

Cyanobacteria의 분해에 따른 Microcystins의 변화

최 일 환* · 신 재 기 · 임 성 아

(한국수자원공사 수자원연구소, 대전 305-390)

Degradation of Microcystins during the Decomposition Process of Cyanobacterial Cells
Choi, Ilhwan,* Jae-Ki Shin and Seong-A Yim (Environmental Research Team, Water Resources Research Institute, Korea Water Resources Corporation, Daejeon 305-390, Korea)

The decomposition processes of *Microcystis aeruginosa* under the light and dark conditions were investigated in relation to the change of microcystins, physicochemical and biological factors. Cyanobacterial cells from upper stream of Lake Dae-chong were collected and incubated in the matrix of raw water under the light and dark conditions without additional nutrients. The decomposition of *Microcystis* cells started from beginning of the experiment and most of the cells were decomposed on 12th day. Under the light condition the concentration of toxins in filtrate fraction was increased with the increase of viscosity as the decomposition of algal cells proceed whereas no significant change was observed under the dark condition. Microcystin-RR was most labile toxin than the other two microcystins because it was identified mainly in lyophilized cells but detected at trace level in the filtrate fraction.

Key words : Decomposition, Cyanobacteria, *Microcystis aeruginosa*, Viscosity, Microcystins

서 론

인간활동의 증가에 의한 인위적 부영양화는 호소내 수화현상을 가속화시키고 있고, 수화현상으로 독성을 가진 조류종의 출현은 이들 호소수를 식수원으로 사용하는 인간 및 동식물의 건강을 크게 위협하는 인자로 작용하고있다. 담수에서 발생하는 독성조류는 남조류가 주종을 이루고 있으며, 주로 microcystins, nodularins와 같은 간 독소와 anatoxin-a, anatoxin-a(s)와 같은 신경독소를 생산한다. Nodularins는 *Nodularia*에 의하여 생성되는 독소로서 전세계적으로 특정지역에만 분포하는 것으로 알려지고 있으며(최 등, 1997) 현재까지 우리나라에서 검출된 보고는 없다. Microcystins는 남조류에서 생성되는 대표적인 간 독소로서 주로 *Microcystis*, *Oscil-*

latoria, *Anabaena*에 의하여 생성되며, 독성은 microcystin-LR의 경우 LD₅₀이 약 50 µg/kg으로서 그 독성이 매우 강하다(Falconer, 1983; Yu, 1994). Microcystins는 protein phosphatase의 작용을 저해하여 간내 글리코젠을 고갈시키며 간 기능 장애를 유발하여 간암을 일으키는 것으로 알려져 있다(Falconer *et al.*, 1996). Microcystin의 화학적 구조는 Botes(1984, 1985) 등에 의해 처음으로 밝혀졌으며(Cyanoginocin-LR, -YR, -YA, -YM, -LA), 5개의 일반 아미노산을 공통으로 한 기본 골격에 2개의 L-amino acids의 조합과 dehydroalanine이나 aspartic acid의 methyl기 유무에 따라 현재까지 약 70종류가 분류되어 있다(Watanabe, 1993). Microcystin의 전체구조는 고리 형태를 이룬다는 공통점을 갖고 있는데 독성은 주로 Adda의 입체구조 및 고리구조에 따라 결정된다(Dahlem, 1989).

* Corresponding author: Tel: 042-860-0352, Fax: 042-860-0312, E-mail: ihchoi@kowaco.or.kr

담의 저수를 식수로 사용하는 경우 자연환경에 존재하는 독소의 생성과 소멸을 이해한다는 것은 중요한 일이다. 독소의 생성은 같은 조류종에서도 종류에 따라 큰 차이를 보이며 지점별 혹은 같은 수화 지역 내에서도 차이를 보인다(Hrudey *et al.*, 1994; Ressom *et al.*, 1994). Watanabe and Oishi (1983)는 *Microcystis aeruginosa*를 배양하여 독소의 생성에 대하여 조사한 결과 exponential과 stationary growth phase 사이에서 독성농도가 최대임을 관찰하였다. Microcystin을 분해하는 인자에 대하여 Harada (1998)는 1) 희석, 2) 흡착, 3) 온도와 pH, 4) 광분해 및 5) 미생물분해 등 다섯 가지의 가능성에 대하여 조사를 하였다. 희석의 경우 수체에 용해되어 검출되는 농도는 세포농도의 약 5%라고 추정하고 있으며, 흡착의 경우 1 ml의 퇴적물에 13~24 µg의 microcystin이 흡착된 보고가 있다(Rapala *et al.*, 1994). 온도와 pH에 의한 영향은 25~30°C, pH 9~10의 조건하에서 microcystin-LR의 반감기가 약 10주 정도로 다른 인자들에 비하여 미미하다고 하였다(Harada, 1998). 형광등과 자연광에 의한 광분해 조사에서 microcystin-LR에 특별한 변화가 없는 것으로 나타났으나 색소 존재시 분해가 촉진되는 것으로 조사되었다. Microcystin과 alkaloid 독소는 자연수에서 미생물이나 분해효소에 의해 분해되며, 호소수와 같은 자연수에 존재하는 microcystin-LR의 경우 3~7일의 반감기를 갖고 생분해되는 것으로 보고되었다(Kenefick, 1993; James, 1994; Codd and Bell, 1996; Cousins *et al.*, 1996). 식수원에 생긴 수화현상을 제거하는 방안으로는 황산동을 사용하는 화학적 처리법이 일반적인 방법으로 알려져 있다. 그러나 황산동을 사용하면 microcystins가 세포 밖으로 더 빠르게 배출되며, 완전히 제거되기까지 대략 3주간의 시간이 소요되는 것으로 알려졌다(Kenefick, 1993; Jones and Orr, 1994). 이는 황산동이 독소를 분해할 수 있는 능력이 있는 미생물에 쇼크를 주거나 microcystins 분해효소의 작용을 저해하기 때문에 분해 제거에 더 많은 시간이 소요되는 것으로 알려졌다(Kenefick, 1993; Heresztyn *et al.*, 1997). Bourne (1996)은 microcystin-LR을 분해하는 박테리아를 분리하였고 이들에 의한 분해산물의 구조를 밝혀내어 자연계에 존재하는 microcystins의 분해에는 미생물이 가장 큰 역할을 한다고 보고하였다.

수화가 발생한 원수에서 시료를 채취하여 실내에 방치하면 이취미와 함께 점성물질이 증가함을 볼 수 있으며 스킴을 채취하면 점성물질의 증가를 더욱 쉽게 관찰할 수 있으나 이들 점성물질의 생성과 세포 및 독소의 분해작용에 관한 연구보고는 거의 없는 실정이다. 본 조

사에서는 전세계적으로 가장 많이 분포하는 남조류인 *Microcystis aeruginosa* 중 자연수에서 채집된 시료를 대상으로 배양상태에 따른 점성물질의 생성과 독성의 관련성을 파악하고 세포에서 수체로 용출되는 microcystins의 양을 정량하여 담저수지에서 microcystins의 배출 및 분해 양상을 규명함으로써 담저수지 원수에서 남조류 독소에 의한 오염정도와 지속성을 설명하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 조류배양

조류배양을 위한 시료는 금강의 중류에 위치한 지류인 옥천천 하류에서 남조 *Microcystis*가 포층에 스킴을 형성한 시기('99년 8월 31일)에 채집하였다. 현장에서 조류를 채집할 때, 수온, DO, pH 및 전도도를 측정하였다. 배양 시료는 조류 이외 다른 부유물질을 제거하기 위해 네트(망목크기 60 µm)로 1차 걸렀고, 2개의 수조(50 cm × 40 cm × 25 cm)에 동일한 양으로 나누어 담았다. N·P 등 영양염의 첨가는 없었고, light와 dark의 두 조건으로 27일 동안 실내 배양기에서 배양하였으며, 각종 분석을 위한 시료는 1~3일 간격으로 균일하게 2 L씩 채취하였다(Fig. 1). 배양 온도는 28 ± 1°C, 광은 250 µmol/m²/s였고, 12시간 간격으로 15분 동안 hand-shaking을 실시하였다. 배양 초기 및 배양한 시료의 수중 NH₄, NO₃ 및 SRP(soluble reactive phosphorus) 영양염 농도는 시료를 GF/C filter로 여과한 후 Rump and Krist (1988)의 방법에 따라 분석하였다. 엽록소 a 농도는 90% ethanol로 비등 추출하여 정량하였다(Nusch, 1980). 조류 개체수는 Lugol's 용액으로 고정하여 시료 1 ml을 Sedwick-Rafter chamber에 골고루 분산시킨 후 광학현미경으로 200× 배율하에서 계수하였다. 용존 유기물은 UV-Vis-NIR Spectrophotometer (Varian Cary-5G, Australia)를 이용하여 254 nm에서 측정하였다. 점착성은 Brookfield Rheocalc System (Ver. 1.2, U.S.A.)으로 측정하였다. 이 때 SC4-18 spindle을 사용하여 70~80 rpm에서 30초 동안 측정된 평균값을 이용하였다(Nielsen, 1977).

