

시안세균 수화의 세균학적 조절

김철호* · 권오섭¹ · 이진애¹

진주산업대학교 미생물공학과, ¹인제대학교 환경시스템학부

시안세균(*Anabaena cylindrica*)의 생장을 효과적으로 억제하는 세균을 분리하여 NG-2로 구분하였다. 이 세균은 그람 음성의 막대형 세균으로서 $1.3\sim 1.8 \times 0.35 \mu\text{m}$ 정도의 크기를 보였으며, 카탈라제와 옥시다제 양성 반응을 나타내었고, $35\sim 40^\circ\text{C}$ 와 pH 9.0의 적정 성장 조건을 보였다. *A. cylindrica*와 NG-2를 JM 배지에서 혼합배양할 경우 두 미생물군은 서로 반비례적으로 성장하였으며, 24 시간 이내에 *A. cylindrica*의 영양세포가 거의 완전히 소멸하였다. NG-2는 빛이 있는 조건에서만 효과적으로 *A. cylindrica*를 분해하였는데, 이는 NG-2의 *A. cylindrica* 분해활성이 숙주의 광합성 작용에 매우 의존적임을 의미한다. 분리세균의 *A. cylindrica* 분해작용을 현미경으로 관찰한 결과 NG-2는 숙주세포에 부착하지 않고 배지 내에 산재한 상태에서 영양세포를 분해하였으며, 이형세포는 분해되지 않았다. 또한 영양세포의 세포벽이 분해되면 분해세균들이 filament 주위에 집중적으로 부착하는 콜로니를 형성함으로써 *A. cylindrica*를 완전히 분해하는 것이 확인되었다. *A. cylindrica*에 대한 NG-2의 분해활성은 인공배지 뿐만 아니라 강물에서도 유사한 결과를 나타내었다. 또한 발포 polystyrene 재질의 bead에 세균을 부착함으로써 *A. cylindrica* 분해 효율을 더 상승시킬 수 있었다.

Key words □ *Anabaena cylindrica*, bacteria, lysis, polystyrene bead

시안세균(cyanobacteria)은 진핵생물인 조류(algae)에서 발견되는 것과 동일한 엽록소를 가지고 유사한 광합성을 함으로써 부산물로 산소를 방출한다는 점에서 남조류(blue-green algae)로도 알려진 원핵생물이다. 전세계적으로 온대지방과 열대지방의 부영양화된 담수 생태계에서는 수온이 상승함에 따라 식물플랑크톤성 조류의 대발생에 의한 수화가 발생하며(22, 23), 조류의 대발생과 함께 시안세균의 대발생은 수화의 주요 원인이 된다. 수생태계에서의 수화 발생은 수생태계의 파괴를 초래할 뿐만 아니라 육상의 동물에게도 심각한 피해를 야기한다(4, 17). 경우에 따라서는 인간의 생명을 위협하기도 한다(10, 14). 또한 원활한 상수도 공급을 방해하거나(27), 수산 양식에 막대한 피해를 초래하기도 함으로써(32) 인간의 각종 경제활동에 지장을 초래한다.

따라서 시안세균의 성장 조절은 인간의 경제활동이나 수상 레크레이션, 원활한 상수도 공급 등을 위하여 매우 중요한데(5, 18, 24), 현재에는 수화가 자주 발생하는 지역에 영양염류 제거 장치를 하거나 무산소층 형성을 억제하기 위해 폭기장치를 설치하는 방법 등의 소극적인 대응책을 사용하거나 수화 발생 지역에 황산동이나 이산화염소, 오존, simazine과 같은 화학약품을 살포하는 방법 이외의 적극적인 조절 방법이 없는 실정이다(20). 수계에 대한 화학물질의 살포는 경제적 부담이 크다는 것 이외에도 수계에 서식하는 다른 생물에 악영향을 미칠 수 있는 위험을 내포하고 있어 새로운 적극적인 수화 조절책이 절실하게 요구되고 있다(25, 31).

생물학적 처리는 수생태계의 혼란을 최소화할 수 있어 근래에 이르러 부영양화 및 수화의 조절법으로 많은 관심을 끌고 있는 분야로서(18), 시안세균에 대한 길항력을 갖는 세균은 활성이 우수할 뿐만 아니라 광범위한 숙주에 대해 활성을 나타낸다는 점에서 이상적인 생물학적 조절인자로 알려져 있다(6, 24).

현재까지 이루어진 연구에 의하면 Actinomycetes(31), *Flexibacter santi*(26), *Myxococcus* sp.(30) 등은 시안세균 성장억제 기작에 대한 연구가 이루어지지 않았고, *Alcaligenes* sp.(19)와 *Flexibacter flexilis*(12), 그리고 *Myxobacter* CP-type 종(7, 8)은 숙주인 시안세균 세포에 부착한 상태에서만 분해활성을 가지는 것으로 확인되었다. 특히 Burnham 등(2)이 분리한 *Myxococcus xanthus*는 시안세균 세포 표면을 둘러싸는 콜로니를 형성하여 숙주를 분해하는 것으로 알려져 있다.

