에 규조류가 54.1%로 녹조류 43.9%로 규조류의 더 높게 나타났다. 지점 2는 44.3~70.2%, 지점 3은 50.7~68.8%, 지점 4는 51.5~77.2%, 지점 5는 40.6~62.9%로 지점 1을 제외하고 봄부터 가을까지는 모두 녹조류가 우점하였다. 광주 내에 상류인 지점 1(여름 8.2%)에 비해서 하류인 지점 5(봄 11.4%, 여름 24.9%, 가을 31.2%)에서 남조류의 출현 비율과 밀도가 높아지는 경향을 보이거나 녹조류가 우점하고 있다(Fig. 2, Table 3).

식물플랑크톤의 계절별 조류발생 특성을 보면, 겨울에는 규조류가 우점하며 수온이 15~20°C인 봄과 초여름에는 규조류에서 녹조류로 천이가 이루어졌다. 그리고 20°C 이하인 가을에는 녹조류가 우점한다는 것이 NIER(2020)의 결과와 일치하였다.

3.1.2. 식물플랑크톤의 계절별 군집 구조 분석

계절별 군집구조의 파악을 위해서 식물플랑크톤의

Table 3. Seasonal dominant ratio of phytoplankton species at each sampling site in the Yeongsan River (Diatoms, Green algae, Cyanobacteria, etc.)

Site	Season	1	2	3	4	5
		(% , cells/mL)				
St. 1	Spring	<i>Stephanodiscus</i> spp. (40.5, 0 ~ 4,200)	<i>Micractinium</i> spp. (12.0, 0 ~ 2,125)	<i>Scenedesmus</i> spp. (9.0, 100 ~ 1,000)	<i>Aulacoseira</i> spp. (7.6, 50 ~ 1,000)	<i>Pediastrum</i> spp. (6.5, 0 ~ 700)
	Summer	<i>Stephanodiscus</i> spp. (19.1, 200 ~ 850)	<i>Micractinium</i> spp. (17.2, 0 ~ 1,200)	<i>Scenedesmus</i> spp. (13.1, 150 ~ 500)	<i>Pediastrum</i> spp. (9.8, 0 ~ 400)	<i>Aulacoseira</i> spp. (8.5, 0 ~ 475)
	Autumn	<i>Stephanodiscus</i> spp. (13.5, 175 ~ 600)	<i>Micractinium</i> spp. (12.8, 100 ~ 625)	<i>Gloeocystis</i> sp. (12.0, 250 ~ 475)	<i>Aulacoseira</i> spp. (9.5, 150 ~ 400) <i>Dictyosphaerium</i> spp. (9.5, 100 ~ 400)	<i>Scenedesmus</i> spp. (6.5, 150 ~ 350)
	Winter	<i>Stephanodiscus</i> spp. (95.2, 22,000~40,000)	<i>Synedra</i> spp. (3.4, 350 ~ 1,875)	<i>Asterionella</i> sp. (0.4, 125 ~ 125)	<i>Dinobryon</i> sp. (0.3, 0 ~ 225)	<i>Cymbella</i> sp. (0.3, 0 ~ 200)
St. 2	Spring	<i>Actinastrum</i> spp. (14.1, 0 ~ 2,675)	<i>Dictyosphaerium</i> spp. (10.8, 0 ~ 2,250)	<i>Scenedesmus</i> spp. (10.4, 0 ~ 1,100)	<i>Stephanodiscus</i> spp. (9.3, 0 ~ 1,150)	<i>Micractinium</i> spp. (8.9, 0 ~ 1,350)
	Summer	<i>Aulacoseira</i> spp. (13.7, 350 ~ 1,775)	<i>Oscillatoria limosa</i> (13.4, 0 ~ 2,000) <i>Aphanocapsa</i> sp. (13.4, 0 ~ 3,750)	<i>Micractinium</i> spp. (11.1, 200 ~ 1,225)	<i>Actinastrum</i> spp. (10.9, 0 ~ 1,375)	<i>Scenedesmus</i> spp. (6.8, 300 ~ 800)
	Autumn	<i>Micractinium</i> spp. (21.1, 0 ~ 2,500)	<i>Aulacoseira</i> spp. (18.2, 750 ~ 1,350)	<i>Eudorina</i> spp. (7.2, 0 ~ 675)	<i>Actinastrum</i> spp. (6.8, 0 ~ 775)	<i>Dictyosphaerium</i> sp. (6.4, 150 ~ 600)
	Winter	<i>Stephanodiscus</i> spp. (97.5, 875 ~ 70,000)	<i>Synedra</i> spp. (1.0, 25 ~ 1,000)	<i>Aulacoseira</i> sp. (0.3, 50 ~ 300)	<i>Cyclotella</i> sp. (0.3, 0 ~ 375)	<i>Scenedesmus</i> sp. (0.2, 0 ~ 200)
St. 3	Spring	<i>Scenedesmus</i> spp. (16.8, 0 ~ 1,200)	<i>Actinastrum</i> spp. (16.2, 0 ~ 1,925)	<i>Oscillatoria limosa</i> (10.5, 0 ~ 1,250) <i>Dictyosphaerium</i> spp. (10.5, 0 ~ 800)	<i>Micractinium</i> spp. (8.8, 0 ~ 800)	<i>Aphanizomenon flos-aquae</i> (7.4, 0 ~ 875)
	Summer	<i>Micractinium</i> spp. (29.4, 0 ~ 7,125)	<i>Aulacoseira</i> spp. (15.5, 150 ~ 3,800)	<i>Actinastrum</i> spp. (13.4, 0 ~ 3,675)	<i>Oscillatoria limosa</i> (10.1, 0 ~ 2,250)	<i>Stephanodiscus</i> spp. (6.1, 50 ~ 1,000) <i>Scenedesmus</i> spp. (6.1, 100 ~ 900)
	Autumn	<i>Aulacoseira</i> spp. (18.3, 750 ~ 1,325)	<i>Micractinium</i> spp. (9.8, 0 ~ 1,125)	<i>Pediastrum</i> spp. (9.2, 0 ~ 1,250)	<i>Oscillatoria limosa</i> (8.9, 0 ~ 750) <i>Aphanocapsa</i> sp. (8.9, 0 ~ 2,000)	<i>Scenedesmus</i> spp. (8.5, 100 ~ 500)
	Winter	<i>Stephanodiscus</i> spp. (95.9, 375 ~ 20,000)	<i>Synedra</i> spp. (1.6, 75 ~ 375)	<i>Cymbella</i> sp. (0.7, 75 ~ 100)	<i>Cyclotella</i> sp. (0.6, 0 ~ 200) <i>Scenedesmus</i> sp. (0.6, 0 ~ 100)	<i>Asterionella</i> sp. (0.3, 0 ~ 100) <i>Melosira</i> sp. (0.3, 0 ~ 100)
St. 4	Spring	<i>Micractinium</i> spp. (27.7, 0 ~ 3,875)	<i>Pandorina</i> spp. (10.9, 0 ~ 2,800)	<i>Scenedesmus</i> spp. (10.0, 0 ~ 1,750)	<i>Gloeocystis</i> spp. (8.3, 0 ~ 2,125)	<i>Oscillatoria limosa</i> (6.8, 0 ~ 1,750)
	Summer	<i>Aulacoseira</i> spp. (24.3, 2,050 ~ 5,250)	<i>Micractinium</i> spp. (16.6, 0 ~ 4,375)	<i>Actinastrum</i> spp. (10.5, 150 ~ 4,625)	<i>Scenedesmus</i> spp. (9.1, 1,100 ~ 2,000)	<i>Gloeocystis</i> spp. (7.4, 300 ~ 2,575)
	Autumn	<i>Aulacoseira</i> spp. (20.8, 525 ~ 3,325)	<i>Micractinium</i> spp. (12.3, 150 ~ 1,500)	<i>Microcystis aeruginosa</i> (10.3, 0 ~ 1,750)	<i>Scenedesmus</i> spp. (10.2, 500 ~ 1,700)	<i>Stephanodiscus</i> spp. (6.3, 0 ~ 1,475)
	Winter	<i>Stephanodiscus</i> spp. (92.7, 0 ~ 35,000)	<i>Synedra</i> spp. (3.8, 100 ~ 2,125)	<i>Cyclotella</i> spp. (1.1, 0 ~ 725)	<i>Aulacoseira</i> sp. (0.8, 125 ~ 200)	<i>Fragilaria</i> sp. (0.7, 0 ~ 450)
St. 5	Spring	<i>Actinastrum</i> spp. (20.3, 0 ~ 4,000)	<i>Cryptomonas</i> sp. (14.9, 50 ~ 2,475)	<i>Micractinium</i> spp. (10.9, 0 ~ 1,475)	<i>Scenedesmus</i> spp. (10.1, 0 ~ 1,700)	<i>Oscillatoria limosa</i> (8.2, 0 ~ 1,625)
	Summer	<i>Aulacoseira</i> spp. (23.3, 2,900 ~ 6,150)	<i>Merismopedia</i> spp. (15.6, 0 ~ 11,200)	<i>Actinastrum</i> spp. (10.9, 525 ~ 4,675)	<i>Micractinium</i> spp. (10.0, 1,075 ~ 2,875)	<i>Oscillatoria limosa</i> (8.3, 0 ~ 3,500)
	Autumn	<i>Microcystis aeruginosa</i> (25.2, 0 ~ 13,000)	<i>Aulacoseira</i> spp. (21.9, 1,850 ~ 7,050)	<i>Eudorina</i> spp. (16.8, 0 ~ 8,450)	<i>Micractinium</i> spp. (6.2, 400 ~ 1,750)	<i>Pandorina</i> sp. (5.4, 0 ~ 2,300)
	Winter	<i>Stephanodiscus</i> spp. (95.0, 625 ~ 40,000)	<i>Synedra</i> spp. (2.7, 50 ~ 1,775)	<i>Aulacoseira</i> sp. (0.8, 100 ~ 350)	<i>Asterionella</i> spp. (0.7, 0 ~ 500)	<i>Micractinium</i> sp. (0.3, 0 ~ 200)