2. 수심별 microcystins 분포현황

1998년 9월 4일 충주호의 제천천 유입부와 1998년 10월 12일 옥정호(섬진강댐)를 대상으로 수화현상이 심하게 진행된 시기에 수심별 조류밀도 및 microcystins 분포현황을 조사하였다. 시료는 제천천과 옥정호 모두 표층부터 수심 7 m까지 1~2 m 간격으로 각각 3 L씩의

Table 1. HPLC/UV and HPLC/PDA operating conditions for the analysis of microcystins.

	HPLC/PDA (Perkin Elmer)
Column	μ Bondapak (Waters)
Eluents	H ₂ O : Acetonitrile (66 : 34, 0.05% TFA)
Flow rate	Isocratic 1.0 ml/min
Injection volumn	20 μ l
Column Oven Temp.	Room temperature
Detector	Diode Array Detector 235C (Perkin-Elmer)
Wavelength (λ)	240 nm

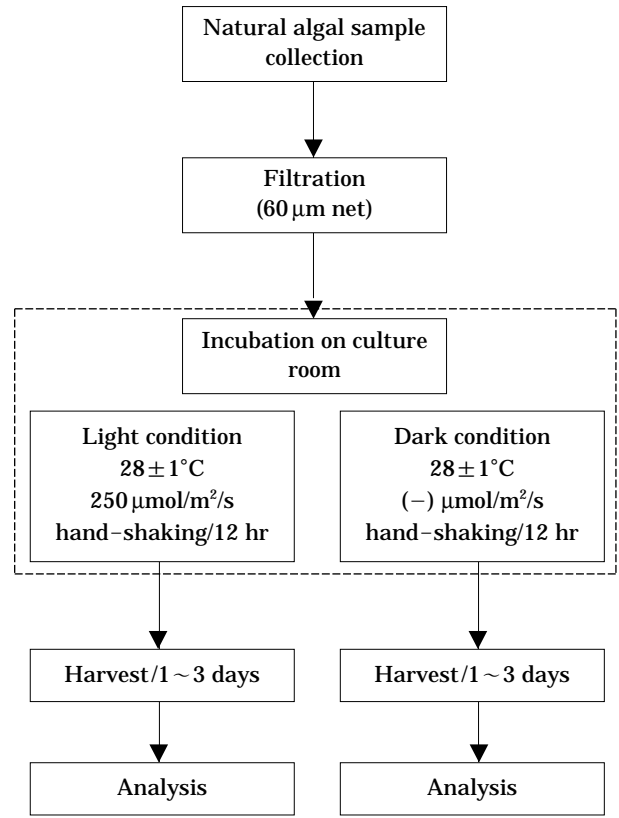
시료를 채수하여 조류동정 및 정량·정성분석을 실시하였다.

3. Microcystin 분석

분석에 사용된 microcystins 표준시약은 microcystins-RR, -LR, -YR (WACO, Japan)로서 250 μ g과 100 μ g의 분말형태의 시약을 메탄올에 희석하여 사용하였다. Microcystin-RR, -YR, -LR의 회수율 측정을 위하여 증류수 1 L에 microcystins 혼합 표준물질 2 μ g을 첨가한 후 C18 cartridge에 통과시키고 10%, 20%, 30% 메탄올 10 ml로 각각 세척한 후, 공기를 통과시켜 cartridge를 건조시켰다. 메탄올 6 ml로 microcystins을 추출해낸 다음 질소를 이용하여 메탄올을 증발시킨 후 메탄올 200 μ l에 농축하여 HPLC로 측정하였다. 기기에 대한 검출 한계는 Pallesen (1985)이 제안한 방법을 적용하여 0.8 ng/20 μ l 농도의 microcystin-RR, -YR, -LR 혼합표준물질을 대상으로 7번 반복 측정하여 구하였다. 분석에 사용된 기기와 HPLC의 용매조성 등은 Table 1과 같다. 배양 시료중의 microcystins 분석에는 실내 배양기의 light와 dark 조건하에서 각각 배양된 시료를 1~3일 간격으로 1.2 L씩 채취하여 사용하였다. 채취된 시료는 9,000 rpm에서 25분간 원심분리를 한 후, 상등액은 수체에 용존된 microcystins 분석을 위한 전처리 작업을 실시하였으며 분리된 조체는 수거하여 동결 건조시켜 세포안에 들어있는 microcystins 분석에 각각 사용하였다.

4. 세포내 포함된 microcystins 추출법

세포내에 함유된 microcystins의 농도 측정을 위하여 일정간격으로 두 차례에 걸쳐 채취된 조체를 합한 뒤 동결 건조시켰다. Light의 경우 3~6일, 9~12일, 15~18일, 21~24일에 채취된 시료를 합하였으며, dark의 경우 21~27일 사이의 3개 시료를 합하였고 나머지 시료는

**Fig 1.** A schematic diagram of procedure for the assay of algal toxins.

light 시료와 동일한 조건의 시료였다. 동결 건조된 조체를 꺼낸 뒤 건조중량을 정확히 정량한 후 삼각플라스크에 넣고 5% acetic acid 20 ml를 첨가하고 1시간 동안 상온에서 교반시켰다. 충분히 교반된 용액을 원심분리용기에 넣고 9,000 rpm에서 25분간 원심분리하여 상등액은 모으고 나머지 조체는 다시 5% acetic acid 20 ml를 넣어 위와 같은 절차를 다시 한번 반복하였다. 두 번째 원심분리가 끝난 후, 같은 방법으로 상등액은 모으고 나머지 조체는 5% acetic acid 20 ml를 넣은 후, 뚜껑을 덮어 약 18시간 동안 방치하였다. 이 용액을 다시 9,000 rpm에서 25분간 원심 분리하여 조체로부터 독소가 추출된 상등액을 미리 받아둔 5% acetic acid 용액 40 ml과 섞어 syringe filter (Whatman, 0.45 μ m)로 여과한 후 활성화시킨 C18 카트리지에 흘려보냈다. 카트리는 사용 전에 메탄올 10 ml과 3차 증류수 10 ml을 순차적으로 흘려주어 활성화시켰다. 용액을 통과시킨 카트리는 메탄올과 5 mM phosphate buffer (pH 2.4)가 4:6으로 혼합된 용매 7 ml와 증류수 10 ml를 순차적으로 흘려주어 세척하고 5분간 공기를 통과시켜 건조시킨 후 메탄올 20 ml를 흘

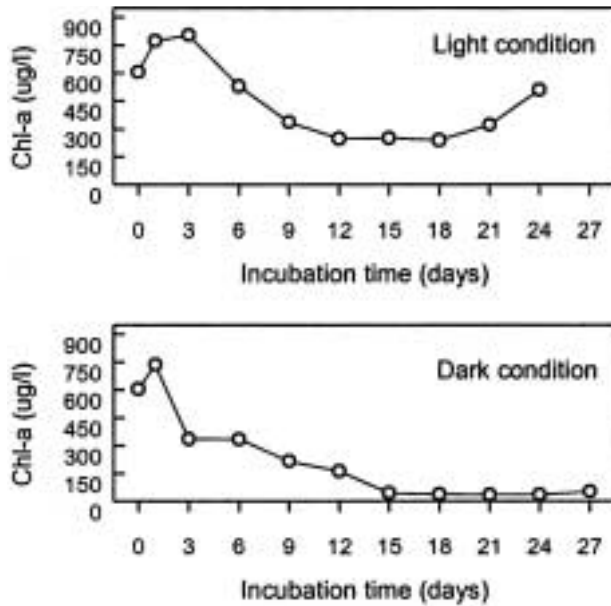


Fig. 2. The variation of Chl-a contents during incubation under a) the light condition and b) the dark condition.

러 microcystins를 추출해 냈다. 추출된 용액은 40°C에서 질소가스를 사용하여 완전 건조시킨 뒤 1 ml 메탄올에 재용출시켜 농축시킨 뒤 분석시료로서 사용하였다.

5. 수체내 용존된 microcystins 추출법

수체내에 용존된 microcystins는 고체상 추출법을 사용하여 전처리하였다 (Harada, 1988). 각 배지에서 채취된 시료중 1.2L를 원심 분리한 후 불순물제거와 농축을 위하여 GF/C (Whatman) 여과지를 통과시킨 다음 활성화된 LC-18 카트리지에 통과시켰다. 카트리지에 흡착된 유기물 및 불순물은 10%, 20%, 30% 농도의 메탄올 용액을 각각 10 ml씩 순차적으로 흘려주어 세척하여 제거하였다. 세척후 공기를 통과시켜 수분을 건조시킨 다음 6 ml의 메탄올로 추출하였다. 추출된 용액을 40°C에서 질소가스로 완전 건조·증발시킨 후 200 µl의 메탄올에 재용해시켜 농축을 한 후 HPLC로 정량하였으며 HPLC/PDA로 확인작업을 하였다.