본 연구에서는 수생태계에서 수화의 주요 원인생물로 알려져 있는 *Anabaena cylindrica*의 생장을 억제하는 세균을 자연계로부터 분리하고, 분리세균의 시안세균 분해 활성 특성을 확인하는 한편 분해 기작에 대해 알아보려고 하였다. 이러한 연구는 부영양화된 수생태계에서 발생하는 시안세균 수화를 조절하는데 있어 유용한 자료를 제공하게 될 것이다.

재료 및 방법

시안세균과 분리세균의 배양

시안세균을 분해하는 세균을 분리하기 위한 숙주로는 *Anabaena cylindrica*를 이용하였는데, 배지로는 JM 배지[(Ca(NO₃)₂ · 4H₂O 20 mg, KH₂PO₄ 12.4 mg, MgSO₄ · 7H₂O 50 mg, NaHCO₃ 15.9

*To whom correspondence should be addressed.
Tel: 055-751-3395, Fax: 055-751-3399
E-mail: chkim@jinju.ac.kr

mg, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 36 mg, NaNO_3 80 mg, EDTA FeNa 2.25 mg, EDTANa_2 2.25 mg, H_3BO_3 2.48 mg, $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.39 mg, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 1.00 mg, cyanobalamin 40 μg , thiamine HCl 40 μg , biotin 40 μg)를 이용하였고, 고체배지는 1,500 lux, $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 배양하였고, 액체배지는 같은 조건의 배양기에서 150 rpm으로 진탕배양하였다.

분리세균은 JM 배지에 casitone (Difco) 0.2%를 첨가한 JMC 배지(21)에 접종하여 30°C 배양기에서 배양하였으며, 액체배지는 200 rpm으로 진탕배양하였다.

A. cylindrica 분해세균의 분리

시안세균 분해세균은 A. cylindrica 배양층에 형성되는 plaques로부터 분리하였다(28). 한천 0.8%를 함유하는 5 ml의 JM 배지를 멸균하여 50°C 정도로 식히고, 최종 개체수가 $\times 10^6$ cells/ml 정도 되게 1 ml의 A. cylindrica 배양액과 수질 시료 1 ml를 첨가하여 미리 준비한 JM 한천 배지 위에 부어서 고루 펴 균한다. 이것을 조류 배양기에서 배양하면 5~10일 경과 후 초록색의 A. cylindrica 배양층에 투명대가 형성되는데, 백금을 이용하여 투명대 중심으로부터 시료를 취하여 JMC 한천 배지에 계대배양하여 순수한 세균 균주를 분리하였다. 이러한 과정을 거쳐 분리한 세균 중에서 A. cylindrica 분해 활성이 뛰어난 균주를 선택하였다.

혼합배양시 A. cylindrica와 분리세균의 생장 특성

대수증식기의 A. cylindrica 배양액을 원심분리($9,000 \times g$, 15 $^\circ\text{C}$, 15 min)한 후 침전물을 JM 배지로 1회 세척하여 100 ml의 동일한 배지에 6.0×10^6 cells/ml 되게 접종하였다. 대수증식기의 분리세균을 원심분리($9,000 \times g$, 4°C , 10 min)하여 침전물을 JM 배지로 세척한 후 상기의 A. cylindrica 배지에 1.5×10^5 cells/ml 이 되게 접종하였다. 이 배양액을 조류배양기에서 배양하면서 일정시간 간격으로 시료를 취하여 A. cylindrica 세포수와 분리세균의 세포수를 측정하였다. A. cylindrica 세포수는 혈구계수기를 이용하여 현미경 시야에서 직접계수하였으며, 분리세균은 JMC 배지에 도말접종하여 형성되는 콜로니를 계수하였다. 대조구로는 분리세균을 접종하지 않은 A. cylindrica 배양액을 이용하였다.

세균의 분해활성에 미치는 A. cylindrica 광합성 작용의 영향

자연수계에서 광합성 생물은 다른 생물의 생장에 많은 영향을 끼치는데, 본 실험에서는 숙주인 A. cylindrica의 광합성 활동이 분리세균의 시안세균 분해능에 미치는 영향을 관찰하였다. JM 배지에서 대수생장기에 있는 A. cylindrica를 원심분리($9,000 \times g$, 20°C , 10 min)하여 얻은 세포 침전물을 2회 세척한 후 동일 배지에 현탁하여 4개의 100 ml JM 배지에 접종하였다. 이 중 2개의 배지는 aluminum foil로 싸서 빛을 차단하였으며, 다른 2개의 배지는 대조군으로 이용하였다. 각 2개의 배지 중 1개씩에 분리세균을 접종하여 배양하면서 일정 시간 간격으로 A. cylindrica의 세포수를 측정하였다.