정량분석 자료에 근거하여 다양성지수, 균등도 및 우점도지수를 산출하여 나타냈다(Table 2.).

봄철 다양성지수는 1.72 ~ 1.93의 분포를 보였다. 지점별 다양성지수의 공간적 변화 폭이 크지 않고 균등도가 0.74 ~ 0.86으로 지점간 균등도 분포의 특이성은 없었다. 여름철 다양성 지수는 1.77 ~ 2.08로 봄에 비해 다소 상승하였다. 지점 1과 지점 3을 제외하고는 2.0을 상회하고 있어서 봄철에 비해 장마 기간인 여름철에 오히려 군집이 다양해져 식물플랑크톤 군집의 안정성을 긍정적으로 추정할 수 있다.

가을철 다양성지수는 1.80 ~ 2.39, 균등도는 0.70 ~ 0.88, 우점도는 0.11 ~ 0.17의 분포를 보였다. 같은 시기에 지점 5에서 다양성이 다소 낮은 이유는 9월 21일 채수 시료에서 *Microcystis aeruginosa*가 높은 개체수(13,000 cells/mL)로 출현한 결과의 의한 것으로 판단된다. 그리고 균등도(0.70)가 높고 우점도(0.17)가 낮지만 *M. aeruginosa*의 우점 현상으로 안정된 수생태 환경이라고 말하기에는 무리가 있다.

겨울의 다양성지수는 0.61 ~ 0.71의 분포로 다른 계절에 비해 낮은 수준으로 나타났다. 겨울의 다양성지수가 낮은 것은 규조류가 우점하는 비율이 99.0% 이상으로 높으며 특히 *Stephanodiscus* spp.의 극우점으로 그 개체수가 겨울 군집의 95% 이상을 차지하기 때문이며 이는 낮은 균등도 값(0.28 ~ 0.36)과 높은 우점도 지수(0.68 ~ 0.72)의 요인으로 작용한 것으로 추정하였다.