결과 및 고찰

일반 댐저수지에 발생하는 남조류의 독성물질 배출 및 분해양상을 밝히고자 대청댐 지류인 옥천천의 스킵을 채취하여 실험대상으로 조사하였다. 배지는 light와 dark 상태로 분리하였으며 각각 24일과 27일간 조사를

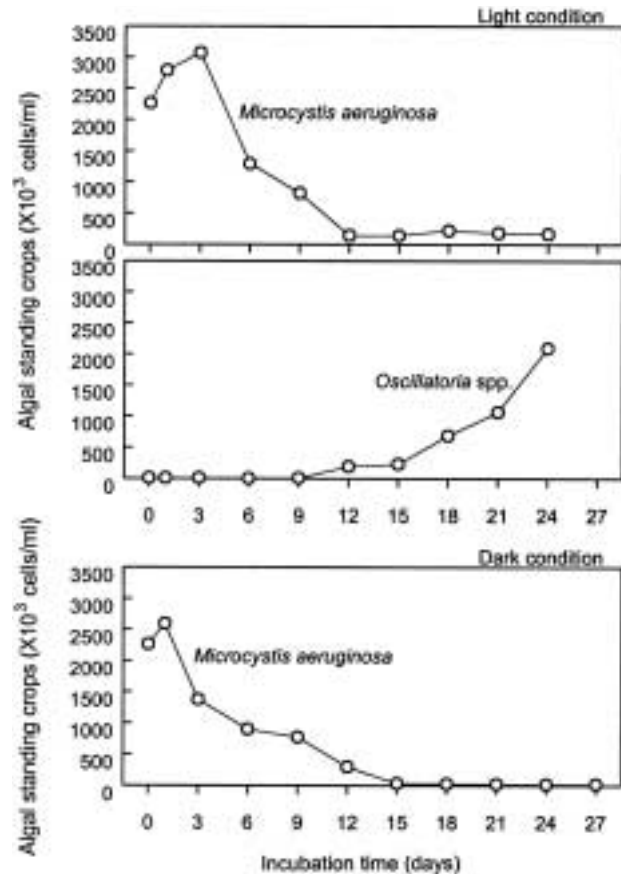


Fig. 3. The variation of algal standing crops under the light condition for a) *Microcystisaeruginosa* and b) *Oscillatoria* spp. and under the dark condition for c) *Microcystis aeruginosa*.

하는 동안 다른 영양염류는 첨가하지 않았다. 또한 옥정호 및 체천천의 수심별 시료를 채취하여 표층과 심층의 자료를 비교함으로써 간접적으로 light와 dark 상태의 독성의 배출 및 분해양상을 살펴보고자 하였다.

1. Chl-a 및 세포수

Chl-a는 light 상태에서 배양 초기 3일 동안 33% 증가가 있었고 이후 12일까지 지속적으로 감소하여 초기 농도에 비해 59% 수준을 나타냈다 (Fig. 2a). 배양 12일부터 18일까지는 큰 차이가 관찰되지 않았고, 18일부터 24일까지 급감한 농도에서 다시 2배 이상 증가하는 변동을 보였다 (Fig. 2a). 반면에 dark 상태는 배양 초기 하루동안만 21% 증가가 있었다. 배양 15일까지 초기 (2~3일)에 큰 폭으로 감소하였고, 그후에는 점진적으로 감소하여 44 µg/L를 보였으며 최종 배양 시기까지 증가하는 양상은 없었다 (Fig. 2b).

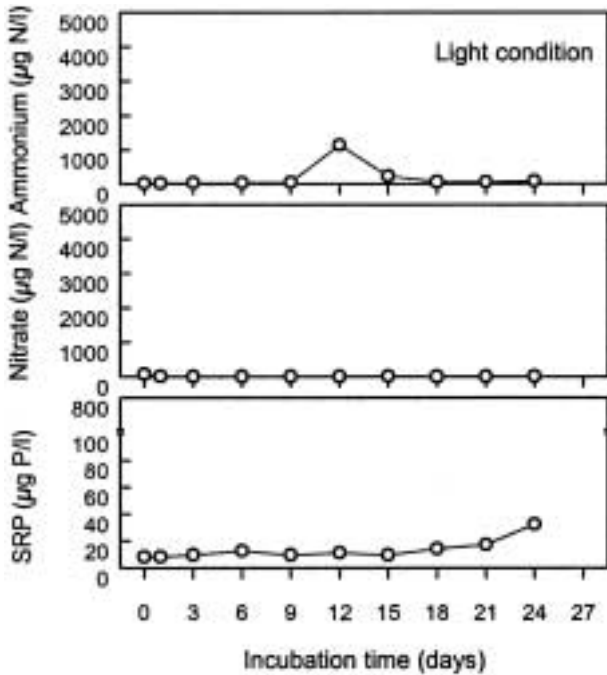


Fig. 4. The variation of algal N and SRP as a function of incubation time of natural algal population under the light condition.

조류 현존량 변동은 chl-a 농도 변화와 일치하였다 (Figs. 2, 3). 남조류 *Microcystis aeruginosa*의 배양 초기 농도는 2.3×10^6 cells/ml (총세포수의 99%)로 light 상태에서 배양 3일까지 3.1×10^6 cells/ml로 성장을 보였다. 초기 최대 세포밀도와 비교했을 때, 배양 3~6일 사이에 58%, 12일에는 95%가 각각 사멸되었으며 최종 배양까지 더 증가되는 경향은 관찰되지 않았다 (Fig. 3a). 그러나 남조 *Microcystis aeruginosa*가 거의 사멸된 시점인 12일째부터 평균 5.3×10^3 cells/ml을 보이던 *Oscillatoria* spp.가 성장하기 시작하여 24일째에는 2.1×10^6 cells/ml로 지수적인 증가가 있었다 (Fig. 3b). Dark 상태에서는 light 상태와는 달리 배양기간 동안 *Microcystis aeruginosa*가 절대 우점종이었고, 배양 2일부터 그 수가 급격하게 줄어 15일째에는 거의 사멸하였으며 배양 종료 시점까지 그대로 유지되었다 (Fig. 3c).

2. N · P 영양염

질소 성분 중 NH₄는 light 상태에서 초기~9일, 18~24일에는 90 µg N/L 이하 농도로 매우 낮았으나 배양 시작 후 중반에 해당하는 12~15일에는 229~1,143 µg N/L 범위로 높은 농도를 보였다 (Fig. 4a). NO₃는 배양기간 동안 6~80 µg N/L 범위로 매우 낮았다. Dark 상태에

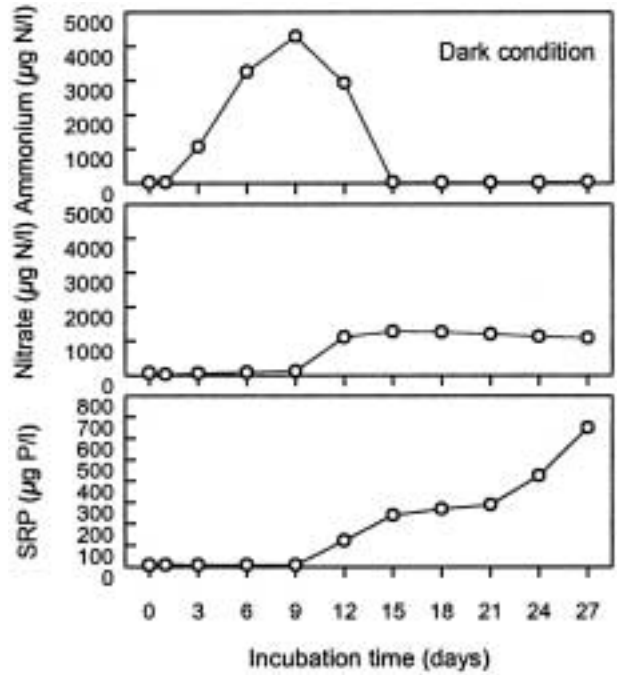


Fig. 5. The variation of algal N and SRP as a function of incubation time of natural algal population under the dark condition.

서 NH₄는 초기에 비해 배양 9일째까지 급격하게 증가하여 4,300 µg N/L를 나타냈다 (Fig. 5a). 또한 이 후 15일까지 지속적으로 감소하여 배양 초기 농도 수준인 34 µg N/L로 변화하여 완전 고갈된 상태였다. NO₃는 배양 9일째까지 큰 변화가 없다가 12일째 1,100 µg N/L 정도로 크게 증가하였으며 그 후 뚜렷한 변동은 관찰되지 않았고 일정한 농도를 유지하였다 (Fig. 5b). SRP는 light 조건에서 배양 초기부터 15일까지 평균 10 µg P/L 수준을 나타냈고 24일째에 32 µg P/L로 다소 증가하였다. 반면 dark 조건에서는 배양 9일째까지 light 조건과 동일한 농도를 보이다가 12일째 되는 날부터 최종 배양일까지 크게 증가하여 650 µg P/L를 나타냈다 (Figs. 4c, 5c).