Table 1. Environmental factors of Namgang River water used in this experiment

| Factors | BOD | T-N | $\text{NH}_4^+\text{-N}$ | $\text{NO}_3\text{-N}$ | T-P | $\text{PO}_4\text{-P}$ |
|----------------------|-----|-------|--------------------------|------------------------|-------|------------------------|
| Concentrations (ppm) | 1.6 | 2.127 | 0.01 | 1.37 | 0.137 | 0.075 |

A. cylindrica 분해현상의 현미경 관찰

분리세균이 A. cylindrica 세포를 분해하는 작용을 관찰하기 위하여 분리세균과 A. cylindrica를 혼합배양하여 약 6시간 경과 후 시료를 취하여 위상차현미경(Olympus BX50F-3)로 관찰하였다.

자연수에서의 분해활성

분리세균이 자연수에서도 A. cylindrica 분해활성을 나타내는지 확인하기 위하여 진주시 남강물을 GF/C 여과지로 여과하여 멸균한 후 A. cylindrica와 분리세균을 접종하여 조류배양기에서 배양하면서 일정시간 간격으로 A. cylindrica의 세포수 변화를 측정하였다. 사용한 남강물의 이화학적 요인은 Table 1과 같았다.

담체에 부착한 세균의 A. cylindrica 분해활성

분리세균의 현장 적용을 위하여 실험실 수준에서 담체에 부착하여 A. cylindrica 분해 활성을 확인하였다. 담체로는 Table 2에 나타낸 특성을 가진 bead를 이용하였다.

세균을 JMC 액체배지에 접종하여 3시간 배양한 후 bead를 넣고, 계속 배양하면서 6시간과 12시간 후에 bead를 꺼내서 멸균 등장액(0.85% NaCl 용액)으로 3회 세척하였다. 세척한 bead를 A. cylindrica 배양액에 표면이 완전히 덮일 정도로 넣고, 조류 배양기에서 배양하면서 일정 시간 간격으로 A. cylindrica 세포수를 측정하였다.

결 과

A. cylindrica 분해세균의 분리

각종 시료를 처리한 A. cylindrica 배양층에는 3일 가량 후부터 플라크가 형성되기 시작하였으며, 300여개의 plaques로부터 A. cylindrica 분해세균의 분리를 시도하였고, 이들 중 분해활성이 가장 우수한 세균을 선택하여 NG-2라 명하였다. NG-2는 그람 음성의 막대형 세균으로서 $1.3\sim 1.8 \times 0.35 \mu\text{m}$ 정도였고, 카탈라제(catalase)와 옥시다제(oxidase) 양성 반응을 나타내었다. 또한

Table 2. The properties of beads used in this study.

| Properties | Units | Values |
|----------------------|-------------------------|------------------------|
| Material | - | Expandable polystyrene |
| Mean size(diameter) | mm | 2~3 |
| Density | kg/m^3 | 25 |
| Compressive strength | N/cm^2 | 14~20 |
| Surface area | m^2/m^3 | ca 2,000 |
| Porosity | - | 0.33 |

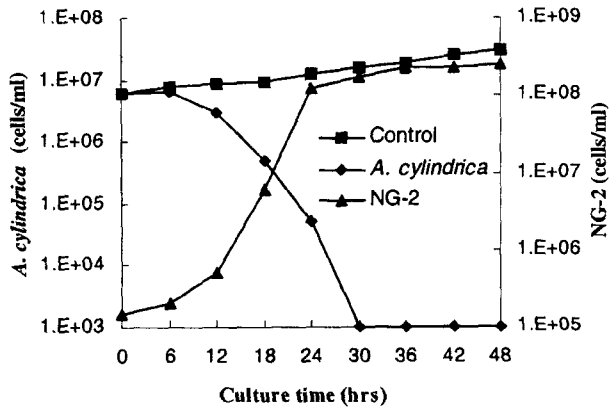


Fig. 1. Growth curves of *A. cylindrica* and NG-2 in a mixed-culture. ■, Growth of *A. cylindrica* in a pure culture; ◆, growth of *A. cylindrica* in a mixed-culture; ▲, growth of NG-2 in a mixed culture.

NG-2의 적정 생장 조건은 35~40°C, pH 9.0으로 나타났다.