3.1.3. 식물플랑크톤의 계절별 우점종

형태학적 관찰을 통해서 관찰된 식물플랑크톤의 조성은 남조류 5 속, 규조류 10 속, 녹조류 22 속, 기타조류로 8 속으로 총 45 속이 출현하였다. 남조류는 *Aphanizomenon*, *Microcystis*, *Oscillatoria*, *Aphanocapsa*, *Merismopedia* 속, 규조류는 *Asterionella*, *Aulacoseira*, *Cyclotella*, *Cymbella*, *Fragilaria*, *Melosira*, *Navicula*, *Stephanodiscus*, *Surirella*, *Synedra* 속, 녹조류는 *Actinastrum*, *Ankistrodesmus*, *Chodatella*, *Closterium*, *Closteiopsis*, *Cosmarium*, *Crucigenia*, *Dictyosphaerium*, *Elakatothrix*, *Eudorina*, *Gloeocystis*, *Golenkinia*, *Gonium*, *Kirchneriella*, *Micractinium*, *Monoraphidium*, *Pandorina*, *Pediastrum*, *Scenedesmus*, *Sphaerocystis*, *Staurastrum*, *Tetrademus* 속, 기타조류로 와편모조류는 *Peridinium*, *Ceratium* 속, 유글레나류 *Euglena*, *Phacus* 속, 황색편모조류 *Dinobryon*,

Mallomonas, *Synura* 속, 갈색편모조류 *Cryptomonas* 속이 관찰되었다.

출현한 식물플랑크톤의 계절별 우점도에서 연중 세포수의 분포를 보면, 규조류 개체수 범위는 0 ~ 70,000 cells/mL, 남조류 개체수는 0 ~ 13,000 cells/mL, 녹조류 개체수는 0 ~ 7,125 cells/mL 기타 조류 개체수는 0 ~ 2,475 cells/mL 범위를 나타냈다 (Table. 3).

모든 지점의 겨울에는 *Stephanodiscus* spp.이 92.7 ~ 97.5%로 높은 우점률을 보이며 세포밀도는 지점 2에서 겨울에 70,000 cells/mL로 식물플랑크톤 중 가장 높은 개체수를 보여주었다. *Stephanodiscus* spp.의 성장 적정 수온은 4 ~ 8°C이며 (Kim et al., 2008), 영양염이 제한되지 않는 환경 요인 충족 시 수온이 3°C인 경우에도 번식이 가능하다(Jeong et al., 2006). 부영양 수계인 영산강의 환경 요인과 1.2 ~ 8.5°C의 낮은 평균 현장 수온(Fig. 2)이 *Stephanodiscus* spp.의 증식에 영향을 미친것이라 판단된다.

수온이 증가하는 봄에는 녹조류인 *Actinastrum* spp.가 지점 2와 지점 5에서 각각 14.1%, 20.3%로 우점하였고 세포수의 최고밀도는 4,000 cells/mL로 나타났으며 *Secnedesmes* spp.는 지점 3에서 16.8%로 최고밀도 1,200 cells/mL로 관찰되었다. *Micractinium* spp.는 지점 3에서 여름에 29.4% (최고밀도 7,125 cells/mL), 지점 4에서 봄에 27.7%로 우점하였다.

일반적으로 수온이 증가하는 시기에 녹조류의 밀도가 증가되는 것과 상반되게 여름(지점 2, 지점 4, 지점 5)과 가을(지점 3, 지점 4)이 겨울에 비해 수온이 높은 시기임에도 불구하고 규조류인 *Aulacoseira* spp.이 우점하고 있었다. *Aulacoseira* spp.이 우점한 지점의 우점률은 여름에 13.7 ~ 24.3%로 지점 5에서 최고밀도인 6,150 cells/mL로 관찰되었으며, 가을 우점률은 18.3 ~ 20.8% 였으며 지점 4에서 3,325 cells/mL의 밀도로 가장 높게 출현하였다. 여름 평균 현장 수온은 27.0 ~ 28.0°C이고 가을 평균 현장 수온이 20.6 ~ 21.5°C로 규조류가 성장하기에는 다소 높은 수온이었다. Van de Vyver et al.(2022)에 따르면 *Aulacoseira* 속은 다른 규조류에 비해 따뜻한 수역에서 주로 번성한다고 보고 하였고, 우리나라에서는 장마철에 수온이 급격히 감소하면서 순간 번식하는 규조류로 알려져있다 (NIER, 2020).