N · P 영양염의 변동은 조류의 성장과 사멸에 의한 영향이 컸다 (Figs. 3-5). Light 조건에서 남조 *Microcystis aeruginosa*가 사멸하기 시작한 후부터 9일째까지 NH₄는 증가가 관찰되지 않았으나 SRP는 NH₄보다는 미미한 증가가 확인되었다. 또한 NH₄는 *Microcystis aeruginosa*가 거의 사멸한 12일째에 일시적인 증가가 있었으나 이내 초기 농도 수준으로 감소하였다. 이것은 곧 *Oscillatoria* spp.의 성장을 500 µg chl-a/L 수준으로 증가시킨 주 요인이 되었다 (Fig. 4a). Dark 조건은 light 조건과 상이한 양상이 관찰되었다. 남조 *Microcystis aeruginosa*

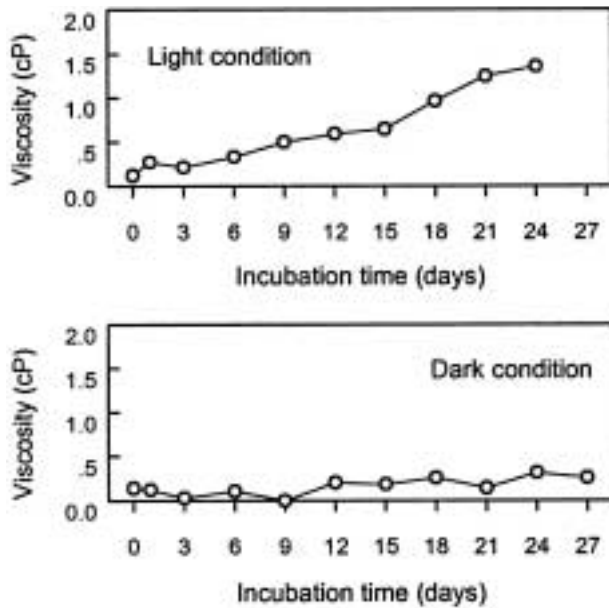


Fig. 6. The variation of viscosity of the incubation samples under the a) light condition and b) dark condition.

uginosa 사멸하여 세포수가 감소된 만큼 NH_4 의 증가가 있었다. NO_3 의 증가는 NH_4 농도가 최고에 달한 이후부터 증가하기 시작했으며 (Aizaki and Takamura, 1991), 일정 농도(최고 $1,300 \mu\text{g N/L}$) 이상은 더 증가하지 않았다. 반면에 SRP 농도 증가는 NO_3 가 증가하는 시기와 비슷하였고 세포밀도가 65% 정도 감소한 시기에 해당한다. 결과적으로 light에서는 배양 12일을 전·후로 *Microcystis aeruginosa*에서 *Oscillatoria* spp.로 개체군 변동이 있어 정확한 증감 경향의 설명은 어려웠으나, dark에서 이러한 경향이 뚜렷하여 *Microcystis*의 경우 조체가 사멸한 후 chl-a > particulate N (ammonification → nitrification) > particulate P의 순으로 분해가 진행됨을 볼 수 있었다 (Aizaki and Takamura, 1991).

3. Viscosity와 UV_{254}

배양 시료는 시기에 따라 배양액중의 점성도에 뚜렷한 차이가 있었다. Light 상태의 경우 0.12~1.36 cP 값의 범위를 보인 반면에 dark 상태에서는 0~0.26 cP 범위로 나타나 light 상태에서 최대 5배 높은 점성도를 보였다. 또한 light 상태의 경우 배양 3일째부터 배양종료 시기까지 점성도가 꾸준히 증가하는 경향을 보였으나 dark 상태의 경우에는 초기와 종료시점의 농도차가 미미할 정도로 큰 변화를 보이지 않았다 (Fig. 6). UV_{254} 의 경우 그 변화양상이 점성도의 변화양상과 거의 일치하

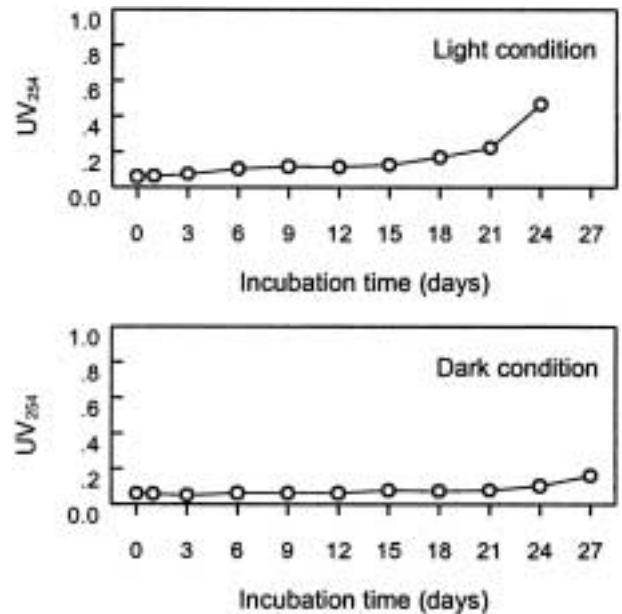


Fig. 7. The variation of UV (254) of the incubation samples under the a) light condition and b) dark condition.

는 결과를 나타내었다. Light 상태에서는 전반적으로 증가하다 21일에서 24일 사이에 급격히 높아졌으나 dark 상태에서는 전반적으로 별다른 차이를 보이지 않았다 (Fig. 7). 점성물질은 일반적으로 현장에서 스킴을 채취하여 수일간 방치하는 경우 생기기 시작한다. 이들 점성물질은 *Microcystis aeruginosa*의 군체를 싸고있던 점액질과 세포 안에 포함된 물질들이 분해과정을 통하여 수체로 이동하면서 수체내 점성도의 증가를 가져오는 것으로 사료된다. 또한 어느 시점까지는 점성도의 증가와 함께 이취미를 발생하다가 서서히 분해되는 과정을 거치며 이취미와 점성도가 사라진다. 점성도의 변화는 Viscometer 측정 결과 뿐만 아니라 GF/C 여과지를 통하여서도 간접적으로 알 수 있었다. 배양시료를 원심 분리하여 조체와 수체로 나눈 다음 GF/C 여과지로 거르는 작업에서 시료의 점성수준에 따라 여과속도에 큰 영향을 주었다. Light 시료의 경우 배양기간이 긴 시료일수록 GF/C 여과지 교체 횟수가 증가하였다. 이는 점성이 증가하여 여과지가 자주 막히기 때문에 여과지를 자주 교체해 주는데 그 원인이 있었다.

4. Microcystins 분석

Microcystin-RR, -YR, -LR의 회수율 측정 결과 각각의 평균 회수율은 70.3%, 81.4%, 74.2%로 나타났고 (Table 2) Pallesen (1985)이 제안한 방법을 적용한 기기

Table 2. Percent recovery and method detection limits of the microcystins analysis.

	microcystin-RR	microcystin-YR	microcystin-LR	unit
1st	67.1	84.9	72.0	
2nd	73.5	77.9	76.6	%
mean	70.3	81.4	74.2	
MDL	20.3	39.6	86.4	µg/L

MDL: Method Detection Limits

의 검출한계는 microcystins-RR, -YR, -LR 각각 20.3, 39.6, 86.4 µg/L이었다. 현장시료의 경우 농축과정을 통하여 microcystins-RR, -YR, -LR 각각 4.0, 7.8, 17.0 ng/L 까지 정량 가능하였다.

5. 수심별 microcystins의 분포현황

옥정호 및 제천천 모두 *Microcystis aeruginosa*가 95% 이상으로 조사되어 우점종을 차지하고 있었다 (Table 3, 4). *Microcystis*의 세포수는 표층에서 수심 5m까지 거의 균일하게 분포하였으나 수심 7m 이하에서는 전혀 출현하지 않아 5m까지 변수층에 해당하고 수온성층이 7m부터 강하게 형성된 것이 주원인으로 생각된다. 세포의 밀도는 옥정호의 경우 $1.0 \sim 3.7 \times 10^5$ cells/ml 사이로 존재하였으며 이때 검출된 microcystin-RR, -YR, -LR의 총량은 수심 1m와 3m에서 각각 0.04와 0.07 µg/L로 검출되었을 뿐 다른 시료에서는 불검출되었다. 제천천의 경우 표층의 세포수가 1.4×10^5 cells/ml이었으며 수체에 용존되어 검출된 microcystins의 총량은 수심 1~3m 사이에서 0.14~0.17 µg/L의 농도 범위로 검출되었고 표층과 수심 4m 이하에서는 전혀 검출되지 않았다. 옥정호와 제천천을 대상으로한 수심별 조류 및 microcystins 분포현황 조사에서는 (Table 3, 4) 두지점 모두 *Microcystis aeruginosa*가 95% 이상으로 우점하고 있었고 세포밀도는 $1.0 \sim 3.7 \times 10^5$ cells/ml이었다. 수체에 용존된 microcystins 중 제일 많이 검출된 종류는 microcystin-LR로 나타나 배양실험에서 조사된 결과와 일치하였다. 수심별 분포에서는 microcystins가 수심 1~3m 사이에서 0.04~0.17 µg/L로 검출되었으며 표층과 수심 4m 이하에서는 불검출 되었다. 이러한 결과는 전술한 바와 같이 분해에 관여하는 요인과 관련성이 있는 것으로 보여지며 다른 수층 보다도 특히 1~3m 층에서 왕성한 조체가 많이 분포하는 것으로 추정되었다.