혼합배양시 NG-2의 *A. cylindrica* 분해 활성

분리세균과 *A. cylindrica*를 혼합배양할 경우 두 미생물 군집은 서로 반비례적으로 성장하였으며, 12시간 경과 후에는 *A. cylindrica*의 영양세포 숫자가 50% 정도로 감소하였고, 24 시간 후에는 99% 이상 소멸하였다(Fig. 1). 분리세균의 군집은 숙주인 *A. cylindrica*의 군집이 성장하는 기간에만 성장하고, 숙주가 완전히 소멸하면 거의 성장하지 않는다는 것을 알 수 있었다.

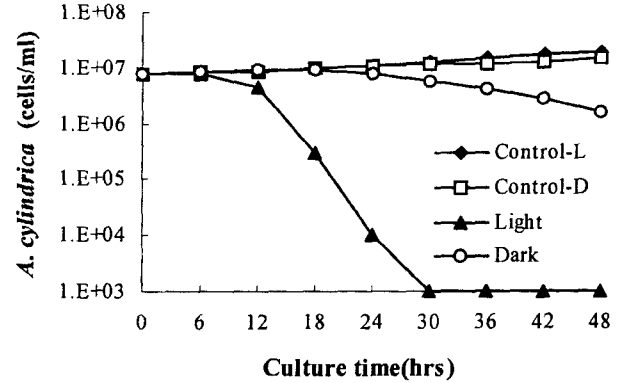


Fig. 2. Effect of cyanobacterial photosynthesis on the lytic activity of NG-2 against *A. cylindrica*. ◆, Growth of *A. cylindrica* in a pure culture under light; □, growth of *A. cylindrica* in a pure culture in dark; ▲, growth of *A. cylindrica* in a mixed-culture under light; ○, growth of *A. cylindrica* in a mixed-culture in dark.

분리세균의 분해활성에 미치는 숙주 광합성의 영향

*A. cylindrica*는 명소와 암소에서 모두 성장이 가능하였으며, 각각의 조건에서 NG-2를 혼합배양하였을 경우 명소에서는 *A. cylindrica*의 생장이 효과적으로 억제되는 반면, 암소에서는 억제 효율이 매우 낮게 나타났다(Fig. 2). 이러한 결과로부터 분리세균의 시안세균 생장억제능은 숙주인 *A. cylindrica*의 광합성 활성에 대해 의존적이라는 사실을 알 수 있다.

분리균주에 의한 *A. cylindrica* 분해기작

분리균주 NG-2가 *A. cylindrica*의 생장을 억제하는 기작을 위

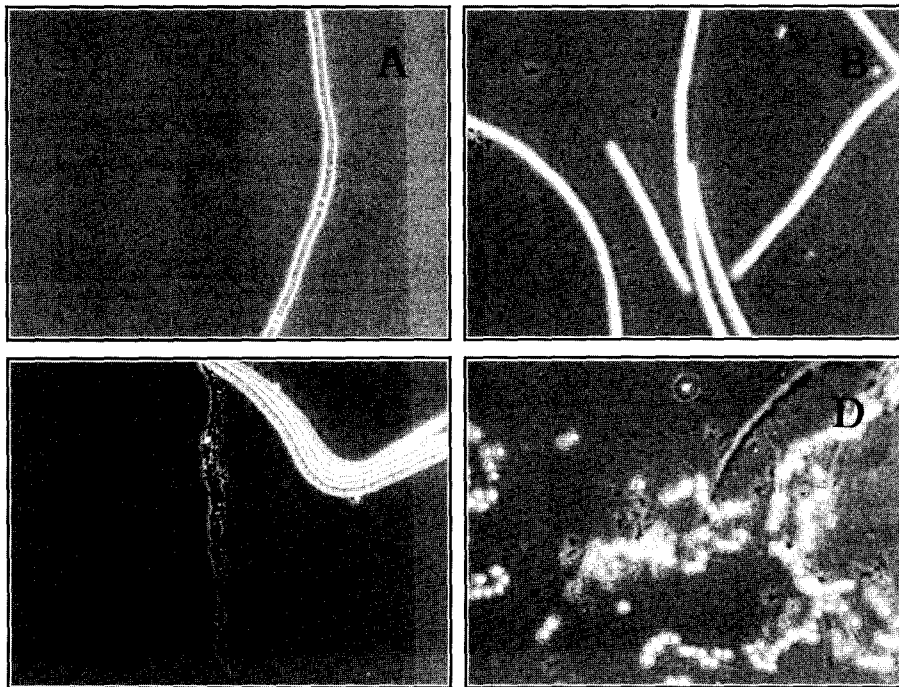


Fig. 3. Photographs showing the lytic activity of NG-2 against *A. cylindrica*. A, Unimpaired *A. cylindrica* cells; B, NG-2 cells and *A. cylindrica* cells in a mixed-culture; C, Bacterial colony formed on cyanobacterial filament; D, Heterocysts of *A. cylindrica* remained after lysis of vegetative cells.