여름부터 가을철에 번성한다고 알려져 있는 남조류는 여름철에 지점 2에서 *Oscillatoria limosa*와

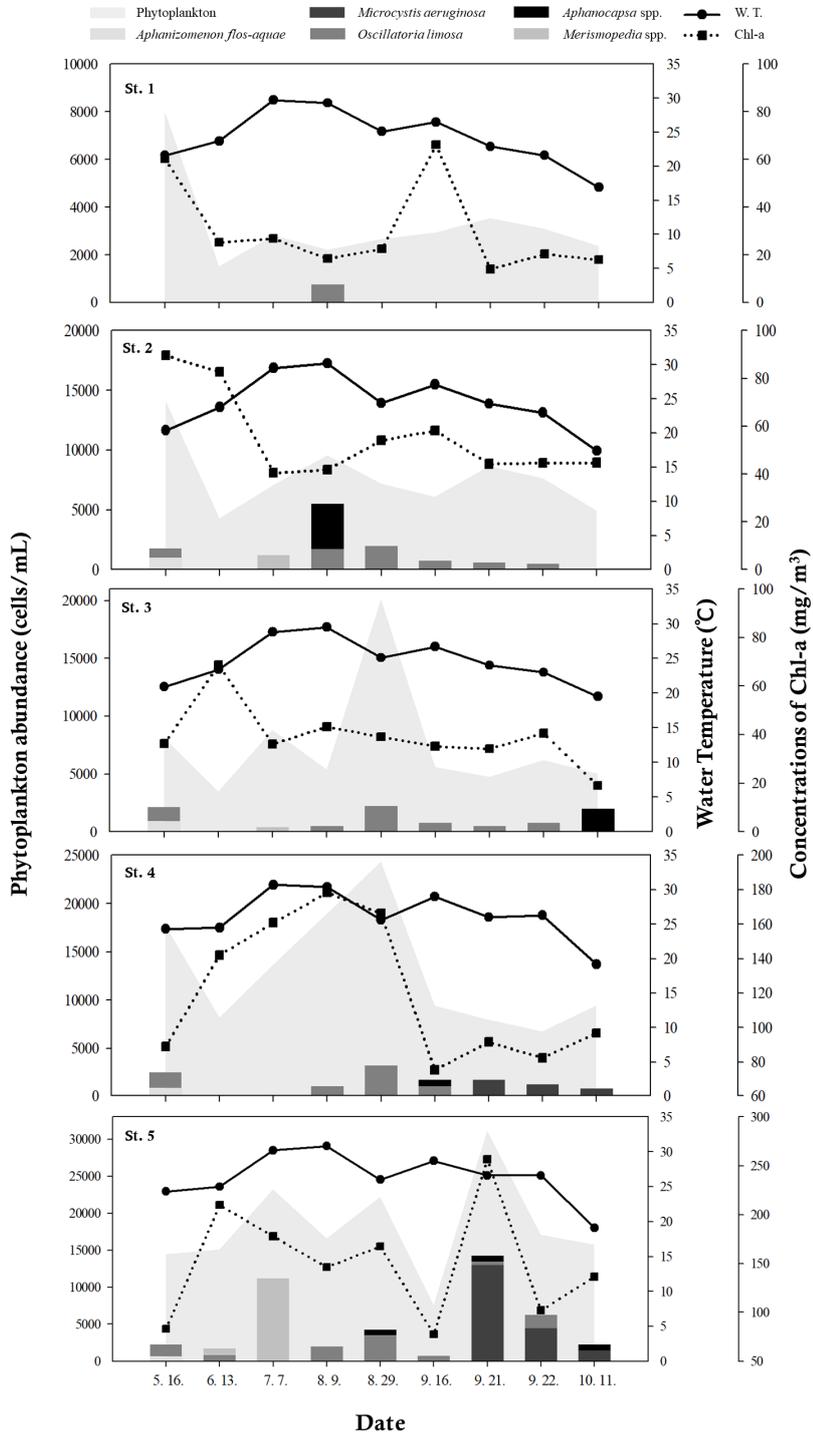


Fig. 3. Variation of harmful cyanobacterial abundance, water temperature and Chl-a (W.T.: water temperature; Chl-a: chlorophyll-a).

Table 4. Detection rate of toxin synthesis genes of harmful cyanobacteria at each site

Site	Target gene	Spring(%)	Summer(%)	Autumn(%)	Winter(%)	Total Rate(%)
St. 1	<i>mcyB</i>	33.3	0.0	80.0	0.0	33.3
	<i>anaC</i>	100.0	75.0	40.0	0.0	53.3
St. 2	<i>mcyB</i>	33.3	100.0	80.0	0.0	60.0
	<i>anaC</i>	100.0	75.0	40.0	0.0	53.3
St. 3	<i>mcyB</i>	33.3	50.0	80.0	0.0	46.7
	<i>anaC</i>	100.0	75.0	20.0	0.0	46.7
St. 4	<i>mcyB</i>	33.3	100.0	80.0	0.0	60.0
	<i>anaC</i>	100.0	75.0	80.0	0.0	66.7
St. 5	<i>mcyB</i>	33.3	100.0	80.0	0.0	60.0
	<i>anaC</i>	100.0	100.0	80.0	0.0	73.3
The total sites	<i>mcyB</i>	33.3	70.0	80.0	0.0	52.0
	<i>anaC</i>	100.0	80.0	52.0	0.0	58.6

Aphanocapsa sp.가 13.4%로 차우점하였다. 지점 5에서 여름에 15.6%로 *Merismopedia* spp.가 차우점하고 있었고 최고밀도는 11,200 cells/mL 이였으며, 가을에는 25.2%(최고밀도 13,000 cells/mL)로 *Microcystis aeruginosa*가 우점하고 있었다. 남조류가 번창하는 여름과 가을에도 녹조류나 규조류가 주로 우점하고 있으며 하단부분인 지점 5에서만 여름에 남조류 *Microcystis aeruginosa*가 우점하고 있었다. 담수 오염 지표종인 *Microcystis aeruginosa*는 광주 권역 내에서 영산강의 하류 부분인 지점 5에서 가을에 1회만 우점하였으나, 남조류가 수화하는 시기에는 그 밀도가 다른 남조류에 비해서 높기에 지속적인 거동 파악이 필요해 보인다.

3.2. 남조류의 출현 양상

식물플랑크톤의 분류를 위한 세포계수를 통해 남조류가 관찰되기 시작한 시점인 5월부터 마지막 관찰 시점인 10월까지 남조류의 출현 양상을 각 지점별로 비교하였다(Fig. 3).

*Oscillatoria limosa*는 5월부터 10월까지 전반적으로 출현하였고 지점 1에서는 1 회(8월 9일), 750 cells/mL의 밀도로 관찰되었다.

영산강 수계에서 장마 이전에 주로 나타나는 종인 *Aphanizomenon flos-aquae*(Kang et al., 2020)은 5월 16일에만 관찰된 종으로 지점 2에서 지점 5까지 모두 출현하였으며 지점 2에서 1,000 cells/mL의 밀도로

가장 높게 관찰되었다.

Merismopedia 속의 개체수는 6월 13일 지점 5에서 800 cells/mL, 7월 7일 지점 2에서 1,200 cells/mL, 지점 3에서 400 cells/mL, 지점 5에서 11,200 cells/mL로 관찰되었고 현장 수온은 25.0 ~ 30.2°C였다. 6월과 7월에 *Merismopedia* 속이 출현한 것은 성장 적정 수온(20 ~ 30°C)과 6월의 적은 강수량(0.9mm)으로 인한 체류시간의 증가로 인한 것으로 판단된다(Han, 2021).

8월부터 10월까지 작은 세포로 군체나 사상체를 이루는 일반 남조류인 *Aphanocapsa* 속이 출현하였으며 *Microcystis aeruginosa*가 출현하기 시작하는 9월 21일에 지점 4에서 1,750 cells/mL(26.0°C), 지점 5에서는 13,000 cells/mL(26.6°C)의 밀도로 각 지점별 최고치를 보였으며 그 이후 점차 감소하는 양상을 보였다. *Microcystis aeruginosa*가 성장하기 적절한 조건인 수온 25°C 이상과 9월 12일 강우로 인한 인플립 현상으로 영산강의 충분한 인이 공급되어 9월 21일에 수화현상이 발생한 것으로 판단된다(Han, 2021).