6. 세포내 microcystins

세포내에 함유된 microcystins의 총량은 배양상태와

Table 3. Vertical distribution of algal standing crops and the concentration of microcystins in water phase in Jechon stream (4 Sep. '98).

Depth (M)	Microcystin-RR	Microcystin-YR	Microcystin-LR	Total Microcystins	Algal standing crops (cells/ml)
	(µg/L)				
Surface	-	-	-	-	140,400
1	0.02	-	0.12	0.14	
2	0.03	0.04	0.11	0.17	
3	0.06	-	-	0.06	
4	-	-	-	-	
5	-	-	-	-	
7	-	-	-	-	

- : Not detected

Table 4. Vertical distribution of algal standing crops and the concentration of microcystins in water phase in Okjung Lake (12 Oct. '98).

Depth (M)	<i>Microcystis aeruginosa</i>	<i>Microcystis ichthyoblabe</i>	<i>Microcystis wesenbergii</i>	Total standing crops	Total Microcystin (µg/L)
	(cells/ml)				
Surface	198,786	166,320	8,904	374,010	-
1	106,506	47,275	-	153,781	0.04
2	210,804	4,444	-	215,248	-
3	239,400	19,080	-	258,480	0.07
4	107,750	922	-	108,672	-
5	276,910	-	-	276,910	-
7	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-

- : Not detected

상관없이 배양초기에서 배양중기사이에는 농도가 급격히 감소하였으며 배양중기에서 배양종료시까지의 농도 변화가 거의 없는 기간으로 뚜렷이 구분되었다. Light 상태의 경우 6일째에 45%의 농도가 감소된 14.4 µg/g dry weight를 보였고 종료시점에는 73%의 농도가 감소되어 7.0 µg/g를 나타내었다 (Fig. 8a). Dark의 경우 3~6일 사이 68%의 농도가 감소된 8.5 µg/g 농도를 보인 뒤 종료시점에는 88%의 농도가 감소된 3.0 µg/g를 보였다. Light 상태보다는 dark 상태에서 전반적으로 microcystins가 더 빠르게 감소되며 감소되는 농도의 크기도 큰 것으로 나타났다 (Fig. 9a). 조체에 들어있는 microcystins의 조성은 종류별로 큰 차이를 나타냈다. 대조군의 *Microcystis aeruginosa* 조체에서 microcystin-RR이 59%인 15.8 µg/g, microcystin-LR이 38%인 10.1 µg/g, microcystin-YR이 0.03%인 0.7 µg/g를 차지하는 것으로

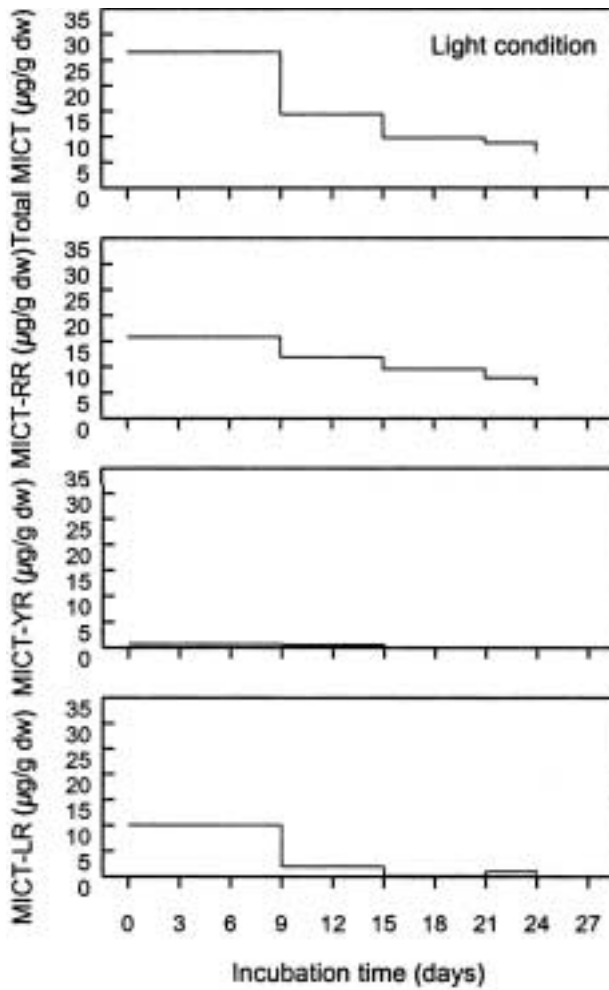


Fig. 8. The contents of microcystins of the cells fraction under the light condition. a) Total microcystins and b) microcystin-RR c) microcystin-YR d) microcystin-LR.

나타나 농도별로는 microcystin-RR > -LR > -YR 순으로 분포하는 것으로 조사되었다. 또한 배양시 배출되는 독소의 경우 종류별로 배출양상이 다른 결과를 보였다. 배양종료시점의 세포에서 가장 많이 검출된 것은 microcystin-RR로서 light와 dark 상태에서 각각 초기농도의 40.4%인 6.41 µg/g와 19%인 3.03 µg/g가 남아 있는 것으로 조사되었고 (Figs. 8b, 9b) microcystin-LR과 microcystin-YR은 dark 상태에서는 전혀 검출되지 않았으며 light 상태의 최종시료에서 각각 초기농도의 5%와 2.5% 농도가 검출되었다 (Figs. 8c, 8d, 9c, 9d). 세포내에 함유된 microcystins의 총량의 변화를 *Microcystis aeruginosa*의 현존량 변화와 비교하였을 때 light와 dark의 경우 r^2 값이 각각 0.96과 0.97로서 매우 유의성이 높은

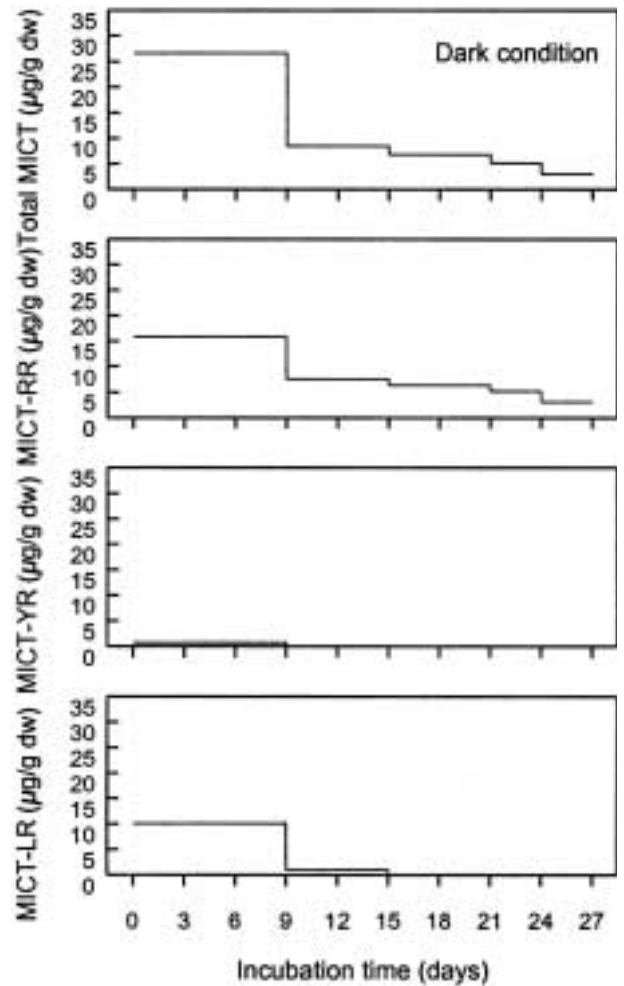


Fig. 9. The contents of microcystins of the cells fraction under the dark conditions. a) Total microcystins and b) microcystin-RR c) microcystin-YR d) microcystin-LR.

결과를 나타내었다. 이러한 세포내에 함유된 microcystins 총량과 *Microcystis aeruginosa*의 현존량 및 Chl-a 농도 변화와 높은 상관관계는 남조류 독소의 경우 세포가 늙어 죽거나 부패한 경우 세포 밖으로 유출되는 일반적인 특성에 기인하는 것으로 판단된다. 또한 점성도와와의 관계에서는 light의 경우 세포의 현존량에 역의 상관관계가 있었으며 r^2 값은 -0.75를 보여 세포가 분해되면서 점성도가 높아지는 결과를 나타내었는데 이러한 점성물질에 대한 기존의 보고는 찾을 수 없었다. 배양조건에 따라서는 dark 상태가 light 상태보다 더 빠른 분해 양상을 보였는데 이는 광합성을 못하는 dark 상태에서 비활성된 세포의 분해가 빨리 진행되었기 때문으로 사료된다. 조체 안에 든 microcystin의 종류별

Table 5. The contents of microcystins in the lyophilized algal scums collected from Korean lakes in the period of 1996 to 1998.