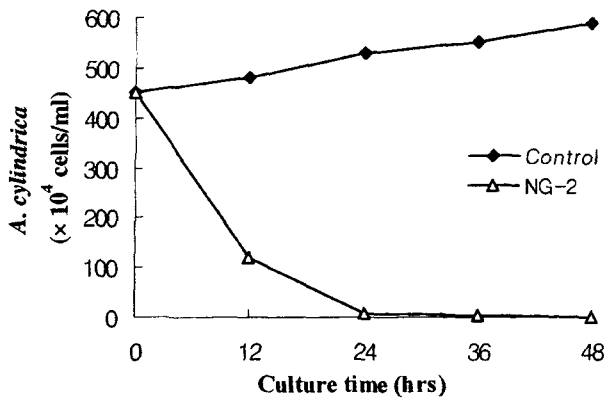


Fig. 4. Lytic activity of NG-2 against *A. cylindrica* in Namgang River water.

상차현미경으로 관찰한 결과 NG-2는 숙주세포와 독립적으로 배지 내에 산재된 상태에서 숙주인 *A. cylindrica*의 영양세포를 분해하는 것을 확인할 수 있었으며, 이 과정에서 이형세포 (heterocyst)는 분해되지 않는다는 것을 알 수 있었다(Fig. 3). 또한 Fig. 3에서 보는 바와 같이 NG-2가 분비하는 물질에 의해 *A. cylindrica*의 영양세포 세포벽이 일부 분해되면 NG-2 세포들이 몰려서 filament를 완전히 감싸는 현상을 관찰할 수 있었다.

자연수에서의 분해활성

분리세균은 멸균한 남강물에서도 실험실 인공 배지(JM 배지)에서와 유사한 활성을 나타내었다(Fig. 4). *A. cylindrica*와 NG-2 균주를 혼합배양했을 경우 12시간 경과 후에는 *A. cylindrica*의 영양세포 수가 75% 정도 줄었고, 24시간 경과 후에는 98% 이상 감소하는 것을 알 수 있었다.

담체에 부착한 세균의 *A. cylindrica* 분해활성

본 연구에서 담체로 사용한 발포 bead는 그 자체만으로도 *A. cylindrica* 성장 억제능이 있어 6시간 정도 처리하였을 때 50% 이상의 *A. cylindrica* 세포가 소멸하였으며, 24시간 이후에는 *A.*

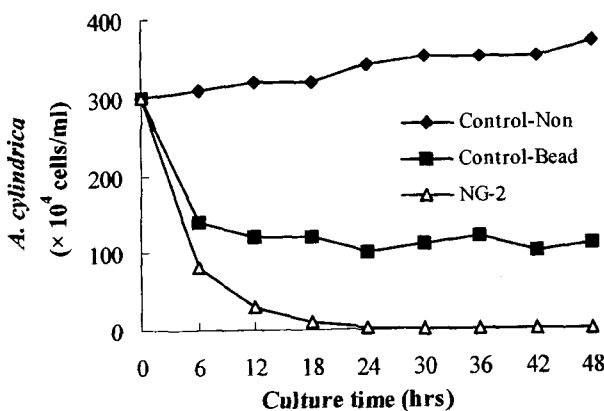


Fig. 5. Lytic activity of NG-2 attached on polystyrene bead against *A. cylindrica*.

cylindrica 균집에 큰 변화 없이 안정되는 것을 알 수 있었다. 분리세균 배양액에 6시간 담근 bead를 *A. cylindrica* 배양액에 처리하였을 경우에는 *A. cylindrica* 소멸 속도가 가속되어 6시간 후에 70% 이상의 영양세포가 소멸하였고, 12시간 후에는 90 가량의 영양세포가 소멸하였다(Fig. 5).

고 찰

우리나라와 같은 온대지방이나 열대지방의 수생태계에서는 매년 반복적으로 시안세균에 의한 수화가 발생하여 수자원의 이용에 막대한 지장을 초래하는데, *Anabaena* sp.는 수화 발생의 주요 원인생물로서 geosmin과 같은 이취미 물질과 독소를 생산하는 것으로 알려져 있다(29). 시안세균에 의한 수화를 조절하기 위해 다양한 연구들이 수행되어 왔으며, 생물학적 조절법 개발을 위한 일환으로 시안세균의 성장을 억제하거나 분해하는 세균에 대한 연구가 다수 이루어졌다(3, 11, 26, 30, 33). 하지만 이들 모든 연구는 실험실 수준에 머물렀고, 자연수계에 대한 적용 가능성에 대한 연구는 거의 이루어지지 않았다. 본 연구에서는 자연수계로부터 시안세균 분해세균을 분리하여 자연생태계에 대한 적용 가능성을 확인하고자 하였으며, *A. cylindrica*를 효과적으로 분해하는 세균을 수 중 분리하였고, 이들 중 한 종인 NG-2 균주에 대한 연구 결과를 기록하였다.