클로로필-a의 농도 범위는 지점 1에서 14.0 ~ 66.2 mg/m³, 지점 2는 40.5 ~ 89.6 mg/m³, 지점 3은 19.0 ~ 68.7 mg/m³, 지점 4는 75.4 ~ 178.3 mg/m³, 지점 5는 77.5 ~ 256.5 mg/m³였으며, 지점 1 ~ 지점 3의 클로로필-a의 평균은 30.2 ~ 55.6 mg/m³로 큰 차이를 보이지 않았으나, 지점 4는 120.3 mg/m³, 지점 5는 150.8 mg/m³로 하류로 갈수록 농도가 높아졌다. 클로로필-a 농도

와 식물플랑크톤의 밀도가 양의 관계를 나타냈다 ($r=0.74$; $P<0.001$). 영산강 하류로 갈수록 높아지는 식물플랑크톤의 밀도가 클로로필-a의 농도에 영향을 준 것으로 보여진다.

3.3. 독소합성 유전자 분석

3.3.1. 영산강 독소합성유전자 검출률

남조류의 독소합성유전자를 확인한 결과, 검출된 유전자는 *mcyB*와 *anaC* 2종류가 검출되었으며 계절과 지점에 따라 검출률의 변화를 확인하였다(Table 4).

mcyB 유전자는 5월부터 10월에, *anaC* 유전자는 3월부터 10월에 걸쳐 검출되었으며 겨울에는 두 유전자 모두 검출되지 않았다.

mcyB 유전자는 봄에 전 지점에서 33.3%, 여름에 지점 1은 0.0%, 그 외 지점은 100%의 검출률을 보였으며 가을에는 모든 지점에서 80.0%로 검출되었다. *anaC* 유전자는 봄에는 모든 지점에서 100.0% 검출률을 보이고 있으며 여름에는 지점 1 ~ 지점 4에서는 75.0%, 지점 5에서는 100.0%의 검출률을 보였고 가을에는 20.0 ~ 80.0%로 검출되었다. 지점 1을 제외한 모든 지점에서 봄에 비해 여름과 가을에 남조류 독소 유전자 *mcyB*와 *anaC*의 검출률이 증가한 경향을 확인 할 수 있었다.

지점 1에서부터 하류로 갈수록 *mcyB*는 33.3%에서 60.0%로 증가하였고 *anaC*는 53.3%에서 73.3%로 모두 검출률이 점점 증가하는 양상을 보이나 지점 3에서만 검출률이 감소하였다. 지점 3은 광주광역시 영산강의 분류 유량을 확보하기 위해 유지용수로 이용되는 제1 하수처리장의 방류수가 유입이 되는 광주천 합류 지점으로 이로 인해 분류가 희석되었기 때문으로 판단된다(Lee, 2018).

*mcyB*와 *anaC*의 지점 통합 계절별 검출률을 보면 *mcyB*는 봄에는 33.3%, 여름은 70.0%, 가을에는 80.0%로 점점 증가한 반면 *anaC*는 봄에는 100.0%, 여름에는 80.0%, 가을에는 52.0%로 점점 감소하였다. 이는 microcystin을 생성한다고 알려진 *Microcystis aeruginosa* (Fig. 3)가 가을에 높은 밀도로 출현하였기 때문으로 추정된다.

3.3.2. *mcyB*와 *anaC*의 계통발생학적 분석

검출된 *mcyB*와 *anaC* 유전자의 지역 및 시간의 계통발생학적 특이성을 분석하기 위해 MEGA 프로그램

을 이용하여 계통수를 작성한 결과, *mcyB* 유전자는 지점별·계절별 특이성 나타나지 않았다. *mcyB*는 MC biosynthesis gene cluster 내에서 변화가 많고 돌연변이 비율이 높은 부분으로 공간 및 시간의 특이성을 찾아 볼수 없었고(Kurmayer et al., 2002; Mikalsen et al., 2003), *mcyB* 유전자는 염기서열에 다양한 변이가 있어서 지역적, 시간적 분포 특성이 나타나지 않았다(Yoon et al., 2020)는 연구결과와 일치한다.

anaC 유전자의 계통수 작성을 한 조건은 sequences 320 bp, bootstrap values 1,000회, Kimura 2-parameter model에 기본을 둔 Maximum Likelihood (ML) method를 이용하였다. 시료에서 PCR로 검출된 15개의 *anaC* 유전자의 sequences와 GenBank에 등록된 17개의 다른 *anaC* sequences를 포함하여 계통수를 작성하였다(Fig. 4). 시료에서 PCR로 검출된 15개의 *anaC* 유전자 sequences는 3월, 6월, 9월에 각 지점에서 검출된 유전자 염기서열이며, 17개의 다른 *anaC* 유전자의 sequences는 *Cuspidothrix issatschenkoii* (KM245024.1, LT984882.1, KM245025.1, KM245023.1), Uncultured cyanobacterium (KP036898.1, KX096808.1, KX096813.1, KT246302.1), *Aphanizomenon* sp. (JF803655.1), *Anabaena* sp. (JF803646.1, JF803645.1), *Anabaena circinalis* (JF803647.1), *Oscillatoria* sp. (FJ477836.2, JF803648.1, JF803654.1, JF803654.1, JF803652.1)을 포함하고 있다. Group 1은 6월 5개의 *anaC* sequences와 9월의 4개 *anaC* sequences를 포함하고 있으며 group 2는 3월의 5개 *anaC* sequences를 포함하여 계절별로 cluter를 형성하였다. group 2의 평균 현장 수온은 14.9°C였으며, group 1은 24.5°C로 두 group 간의 수온 차이가 약 9.6°C였다.

또한 group 1에는 *Cuspidothrix issatschenkoii* (KM245024.1, LT984882.1, KM245025.1, KM245023.1), Uncultured cyanobacterium (KP036898.1, KX096808.1, KX096813.1), *Aphanizomenon* sp. (JF803655.1)이 포함되어 있다. 국내 유해남조류로 지정되어 있는 *Aphanizomenon* sp.와 부영양화된 온대 수역에서 발견되는 *Cuspidothrix issatschenkoii*는 anatoxin-a 독소 생성성이 가능하다 알려져 있다(Hodoki et al., 2012; Chernova et al., 2016; Ballot et al., 2018). 이는 group 1에 속해 있는 9개의 *anaC* 유전자가 독소 생성 가능성을 시사하고 있다.