Localities	Sampling date	Microcystins (Unit : $\mu\text{g/g D.W.}$)				References
		Total	-RR	-YR	-LR	
Andong lake	Aug 20, 96	411.0	178.0	63.0	170.0	김 등 ('98)
	Aug 11, 97	2360.0	1412.0	282.0	656.0	김 등 ('98)
Choongju lake	Aug 12, 96	-	-	-	-	김 등 ('98)
	Aug 12, 97	946.0	511.0	156.0	279.0	김 등 ('98)
Daecheong lake	Jan 96	0.76	0.76	-	-	박 ('98)
	Jan 96	0.34	0.18	0.11	0.05	박 ('98)
Hapchon lake	Aug 17, 96	288.0	196.0	-	92.0	김 등 ('98)
	Aug 11, 97	1689.0	1196.0	65.0	428.0	김 등 ('98)
Hoedong lake	Aug 29, 98	-	-	-	-	김 등 ('98)
	Sep 5, 98	-	-	-	-	정 등 ('98)
Imha lake	Aug 20, 96	-	-	-	-	김 등 ('98)
	Aug 11, 97	1133.0	752.0	1140.0	267.0	김 등 ('98)
Jinyang lake	Aug 16, 96	-	-	-	-	김 등 ('98)
	Aug 9, 97	507.0	382.0	-	125.0	김 등 ('98)
Juam lake	Aug 14, 96	-	-	-	-	김 등 ('98)
	Aug 10, 97	395.0	273.0	30.0	92.0	김 등 ('98)
Okjong lake	Aug 13, 96	-	-	-	-	김 등 ('98)
	Aug 10, 97	2612.0	1617.0	155.0	839.0	김 등 ('98)
Paldang lake	Aug 96	0.51	0.31	-	0.20	박 ('98)
Soyang lake	Sep 5, 96	-	-	-	-	김 등 ('98)
	Sep 9, 97	254.0	227.0	-	27.0	김 등 ('98)
Nakdong River	Aug 8, 96	416.0	-	-	416.0	정 등 ('98)
	Sep 96	2.72	1.68	-	1.04	박 ('98)
	Jun 14, 97	82.0	-	-	82.0	정 등 ('98)
	Sep 21, 98	51.1	33.0	-	18.1	정 등 ('98)
	Jun 29, 98~Nov 7, 98	0~512.8	0~174.8	-	0~338.0	국립환경연구원 ('98)
	Jun 29, 98~Nov 7, 98	0~288.9	0~210.2	0~2.9	0~75.8	국립환경연구원 ('98)
Sonaktong River	Apr 20, 98	3255.4	2444.2	-	811.2	정 등 ('98)
	Jun 23, 98	825.0	519.0	-	306.0	정 등 ('98)
	Jun 29, 98~Nov 7, 98	8.2~1738.0	8.2~1378.0	0~18.5	0~333.7	국립환경연구원 ('98)
Kyounganchoon	Oct 23, 96	2142.0	876.0	180.0	428.0	김 등 ('98)
	Oct 15, 98~Nov 12, 98	0.2~13.9				서울수도기술연구소 ('99)
	Oct 15, 98~Nov 12, 98	0.1~3.0				서울수도기술연구소 ('99)

조성은 microcystin-RR > -LR > -YR 순으로 조사되었는데 이 결과는 1996~1999년 사이 우리 나라의 주요 호소의 남조류 조체에서 검출된 성분들의 경향과 일치하였다 (Table 5, 6). 또한 배양 종료시점에 세포내에 가장 많이 존재하는 성분은 microcystin-RR로서 나타났으나 이는 microcystin-RR이 세포에 가장 많이 존재하기 때문으로 사료된다.

7. 수체내 용존된 microcystins

수체내에 용존된 microcystins의 양은 light와 dark 상태에서 뚜렷한 차이를 보였다. Light 상태에서는 초기에

는 흔적량을 보이다가 배양 6일부터 종료시점까지 지속적인 농도의 증가를 보여 0.75 $\mu\text{g/L}$ 의 농도를 보인 반면에 dark의 경우 3~6일 사이에 농도가 증가하여 최대농도인 0.19 $\mu\text{g/L}$ 를 보였으며 이후 계속 감소하는 경향을 보여 배양 종료시점에는 0.02 $\mu\text{g/L}$ 농도로 나타났다 (Figs. 10a, 11a). 수체에서 검출된 microcystins는 세포에 들어 있는 조성비와는 다른 결과를 나타내었다. Light 상태에서는 microcystin-YR과 -LR이 주로 검출되었다. Microcystin-LR의 경우 12일 이후 농도가 증가함을 보였고 microcystin-YR의 경우 12일째 잠깐 높은 농도를 보이다가 감소한 뒤 18일째부터 배양 종료시점까지 꾸준히

Table 6. The contents of microcystins in the surface water collected from Korean lakes in the period of 1996 to 1999.

Localities	Sampling date	Microcystins (Unit : g/l)				References
		Total	-RR	-YR	-LR	
Andong lake	Aug 20, 96	2.75	1.71	-	1.04	김 등 (98)
	Aug 11, 97	9.20	5.54	1.10	2.56	김 등 (98)
Choongju lake	Aug 12, 96	-	-	-	-	김 등 (98)
	Aug 12, 97	4.30	2.32	0.71	1.27	김 등 (98)
Hapchon lake	Aug 17, 96	-	-	-	-	김 등 (98)
	Aug 11, 97	15.36	10.87	0.59	3.89	김 등 (98)
Imha lake	Aug 20, 96	1.21	1.21	-	0.38	김 등 (98)
	Aug 11, 97	6.30	4.18	0.63	1.49	김 등 (98)
Jinyang lake	Aug 16, 96	-	-	-	-	김 등 (98)
	Aug 9, 97	6.36	4.80	-	1.57	김 등 (98)
Juam lake	Aug 14, 96	1.57	1.20	-	0.38	김 등 (98)
	Aug 10, 97	0.37	0.26	0.03	0.09	김 등 (98)
Okjong lake	Aug 13, 96	1.17	0.64	-	0.53	김 등 (98)
	Aug 10, 97	21.55	13.34	1.28	6.93	김 등 (98)
Paldang lake	Aug 96	0.51	0.31	-	0.20	김 등 (98)
Soyang lake	Sep 5, 96	-	-	-	-	김 등 (98)
	Sep 9, 97	0.35	-	-	0.35	김 등 (98)
Nakdong River	Jun 29, 98~Nov 7, 98	-	-	-	-	국립환경연구원 (98)
	Jun 29, 98~Nov 7, 98	-	-	-	-	국립환경연구원 (98)
Sonaktong River	Jun 29, 98~Nov 7, 98	0~3.3	-	-	0~3.3	국립환경연구원 (98)
Kyounganchon	Oct 15, 98~Nov 12, 98	0~0.057	-	-	-	서울수도기술연구소 (98)

Table 7. The trend of physicochemical, biological and algal toxicological factors at each incubation phases of natural algal populations under the light conditions.

Factors\Phase (days)	I (0~9)	II (10~18)	III (19~24)
Physico-chemical			
Ammonium	-	△, ▼	-
Nitrate	-	-	-
SRP	-	-	△
Viscosity	△	△	△
UV ₂₅₄	△	△	△
Biological			
Chlorophyll-a	△, ▼	-	△
Algal cells	△, ▼	▼, △	△
Microcystins			
Total (cells)	▼	▼	▼
-RR	▼	▼	▼
-YR	▼	▼	-
-LR	▼	▼	▼
Total (water)	-	△	△
-RR	-	-	-
-YR	-	△, ▼	△
-LR	-	△	-

△: increase, ▼: decrease, -: no change

농도가 증가함을 보였다 (Fig. 10c). Dark 상태에서는 microcystin-LR이 주로 검출되는 것으로 나타났다. 배

Table 8. The trend of physicochemical, biological and algal toxicological factors at each incubation phases of natural algal populations under the dark conditions.