본 연구에서 분리한 NG-2 균주는 JM 배지 내에서 *A. cylindrica*와 반비례적으로 성장하면서 24-36시간 이내에 *A. cylindrica*의 영양세포를 완전 사멸시킨다는 것을 알 수 있었다. 이러한 결과는 기존에 국내에서 분리된 *Acinetobacter johnsonii* (16)가 *A. cylindrica*의 영양세포를 완전 소멸시키는데 약 10일 정도가 걸린다는 결과와 비교할 때 시안세균 성장 억제능이 매우 높다는 것을 알 수 있다. 또한 숙주의 영양세포가 완전 사멸하면 분해세균의 생장이 정지되는 것을 확인할 수 있는데, 이러한 사실은 숙주인 *A. cylindrica*가 분해되면서 분비하는 각종 영양원을 세균이 이용하여 성장하기 때문인 것으로 생각할 수 있다(1, 13).

분리균주는 *A. cylindrica*를 분해하는데 있어서 숙주인 *A. cylindrica*의 광합성 작용에 대해 의존적이라는 사실을 확인하였다. 이전의 연구 (15)에서 분리한 *Moraxella* sp. CK-1의 경우는 숙주의 광합성에 의존적이긴 하였지만, 빛이 없는 조건에서도 *A. cylindrica*의 성장을 어느 정도 억제한 반면 NG-2 균주는 암소에서 *A. cylindrica*의 성장 억제능을 거의 나타내지 않았다.

본 연구에서 분리한 NG-2 균주에 의한 *A. cylindrica* 분해 현상을 위상차 현미경으로 관찰한 결과 분리세균이 숙주세포의 특정 위치에 부착한 현상은 관찰되지 않았고, 진탕배양을 할 경우에도 분해활성을 나타낸다는 점에서 NG-2 균주는 *A. cylindrica*의 성장을 억제하거나 분해하는 물질을 세포외부로 분비함으로써 활성을 나타내는 것으로 생각할 수 있다. 기존에 발견된 많은 시안세균 분해세균은 숙주에 부착한 상태에서만 분해활성을 나타내는 것으로 확인된 바 있다(7, 8, 12, 19). 특히 Burnham 등 (19)이 분리한 *Myxococcus xanthus*는 시안세균 세포 표면을 들

리씨는 콜로니를 형성하여 숙주를 분해하는 것으로 알려져 있는데, 본 연구에서도 이와 유사하게 시안세균 filament를 둘러싸고 있는 세균 콜로니가 발견되었다. 하지만 이러한 콜로니 형성이 *A. cylindrica* 분해의 직접적인 원인이라 할 수는 없으며, 숙주세포가 분해되는 과정에서 일시적으로 분해세균이 filament 주위에 콜로니를 형성하는 것을 확인하였다. 이형세포는 세균의 분해작용에 대해 내성을 보였는데, 이러한 현상은 영양세포와 이형세포의 세포벽 구성성분 차이(9)에 기인한다고 생각한다.

분리한 시안세균 분해균주의 자연수계에 대한 적용 가능성을 확인하기 위하여 2004년 4월 초에 채취한 진주시의 남강물에 *A. cylindrica*와 NG-2를 접종하여 분해활성을 측정하였다. NG-2는 JM 배지에서 뿐만 아니라 남강물에서도 *A. cylindrica*에 대한 높은 분해활성을 나타내었는데, 이러한 결과는 자연수계에 분포하는 세균이 수화의 조절 인자로서 중요한 역할을 한다는 사실(18)을 뒷받침할 뿐만 아니라, 자연에서 분리하여 실험실에서 배양한 균주도 자연수계에서 수화의 조절자로서의 역할을 훌륭히 수행할 수 있고, 따라서 세균 제제를 이용한 수화 조절이 가능하다는 것을 확인할 수 있었다.

분리균주를 자연수계에 적용하기 위한 방법을 개발하기 위한 자료를 확보하기 위한 차원에서 담체에 분리세균을 부착한 후 *A. cylindrica* 분해활성을 확인하였다. 본 연구에서 담체로 사용한 발포 bead는 그 자체만으로도 *A. cylindrica* 성장 억제능이 우수하였으며, 분해세균을 부착하였을 경우에는 분해세균만 처리하였을 경우에 비해 *A. cylindrica* 분해속도가 훨씬 빨라지는 것을 알 수 있었다.