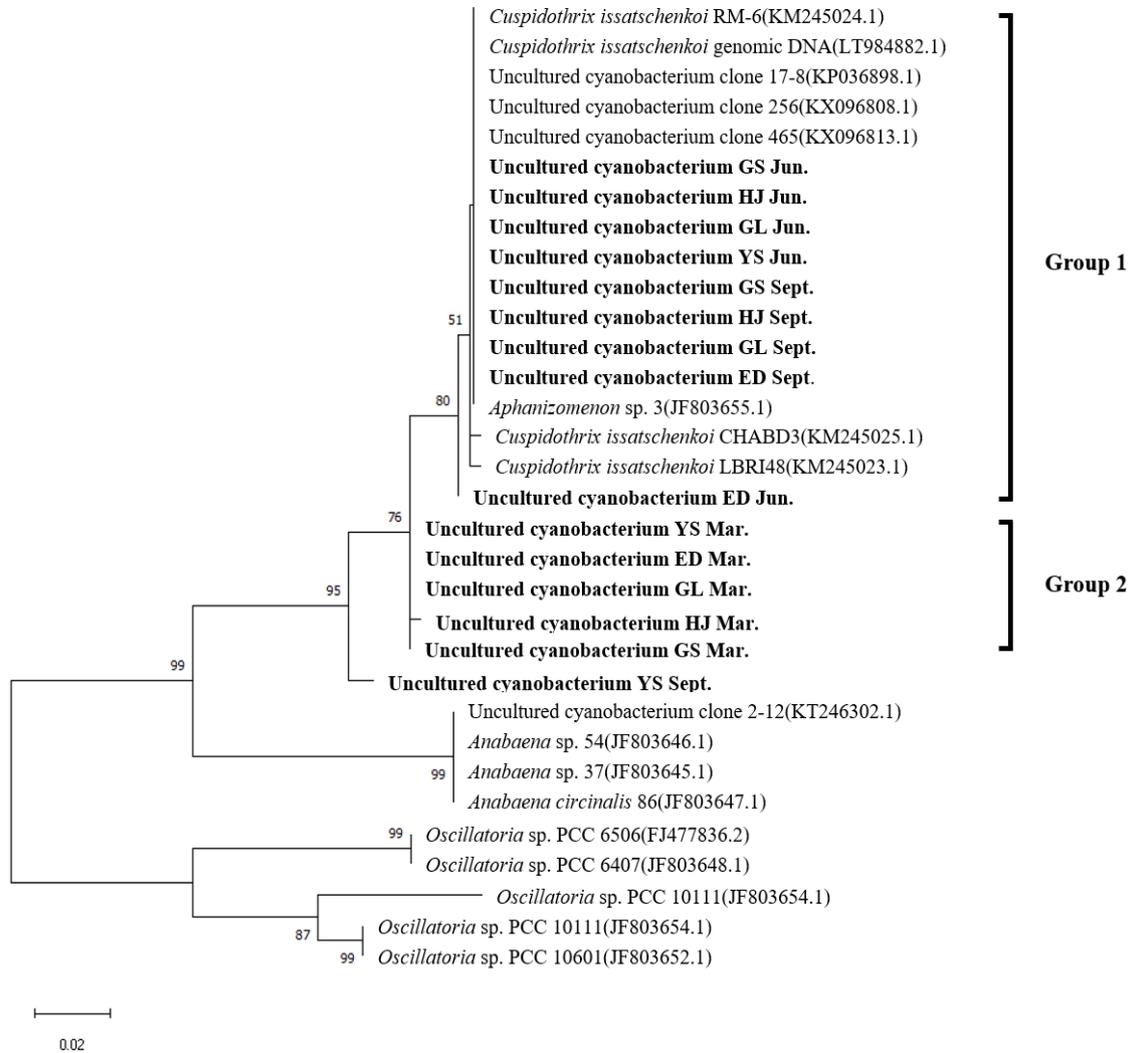


Fig. 4. Unrooted phylogenetic tree of partial antoxin-a synthetase *C(anaC)* gene sequence(320bp). Phylogenetic analyses were conducted in MEGA using the Maximum Likelihood(ML) method based on the Kimura 2-parameter model. Bootstrap values from 1,000 replicates are shown at the nodes. The scale bar represents 0.02 substitutions/site. The bold fonts represent the name of samples.

4. 결론

본 연구는 광주지역 영산강 내의 식물플랑크톤의 계절별 변동 특성과 남조류 독소합성유전자의 계통발생학적 특성을 연구하였다. 이를 통해 식물플랑크톤의 생태적 거동을 파악하고 영산강 남조류의 잠재적 독소를 예측하여 녹조 대응을 위한 기초자료에 기여하고자 하며 주요 연구 결과는 다음과 같다.

- (1) 영산강 지점 1 ~ 지점 5까지 계절별 식물플랑크톤의 군집구조 변화 확인 결과, 조류는 계절별로 종천이가 이루어졌다. 겨울에는 규조류가 99.4 ~ 99.5%의 극우점을 하고 있으며 수온이 15~20°C 인 봄과 초여름에는 규조류에서 녹조류로 천이가 이루어졌다.
- (2) 계절에 따른 지점별 식물플랑크톤의 우점종을 확인한 결과, 겨울에는 경쟁력이 높은 규조류

Stephanodiscus 속이 92.7 ~ 97.5%로 모든 지점에서 우점하고 있었으며, 수온이 증가하는 봄부터는 녹조류인 *Actinastrum* spp., *Secnedesmes* spp., *Micractinium* spp. 가 우점하였다. 주로 따뜻한 수온에서 성장하는 규조류 *Aulacoseira* spp. 는 여름 (지점 2, 지점 4, 지점 5)에서 평균 수온은 27.0 ~ 28.0°C, 가을 (지점 3, 지점 4)에서 평균 수온 20.6 ~ 21.5°C에서도 관찰되었으며 유해남조류 *Microcystis aeruginosa*가 우점하는 경우는 가을철 지점 5에서만 25.2% (0 ~ 13,000 cells/mL)로 우점하였다.