Factors\Phase (days)	I (0~9)	II (10~18)	III (19~24)
Physico-chemical			
Ammonium	△	▼	-
Nitrate	-	△	-
SRP	-	△	△
Viscosity	-	△	▼, △
UV ₂₅₄	-	-	△
Biological			
Chlorophyll-a	△, ▼	▼	-
Algal cells	△, ▼	▼	-
Microcystins			
Total (cells)	▼	▼	▼
-RR	▼	▼	▼
-YR	▼	-	-
-LR	▼	▼	-
Total (water)	△	▼	-
-RR	-	△, ▼	-
-YR	△, ▼	-	-
-LR	△	▼	▼

△: increase, ▼: decrease, -: no change

양 6일째에는 0.18 µg/L 농도를 나타내어 가장 높은 농도를 보인 뒤 전체적으로 시간의 흐름에 따라 농도가

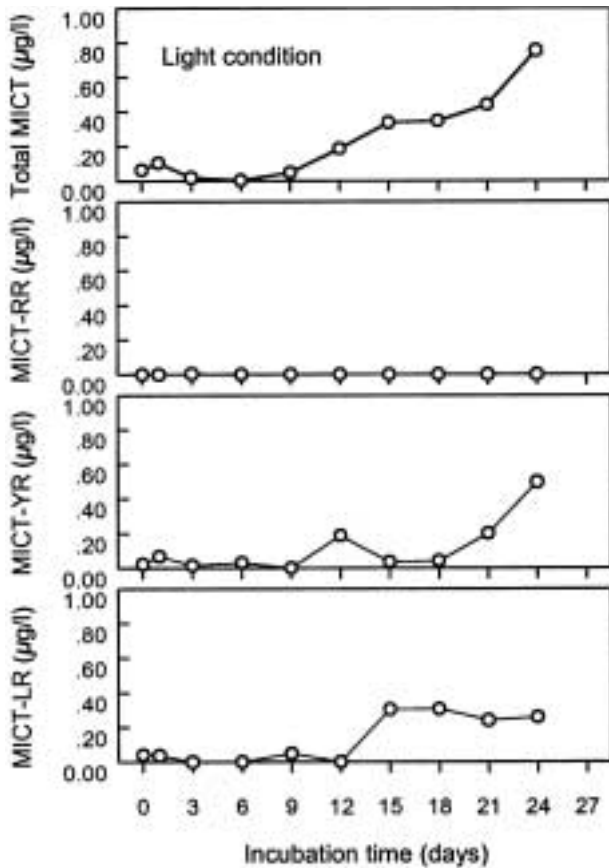


Fig. 10. The variation of microcystin concentration of the cell free water fraction under the light conditions. a) Total microcystins and b) microcystin-RR c) microcystin-YR d) microcystin-LR.

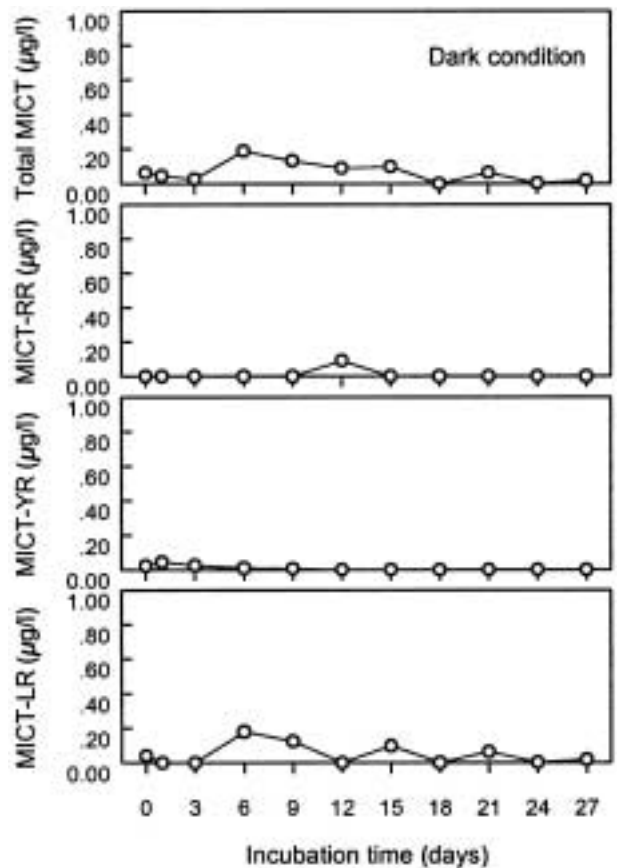


Fig. 11. The variation of microcystin concentration of the cell free water fraction under the dark conditions. a) total microcystins and b) microcystin-RR c) microcystin-YR d) microcystin-LR.

꾸준히 감소되는 양상을 보였다 (Fig. 11d). Microcystin-RR의 경우 12일째에만 낮은 농도를 보였고 microcystin-YR은 초기에서 3일 사이에 낮은 농도수준을 나타내었다 (Fig. 11b, c). 수체 내에서 검출된 microcystins의 양은 light의 경우 6일 이후 증가하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 점성도와 수체에 용존된 microcystins와의 r^2 값이 0.89로 아주 높은 유의성을 보인 결과와 깊은 관련성을 보인다. 이는 light 상태에서 점성도는 세포가 분해될수록 증가하며 세포에서 수체로 용출되는 microcystins의 농도는 이들 점성물질이 일종의 보호막 역할을 하여 미생물에 의한 분해작용으로부터 보호하기 때문에 점성도가 높은 용액에서 독소의 농도도 높은 결과를 보인 것으로 판단된다. 이러한 결과는 dark에서의 점성도와 독소의 관계에서도 분명한 결과를 보여주는데 microcystins의 농도는 3~6일 사이 가장 높은 농도를 보인 뒤 계속 감소하는 추세를 보였고 점성도는 배양시

간이 경과함에 따라서 증가하지 않았다. 이는 점성물질이 적어 상대적으로 독소가 미생물에 많이 노출되어 분해가 빠르게 진행되었기 때문으로 추정된다. 수체에서 검출된 microcystins의 양은 배양상태에 따라 큰 차이를 보였다. Light에서는 처음 6일까지는 큰 변화를 보이지 않다가 배양 6일 이후 농도가 계속 증가하는 경향을 보였다. 또한 점성도와 수체에 용존된 microcystins사이 r^2 값이 0.89를 나타내어 높은 유의성을 보였다. 반면에 dark 상태에서는 배양 3~6일 사이 microcystins의 농도가 전 기간중 가장 높은 농도를 보인 뒤 계속 감소하는 추세를 보였고 점성도도 배양시간이 경과함에 따라서 별다른 변화를 보이지 않아 대조적인 결과를 나타내었다. 이러한 점성도와 수체에서의 독성물질과의 관계는 light 상태에서 세포가 분해될수록 증가한 점성물질이 세포에서 수체로 용출되는 microcystins에 대하여 일종의 보호막 역할을 하여 미생물에 의한 생분해로부터 보

호되었기 때문에 사료된다. 같은 이유로 dark 상태에서는 점성물질이 적어 상대적으로 독소가 미생물에 많이 노출되었을 것이고 이로 인하여 배출된 microcystins가 빠르게 분해되었을 것으로 추정된다. 본 실험을 통하여 밝혀진 점성물질의 존재와 이들 물질에 대한 미생물의 작용 등에 대한 연구는 댐저수지에서 남조류 독성물질의 배출 및 분해과정을 이해하는데 중요한 부분으로서 이에 대한 추가 연구가 필요하다고 생각된다. 아울러 배양 실험을 통하여 나타난 배양기간에 따른 이화학 및 생물학적 인자들과 microcystins의 변화를 종합한 결과는 Table 7, 8과 같다.

결 론

자연상태에서 채취하여 실험실에서 배양한 남조류 시료와 옥정호와 증추호 제천천 유입부에서 수심별로 채취한 시료에 대한 남조류 독소 microcystins의 배출 및 분해양상을 조사하였다.

1. 배양상태에 따른 남조류 세포수의 변화 실험결과 light 상태에서 *Microcystis aeruginosa*는 배양 12일째에 거의 사멸하였으며 이어 *Oscillatoria spp.*가 성장하여 배양 24일째에는 2.1×10^6 cells/ml까지 증식하는 결과를 보여 *Microcystis aeruginosa*가 사멸하면서 배출된 영양염이 *Oscillatoria spp.*의 생물량 증가에 영향을 주었다.

2. Microcystin-RR, -YR, -LR 각각의 평균회수율은 70.3%, 81.4%, 74.2%이었고 Pallesen(1985)이 제안한 방법에 따른 기기 검출한계는 microcystin-RR, -YR, -LR 각각 20.3, 39.6, 86.4 $\mu\text{g/L}$ 이었다. 현장시료의 경우 농축과정을 통하여 microcystin-RR, -YR, -LR 각각 4.0, 7.8, 17.0 ng/L까지 정량이 가능하였다.

3. 세포내에 함유된 microcystins의 양은 세포수가 감소함에 따라 감소하였으며 light 상태에서 보다는 dark 상태에서 더 빠른 감소 추세를 보였다. 또한 세포에서 수체로 용존되는 microcystins의 양은 세포내에서 검출된 양의 극히 일부임이 확인되었고 세포내에 존재하는 microcystins의 농도는 종류에 따라 차이를 보여 microcystin-RR > microcystin-LR > microcystin-YR의 순으로 존재함을 확인할 수 있었다.

4. 수체 내에 용존된 microcystins의 양은 점성물질의 양과 함께 light와 dark 상태에 따라 뚜렷한 차이를 보여 light에서는 배양 24일까지 농도가 증가함을 보인 반면 dark에서는 농도가 감소하였다. 이러한 결과는 옥정호와 제천천에서 수심별로 채취한 시료의 남조류 세포 밀도 및 독성물질의 배출 결과와 동일한 양상을 나타내

어 점성물질이 수체 내에 용존된 microcystins 양의 증감에 관련이 있는 것으로 추정되며 점성물질에 의한 microcystin의 분해기작을 규명하기 위해서는 이들 성분에 대한 추가연구가 필요하다고 판단된다.