이상의 결과에서 확인한 바와 같이 본 연구에서 분리한 NG-2 균주는 수화발생수역의 pH와 유사한 pH 9.0 이상에서도 잘 자라고, 세포외부로 *A. cylindrica*의 성장 억제물질들을 분비하며, 별도의 영양염류를 전혀 첨가되지 않은 강물에서도 *A. cylindrica*의 성장을 효과적으로 억제할 뿐만 아니라, polystyrene 재질의 발포 bead와 같은 담체에 부착할 경우에는 더 효과적으로 분해활성을 나타낸다는 사실 등으로부터 시안세균에 의한 수화의 세균학적 조절자로 응용할 수 있는 가능성이 매우 높은 것으로 생각된다.

감사의 말

이 연구는 환경부 차세대 환경기술개발사업(02-1-06-3-007)과 한국과학재단 목적기초연구(R01-2000-000-00068-0) 지원으로 수행되었으며, 연구비 지원에 감사드립니다.

참고문헌

- Baldi F., A. Minacci, A. Saliot, L. Mejanelle, P. Mozetic., V. Turk, and A. Malej. 1997. Cell lysis and release of particulate polysaccharides in extensive marine mucilage assessed by lipid biomarkers and molecular probes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 153, 45-57.
- Burnham J.C., S.A. Collart, and B.W. Highison. 1981. Entrapment and lysis of the cyanobacterium *Phormidium luridum* by aqueous colonies of *Myxococcus xanthus* PCO2. *Arch. Microbiol.* 129, 285-294.
- Burnham J.C., T. Stetak, and G. Locher. 1976. Extracellular lysis of the blue-green algae *Phormidium luridum* by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J. Phycol.* 12, 306-313.
- Carmichael W.W. 1994. The toxins of cyanobacteria. *Sci. Am.* 270, 64-72.
- Codd G.A. 2000. Cyanobacterial toxins, the perception of water quality, and the prioritisation of eutrophication control. *Ecological Engineering* 16, 51-60.
- Daft M.J., S. McCord, and W.D.P. Stewart. 1973. The occurrence of blue-green algae and lytic bacteria at a waterworks in Scotland. *Water Treat. Exam.* 22, 114-124.
- Daft M.J., S.B. McCord, and W.D.P. Stewart. 1975. Ecological studies on algal-lysing bacteria in fresh waters. *Freshwater Biol.* 5, 577-596.
- Daft M.J. and W.D.P. Stewart. 1973. Light and electron microscope observations on algal lysis by bacterium CP-1. *New Phytol.* 72, 799-808.
- Dunn J.H. and C.P. Wolk. 1970. Composition of the cellular envelopes of *Anabaena cylindrica*. *J. Bacteriol.* 103, 153-158.
- Falconer I.R. 1994. Health problems from exposure to cyanobacteria and proposed safety guidelines for drinking and recreational water, p. 3-10. In G.A. Codd, T.M. Jefferies, C.W. Keevil and E. Potter (ed.), *Detection Methods for Cyanobacterial Toxins*. The Royal Society for Chemistry, Cambridge.
- Granhall, V. and B. Berg. 1972. Antimicrobial effects of *Cellvibrio* on blue-green algae. *Arch. Mikrobiol.* 84, 234-242.
- Gromov B.V., O.G. Ivanov, K.A. Mamkaeva, and I.A. Avilova. 1972. A flexibacter that lyses blue-green algae. *Microbiology* 41, 952-956.
- van Hannen E.J., G. Zwart, M.P. van Agterveld, H.J. Gons, J. Ebert, and H.J. Laanbroek. 1999. Changes in bacterial and eukaryotic community structure after mass lysis of filamentous cyanobacteria associated with viruses. *Appl. Environ. Microbiol.* 65, 795-801.
- Jochimsen E.M., W.W. Carmichael, J.S. An, D.M. Cardo, S.T. Cookson, C.E.M. Holmes, M.D. Antunes, D.A. de Melo Filho, T.M. Lyra, C.S.V. Barreto, S.M.D.O. Azevedo, and W.R. Jarvis. 1998. Liver failure and death after exposure to microcystins at a haemodialysis center in Brazil. *New Engl. J. Med.* 338, 873-878.
- Kim C.H., and Y.K. Choi. 1998. The effect of environmental factors on the lytic activity of *Moraxella* sp. CK-1 against *Anabaena cylindrica*. *Korean J. Limnol.* 31, 54-61.
- Kim J.C., and M.S. Han. 2003. Identification of alga-lytic bacteria AK-07 and its enzyme activities associated with degradability of cyanobacterium *Anabaena cylindrica*. *Korean J. Limnol.* 36, 108-116.
- Kiviranta J., K. Sivonen, K. Lahti, R. Luukkainen, and S.I.N. Helsinki. 1991. Production and biodegradation of cyanobacterial toxins-a laboratory study. *Arch. Hydrobiol.* 121, 281-294.
- Lee R.E. 1989. *Phycology*, 2nd ed., p. 55-101. Cambridge University Press, New York.
- Martin E.L., J.E. Leach, and K.J. Kuo. 1978. Biological regulation of bloom-causing blue-green algae, p. 62-67. In M.W. Loutit and J.A.R. Miles (ed.), *Microbial Ecology*. Springer-Verlag, Berlin.
- Millie D.F., C.M. Hersh, and C.P. Dionigi. 1992. Simazine-induced inhibition in photoacclimated populations of *Anabaena circinalis*(Cyanophyta). *J. Phycol.* 28, 19-26.
- Mitsutani A., A. Uchida, and Y. Ishida. 1987. Occurrence of blue-green algae and algal lytic bacteria in lake Biwa. *Bull. JSME* 2, 21-