- (3) 남조류가 관찰되기 시작한 시점인 5월부터 10월까지 남조류의 출현 양상을 각 지점별로 확인한 결과, *Oscillatoria limosa*는 전반적으로 출현하였으며 장마 이전인 5월에는 *Aphanizomenon flos-aquae*가 관찰되었다. 6월과 7월에는 *Merismopedia* 속이 출현한 것은 성장하기 적절한 수온 (20 ~ 30°C)과 체류시간의 증가로 인한 것으로 판단되며, 6월 13일 지점 5에서 800 cells/mL (25.0°C), 7월 7일 지점 2에서 최대치인 1,200 cells/mL (29.5°C)로 출현하였다. 25°C 이상 되는 현장 수온과 인플립 현상으로 *Microcystis aeruginosa*가 지점 5에서는 최고 밀도 13,000 cells/mL (26.6°C)로 성장하도록 도왔다.
- (4) 검출된 독소생합성유전자는 *mcyB*와 *anaC* 2종류가 검출되었으며, *mcyB*는 봄에는 33.3%에서 가을에는 80.0%로 점점 증가한 반면, *anaC*는 봄에는 100.0%에서 가을에는 52.0%로 점점 감소하는 양상을 보였다. 이는 MC를 주로 생산한다고 알려져 있는 *Microcystis aeruginosa*가 가을에 최고밀도인 13,000 cells/mL로 출현하였기 때문으로 추정하였다.
- (5) 분자생물학적 방법을 통한 계통발생학적 분석을 보면, *mcyB* 유전자는 MC biosynthesis gene cluster 중에서도 돌연변이가 많은 부분으로 지점 및 계절별 특이성을 확인하지 못하였으나 *anaC*는 3월의 5지점이 포함되어 있는 group 2와 6월/9월의 9지점이 group 1로 각각의 cluster를 형성하였다. *anaC* 유전자는 봄에는 검출률이 높고 가을로 갈수록 검출률이 낮아졌지만 3월에 비해서 수온이 높은 시기에 검출된 group 1의 유전자가 anatoxin-a 생성이 가능하다고 알려져있는 *Aphanizomenon* sp.,

*Cuspidothrix issatschenko*와 한 cluster를 형성하고 있었다. 이는 영산강 수계에서 여름과 가을에 anatoxin 독소 농도의 검출 실험이 필요한 것으로 판단된다.

감사의 글

본 연구는 2022년 환경부 “환경분야 시험검사의 국제적 적합성 기반구축사업”과 광주광역시보건환경연구원 “연구지원 및 역량강화” 사업의 지원으로 수행하였습니다.

REFERENCES

- Al-Tebrineh, J., Pearson, L. A., Yasar, S. A., Neilan, B. A., 2012, A Multiplex qPCR targeting hepato- and neurotoxic cyanobacteria of global significance, *Harmful Algae*, 15, 19-25.
- Ballot, A., Scherer, P. I., Wood, S. A., 2018, Variability in the anatoxin gene clusters of *Cuspidothrix issatschenko* from Germany, New Zealand, China and Japan, *PLoS ONE*, 13, 1-13.
- Bourke, A. T. C., Hawes, R. B., Neilson, A., Stallman, N. D., 1983, An Outbreak of hepato-enteritis (the Palm Island mystery disease) possibly caused by algal intoxication, *Toxicon*, 21, 45-48.
- Chen, J., Song, L., Dai, J., Gan, N., Liu, Z., 2004, Effects of microcystins on the growth and the activity of superoxide dismutase and peroxidase of rape (*Brassica napus* L.) and rice (*Oryza sativa* L.), *Toxicon*, 43, 393-400.
- Chen, J., Zhang, H. Q., Hu, L. B., Shi, Z. Q., 2013, Microcystin-LR-induced phytotoxicity in rice crown root is associated with the cross-talk between auxin and nitric oxide, *Chemosphere*, 93, 283-293.
- Chernova, E., Russkikh, I., Voyakina, E., Zhakovskaya, Z., 2016, Occurrence of microcystins and anatoxin-a in eutrophic lakes of Saint Petersburg, Northwestern Russia, *Oceanol. Hydrobiol. Stud.*, 45, 466-484.
- Chorus, I., Bartram, J., 2021, Toxic cyanobacteria in water: A guide to their public health consequences, monitoring and management, 2nd, Chorus, I., Welker, M.(eds.), CRC Press., London, 163-170.
- Codd, G., Bell, S., Kaya, K., Ward, C., Beattie, K., Metcalf, J., 1999, Cyanobacterial toxins, exposure routes and human health, *Eur. J. Phycol.*, 34, 405-415.
- de Figueiredo, D. R., Azeiteiro, U. M., Esteves, S. M.,