5. 남조류 세포 및 microcystins에 대한 light와 dark 상태에서의 서로 다른 분해양상은 배양 상태의 차이에 따른 미생물의 생분해 차이에 의한 것으로 사료된다.

적 요

본 연구에서는 남조류의 독성물질 배출 및 분해양상을 밝히고자 대청댐 지류인 옥천천의 스킴을 채취, 실험 대상으로 하였다. Light와 dark 상태로 분리·배양한 배지에는 조사를 하는 동안 다른 영양염류는 첨가하지 않았다. 그 결과 세포내에서 microcystins의 총량은 세포수가 감소함에 따라 감소하였으며 *Microcystis aeruginosa*의 현존량과 비교하였을 때 light와 dark 상태의 경우 r^2 값이 각각 0.96과 0.97로 높은 상관관계를 보였고 dark 상태에서 보다 더 빠른 감소추세를 보였다. 또한 세포에서 수체로 용존되는 microcystins의 양은 세포내에 존재하는 양의 극히 일부임을 확인할 수 있었고 세포내에 분포하는 microcystins의 농도는 종류에 따라 차이를 보여 microcystin-RR > -LR > -YR의 순으로 존재하는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 옥정호와 제천천을 대상으로 한 수심별 조사에서도 동일한 양상을 보였다. 수체에서 검출된 microcystins의 양은 점성물질의 양과 함께 light와 dark 상태에 따라 뚜렷한 차이를 보였으며 light의 경우 r^2 값이 -0.75의 역의 상관관계를 보였다. 남조류 세포 및 microcystins에 대한 light와 dark 상태에서의 서로 다른 농도 결과는 배양 상태에 따른 미생물의 분해양상의 차이와 미생물에 대한 점성물질의 영향으로 추정된다.

인 용 문 헌

- 김범철, 김호섭, 유민철, 최연규, 박호동, 최일환. 1998. 국내 호수에서 발생하는 남조류 독소의 분포. 한국수질보전학회 춘계학술발표회 논문초록집.
- 박혜경. 1998. 한국산 남조류 *Microcystis spp.*의 생리·생태적 연구. 경북대학교 대학원 박사학위논문.
- 이진애, Vishal C. Srivastava, 최애란, 김우현, 박미정. 1998. Composition of Microcystin from Cyanobacterial Water Blooms of the Sonaktong Reservoir, Korea. *Korean J. Limnol.* **31**(4): 251-257.
- 이진애, 조정제, 권재현, V. Srivastava, 이채인, 손혜숙. 1998.

- 낙동강 수계에서의 남조류 독성 연구 및 그 제거 방안. 국립환경연구원 연구용역보고서 pp. 105-035.
- 정종문, 최은재, 박흥기, 박은주, 정철원, 김주현. 1998. 남조류 (cyanobacteria)의 microcystins 분석과 동태. *The Report of Water Quality Research Institute of Pusan*. **4**: 108-122.
- 조석주, 이수원, 조은주, 김재돈, 최종갑. 1999. 남조류발생 유해성 독소에 관한 조사·연구. '99 서울 상수도 기술세미나 pp. 191-242.
- 최병욱, 노영호, 이종수. 1997. 한국산 남조류 *Microcystis*로부터 생산된 microcystin 구조와 생물 활성에 관한 연구. *J. of Korean Ind. & Eng. Chemistry* **8**: 610-616.
- Aizaki, M. and N. Takamura. 1991. Regeneration of nutrient and detritus formation from aerobic decomposition of natural phytoplankton. *Jpn. J. Limnol.* **52**: 83-94.
- Botes, D.P., A.A. Tuiman, P.L. Wessels, C.C. Viljoen, H. Kruger, D.H. Williams, S. Santikarn, R.J. Smith and S. J. Hammond. 1984. The structure of cyanoginosin-LA, a cyclic heptapeptide toxin from the cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1**: 2311-2318.
- Botes, D.P., P.L. Wessels, H. Kruger, MTC. Runnegar, S. Santikarn, R.J. Smith, H. Barna, J.C.J. and D.H. Williams. 1985. Structural studies on cyanoginocin-LR, -YR, -YA and -YM peptide toxins from *Microcystis aeruginosa*. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.* **1**: 2747-2748.
- Bourne, D.G., G.J. Jones, R.L. Blakeley, A. Jones, A.P. Negri and P. Riddles. 1996. Enzymatic pathway for the bacterial degradation of the cyanobacterial cyclic peptide toxin microcystin-LR. *Appl. envir. Microbiol.* **62**: 4086.
- Carmichel, W.W., V. Beasley, D.L. Bunner, J.N. Eloff, I. Falconer, P. Gorham, K.I. Harada, T. Krishnamurthy, Y. Min-Juan, R.E. Moore, K. Rinehart, M. Runnegar, O.M. Skulberg and M.F. Watanabe. 1988. Naming of cyclic heptapeptide toxins of cyanobacteria (blue-green algae). *Toxicon*. **26**: 971-973.
- Codd, G.A. and S.G. Bell. 1996. The occurrence and fate of blue-green algal toxins in freshwaters. London, Her Majesty's Stationery Office (National Rivers Authority R and D Report 29).
- Cousins, I.T. 1996. Biodegradation of microcystin-LR by indigenous mixed bacterial populations. *Water research*. **30**: 481-485.
- Dahlem, A.M. 1989. Structure/Toxicity Relationships and Fate of Low Molecular Weight Peptide Toxins from Cyanobacteria, Ph.D. Thesis, University of Illinois. pp.135.
- Falconer, I.R. and A.R. Humpage. 1996. Tumor promotion by cyanobacterial toxins. *Phycologia*. **35**: 74-79.
- Falconer, I. R., A.M. Beresford and MTC. Runnegar. 1983. Evidence of liver damage by toxin from a bloom of the blue-green alga, *Microcystis aeruginosa*. *The Medical Journal of Australia*. **1**: 511-514.
- Fastner, J., I. Flieger and U. Neumann. 1998. Optimised Extraction of Microcystins from Field Samples-A Comparison of Different Solvents and Procedures. *Wat. Res.* **32**(10): 3177-3181.
- Harada, K.I. and Kiyomi, Tsuji. 1998. Persistent and Decomposition of Heptatotoxic Microcystins Produced by Cyanobacteria in Natural Environment. *J. Toxicol. Toxin reviews*. **17**(3): 385-403.
- Harada, K.I., S. Oishi, A.M. Dahlem, V.R. Beasley and W. W. Carmichael. 1988. *J. Chromatogr* **448**: 275.
- Heresztyn, T. and B.C. Nicholson. 1997. Nodularin concentrations in Lakes Alexandria and Albert, South Austria, during a bloom of the cyanobacterium *Nodularia spumigena* and degradation of the toxin. *Environ. Toxicol. Water Qual.* **12**: 273-282.
- Hurdey, S.E., T.W. Lambert and S.L. Kenefick. 1994. Health risk assessment of microcystins in drinking water supplies. Toxic cyanobacteria-a global perspective. Adelaide, Australian Centre for Water Quality Research. pp. 7-12.
- James, H.A., C.P. James and J. Hart. 1994. The Analysis of Microcystin-LR in Water, Application in Water Treatment Studies. Detection Methods for Cyanobacterial Toxins. pp. 51-58.
- Jones, G.J. and P.T. Orr, 1994. Release and degradation of microcystin following algicide treatment of a *Microcystis aeruginosa* bloom in a recreational lake, as determined by HPLC and protein phosphatase inhibition assay. *Water research*. **28**: 871-876.
- Nielsen, L.E. 1977. Polymer rheology. Marcel Dekker, INC. New York. pp. 203.
- Nusch, E.A. 1980. Comparison of different methods for chlorophyll and phaeopigment determination. *Arch. Hydrobiol. Beih.* **14**: 14-36.
- Pearson, M.J. 1990. Toxic blue-green algae. A report by the UK National Rivers Authority. *Water Quality Series*. **2**: 1-128.
- Ralpala, J., K., Lahti, K. Sivonen and S.I. Niemela. 1994. Biodegradability and adsorption on sediments of cyanobacterial hepatotoxins and anatoxins-a, *Letter in Applied Microbiology*. **19**: 423.
- Ressom, R. 1994. Health effects of toxic cyanobacteria (blue-green algae.). Canberra, Australian National Health and Medical Research Council pp. 1-108.

- Rump, H.H. and H. Krist. 1988. Laboratory manual for the examination of water, wastewater and Soil. VCH Verlagsgesellschaft, Publ, New York, NY (USA) 190p.
- Watanabe, M.F. and K.I. Harada. 1993. Toxic water bloom of blue-green algae. Biological and chemical characteristics. *Jpn. J. Limnol.* **54**: 225-243.
- Watanabe, M.F. and S. Oishi. 1983. A highly toxic strain of blue green alga *Microcystis aeruginosa* isolated from Lake Suwa. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries.* **49**: 1759.
- Yu, S.Z. 1994. Blue-green algae and river cancer. Toxic cyanobacteria, current status of research and management (Steffensen DA and Nicholson BC, eds.). Proceedings of an International Workshop. Adelaide, Australia pp. 75-85.