- 28.
22. Ohtake A., M. Shirai, T. Aida, N. Mori, K. Harada, K. Matsuura, M. Suzuki, and M. Nakano. 1989. Toxicity of *Microcystis* species isolated from natural blooms and purification of the toxin. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 3202-3207.
23. Reynolds C.S., and A.E. Walsby. 1975. Water-blooms. *Biol. Rev.* 50, 437-481.
24. Reysac S.J. and M. Pletikosic. 1990. Cyanobacteria in fish ponds. *Aquaculture* 88, 1-20.
25. Rinehart K.L., M. Namikoshi, and B.W. Choi. 1994. Structure and biosynthesis of toxins from blue-green algae (cyanobacteria). *J. Appl. Phycol.* 6, 159-176.
26. Sallal A.K.J. 1994. Lysis of cyanobacteria with *Flexibacter* spp. isolated from domestic sewage. *Microbios* 77, 57-67.
27. Schreiter P.P.-Y., O. Gillor, A. Post, S. Belkin, R.D. Schmid, and T.T. Bachmann. 2001. Monitoring of phosphorus bioavailability in water by an immobilized luminescent cyanobacterial reporter strain. *Biosensors and Bioelectronics* 16, 811-818.
28. Shilo M. 1970. Lysis of blue-green algae by *Myxobacter*. *J. Bacteriol.* 104, 453-461.
29. Sivonen K., S.I. Niemelä, R.M. Niemi, L. Lepistö, T.H. Luoma, and L.A. Räsänen. 1990. Toxic cyanobacteria (blue-green algae) in Finnish fresh and coastal waters. *Hydrobiologia* 190, 267-275.
30. Stewart J.R., and R.M. Brown. 1971. Algicidal non-fruiting myxobacteria with high G+C ratios. *Arch. Mikrobiol.* 80, 176-190.
31. Stewart W.D.P., and M.J. Daft. 1977. Microbial pathogens of cyanophycean blooms, p. 177-218. In Droop M.R. and H.W. Kanasch (ed.), *Advances in Aquatic Microbiology*. Academic Press, London.
32. Walker H.L., and L.R. Higginbotham. 2000. An aquatic bacterium that lyses cyanobacteria associated with off-flavor of channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Biological Control* 18, 71-78.
33. Yoshikawa K., K. Adachi, M. Nishijima, T. Takadera, S. Tamaki, K.-I. Harada, K. Mochida, and H. Sano. 2000. β -Cyanoalanine production by marine bacteria on cyanide-free medium and its specific inhibitory activity toward cyanobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 718-722.

(Received April 13, 2004/Accepted May 27, 2004)

ABSTRACT : Bacteriological Control of Cyanobacterial Bloom.

Chul Ho Kim*, O Seob Kwon¹ and Jin Ae Lee¹ (Department of Microbiological Engineering, Jinju National University, Jinju, 660-758, Korea and ¹Division of Environmental Science and Engineering, Inje University, Kimhae, 621-749, Korea)

A Gram (-), rod-shaped bacterium in size of $1.3\sim 1.8 \times 0.35 \mu\text{m}$ inhibiting the growth of cyanobacterium (*Anabaena cylindrica*) was isolated and designated NG-2 in this manuscript. This isolate showed positive reactions for catalase and oxidase, and optimal growth conditions of $35\sim 40^\circ\text{C}$ and pH 9.0. In a mixed-culture of *A. cylindrica* and the isolate, each microorganism grew inverse-proportionally, and the cyanobacterial vegetative cells almost completely disappeared within 24 hours. NG-2 lysed *A. cylindrica* only under light, which means that lytic activity of NG-2 was dependent on the photosynthetic activity of host. When observed under phase contrast microscope, the isolate lysed vegetative cells of *A. cylindrica* in scattered state in a liquid medium, whereas heterocysts have not been lysed. When cyanobacterial cell walls have been lysed partly, NG-2 attached around *A. cylindrica* filament and formed colony, then encouraged complete lysis of cyanobacterial cells. The isolate showed similar lytic activity in natural water as in an artificial medium. And lytic activity of NG-2 was enhanced when attached on expandable polystyrene bead.