- Gonçalves, F. J., Pereira, M. J., 2004, Microcystin-producing blooms--a serious global public health issue, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, 59, 151-163.
- Dittmann, E., Christiansen, G., Börner, T., Neilan, B. A., Fastner, J., Rippka, R., 1999, Peptide synthetase genes occur in various species of cyanobacteria, In: Peschek, G. A., Löffelhardt, W., Schmetterer, G. (eds.), *The Phototrophic Prokaryotes*, Springer, Boston, 615-621.
- Elnifro, E. M., Ashshi, A. M., Cooper, R. J., Klapper, P. E., 2000, Multiplex PCR: Optimization and application in diagnostic virology, *Clin. Microbiol. Rev.*, 13, 559-570.
- Han, M. S., 2021, Intensive monitoring on the regional distribution of phytoplankton in the weir areas (iv), NIER-SP2021-298, Future Ecology Corp., Marine Environment Research Institute Corp., KRIBB, KSEIE, NIER, Incheon, Korea.
- Hodoki, Y., Ohbayashi, K., Kobayashi, Y., Okuda, N., Nakano, S., 2012, Detection and identification of potentially toxic cyanobacteria: Ubiquitous distribution of *Microcystis aeruginosa* and *Cuspidothrix issatschenkoii* in Japanese lakes, *Harmful Algae*, 16, 49-57.
- Humbert, J. F., 2017, Handbook of cyanobacterial monitoring and cyanotoxin analysis-molecular tools for the detection of toxigenic cyanobacteria in natural ecosystems, in: Meriluoto, J., Spoof, L., Codd, G. A. (eds), John Wiley & Sons, Ltd, U.S.A., 280-283.
- Humbert, J. F., Quiblier, C., Gugger, M., 2010, Molecular approaches for monitoring potentially toxic marine and freshwater phytoplankton species, *Anal. Bioanal. Chem.*, 397, 1723-1732.
- Hummel, H., Fortuin, A. W., Bogaards, R. H., Meijboom, A., de Wolf, L., 1994, The effects of prolonged emersion and submersion by tidal manipulation on marine macrobenthos, *Hydrobiology*, 282, 219-234.
- Jeon, B., Han, J., Kim, S. K., Ahn, J. H., Oh, H. C., Park, H. D., 2015, An Overview of problems cyanotoxins produced by cyanobacteria and the solutions thereby, *J. Korean Soc. Environ. Eng.*, 37, 657-667.
- Jeong, B., Kim, Y., Jung, S. W., Lee, H., Shin, Y., 2014, Temporal variation and identification of a centric diatom, *Stephanodiscus* spp. during winter-spring blooms in the Yeongsan River, *J. Ecol. Environ.*, 47, 273-281.
- Jeong, K. S., Recknagel, F., Joo, G. J., 2006, Prediction and elucidation of population dynamics of the blue-green algae *Microcystis aeruginosa* and the diatom *Stephanodiscus hantzschii* in the Nakdong River-Reservoir system (South Korea) by a recurrent artificial neural network, In: Recknagel, F. (eds), *Ecological Informatics*, Springer, Berlin, Heidelberg, 255-278.
- Kang, Y. H., Park, S. S., Lee, J. Y., Yoon, S. A., Shin, Y. N., Lim, B. J., 2020, A Study on the characteristics of algae blooms in rivers and reservoirs of Korea (iii), NIER-RP2020-292, Algae ecology research team, NIER, Incheon, Korea.
- Kim, M. C., La, G. H., Kim, H. W., Jeong, K. S., Kim, D. K., Joo, G. J., 2008, The effect of water temperature on proliferation of *Stephanodiscus* sp. in vitro from the Nakdong River, South Korea, *Korean J. Limnol.*, 41, 26-33.
- Kurmayer, R., Dittmann, E., Fastner, J., Chorus, I., 2002, Diversity of microcystin genes within a population of the toxic cyanobacterium *Microcystis* spp. in Lake Wannsee (Berlin, Germany), *Microb. Ecol.*, 43, 107-118.
- Lee, J. H., 2020, Optimization and application of multiplex PCR method to detect genes involved in cyanotoxin synthesis, M. S. Thesis, Chungbuk National University, Cheongju, Korea.
- Lee, Y. Y., 2018, Yeongsangang river and Seomjingang river water management committee, final report of survey research to establish comprehensive water quality improvement measure on the Yeongsangang river, 11-1480356-000108-01, Chonnam National University Industry-Academic Cooperation Foundation, Gwangju, Korea.
- Legrand, B., Lesobre, J., Colombet, J., Latour, D., Sabart, M., 2016, Molecular tools to detect anatoxin-a genes in aquatic ecosystems: Toward a new nested PCR-based method, *Harmful Algae*, 58, 16-22.
- Machado, J., Campos, A., Vasconcelos, V., Freitas, M., 2017, Effects of microcystin-LR and cylindrospermopsin on plant-soil systems: A review of their relevance for agricultural plant quality and public health, *Environ. Res.*, 153, 191-204.
- Meißner, K., Dittmann, E., Börner, T., 1996, Toxic and non-toxic strains of the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* contain sequences homologous to peptide synthetase genes, *FEMS Microbiology Letters*, 135, 295-303.
- Mihali, T. K., Kellmann, R., Muenchhoff, J., Barrow, K. D., Neilan, B. A., 2008, Characterization of the gene cluster responsible for cylindrospermopsin biosynthesis, *Appl. Environ. Microbiol.*, 74, 716-722.
- Mikalsen, B., Boison, G., Skulberg, O. M., Fastner, J., Davies, W., Gabrielsen, T. M., Rudi, K., Jakobsen,

- K. S., 2003, Natural variation in the microcystin synthetase operon *mcyABC* and impact on microcystin production in *Microcystis* strains, *J. Bacteriol.*, 185, 2774-2785.
- NIER, 2020, Manual for operation of algae bloom warning system, NIER-GP2020-019, Incheon Korea.
- Reynolds, C. S., 1984, The ecology of freshwater phytoplankton, 1st, Cambridge University Press, England, 112-120.
- Van de Vyver, E., Pinseel, E., Verleyen, E., Vanormelingen, P., Van Wichelen, J., Rixt de Jong, Urrutia, R., Vyverman, W., 2022, Planktonic diatom communities in temperate South-Central Chilean lakes with a focus on *Asterionella formosa* and the genus *Aulacoseira*, *J. Paleolimnol.*, 68, 279-296.
- Yoon, M. R., Jeong, J. Y., Oh, S. E., Park, J. S., Shim, K. S., Han, S. H., Byun, J. H., Kim, T. H., Oh, J. G., 2020, Diversity and community characteristics of phytoplankton in reservoirs in Gyeonggi-do, The Report of Gyeonggi Province Institute of Health and Environment, 33, Suwon, Korea, 313-320.

-
- Researcher. Ha-Ram Kim
Department of Environmental Research, Health & Environment Research Institute of Gwangju, Gwangju 61954 Korea
khr0821@korea.kr
 - Researcher. Gwang-Woon Cho
Department of Environmental Research, Health & Environment Research Institute of Gwangju, Gwangju 61954 Korea
chodaebak@korea.kr
 - Researcher. Gyeong-Rok Son
Department of Environmental Research, Health & Environment Research Institute of Gwangju, Gwangju 61954 Korea
greens24@korea.kr

-
- Researcher. Dong Jang
Department of Environmental Research, Health & Environment Research Institute of Gwangju, Gwangju 61954 Korea
dongjang88@korea.kr
 - Head. Gwang-Yeob Seo
Department of Environmental Research, Health & Environment Research Institute of Gwangju, Gwangju 61954 Korea
sky521@korea.kr
 - Chief. Yun-Hee Kim
Department of Environmental Research, Health & Environment Research Institute of Gwangju, Gwangju 61954 Korea
kyh7513@korea.kr