

Free Access

독도 해역 초미소남세균 다양성의 계절적 변동

최동한^{1,2} · 안성민¹ · 최유리¹ · 노현수³ · 노재훈^{1,4,*}

¹한국해양과학기술원 생태기반연구센터
²과학기술연합대학원대학교 해양생명공학전공
³한국해양과학기술원 동해연구소 독도전문연구센터
⁴과학기술연합대학원대학교 해양생물학전공

Seasonal Variation of Picocyanobacterial Community Composition in Seawaters Around Dokdo, Korea

DONG HAN CHOI^{1,2}, SUNG MIN AN¹, YU RI CHOI¹, HYUN SOO ROH³ AND JAE HOON NOH^{1,4,*}

¹Marine Ecosystem and Biological Research Center, Korea Institute of Ocean Science and Technology (KIOST),
787 Haean-ro, Sangnok-gu, Ansan-si, Gyeonggi-do 15627, Korea

²Department of Marine Biotechnology, University of Science and Technology, 217 Gajeong-ro, Yuseong-gu, Daejeon 34113, Korea

³Dokdo Research Center, East Sea Research Institute, Korea Institute of Ocean Science and Technology (KIOST),
48, Haeyangscience-gil, Jukbyeon-myeon, Uljin-gun, Gyeongsangbuk-do 36315, Korea

⁴Department of Marine Biology, University of Science and Technology, 217 Gajeong-ro, Yuseong-gu, Daejeon 34113, Korea

초미소식물플랑크톤은 지름 3 μm 이하의 작은 크기에도 불구하고 열대 외양 뿐만 아니라 온대의 연안 해역에서도 일차생산자로서 중요한 기능을 한다. 초미소식물플랑크톤 중 *Synechococcus*와 *Prochlorococcus*는 현재까지 20여개 및 10여개 이상의 clade가 확인되어 유전적 다양성이 매우 높고, 주요 clade들의 생물지리학적 분포 및 생태적 특성도 잘 알려져 있다. 본 연구는 계절적 변동이 뚜렷하고, 난류와 한류의 영향으로 다양한 물리적 특성이 나타나는 독도 주변 해역에서 초미소남세균의 개체수 및 유전적 다양성을 조사함으로써, 독도 주변 해역에서 초미소남세균 다양성의 분포 특성과 환경과의 연관성을 이해하고자 하였다. *Synechococcus* 개체수는 겨울에 낮고 수온이 점차 증가함에 따라 지속적으로 증가한 후 20 °C 이상에서 포화되는 양상을 보였다. 반면, *Prochlorococcus*는 대부분의 시기에 나타나지 않거나, 소수로 출현하는 것으로 파악되었다. 그러나, 여름에는 HLII 생태형에 속하는 *Prochlorococcus*가 약 7%정도까지 출현하였다. 봄과 초여름에 초미소남세균의 개체수는 주로 저온성인 *Synechococcus* clade I과 IV의 성장에 의해 증가되는 것으로 나타났으며, 이후 8월에는 난수와 빈영양 환경을 선호하는 clade II를 포함한 다양한 clade의 *Synechococcus*가 이들을 대체하며 높은 개체수를 유지하는 양상을 보였다. 그러나 하계에도 엽록소 최대층에서는 수온이 9~17 °C 정도로 낮아 여전히 저온성 clade I과 IV가 우점하였다. 엽록소 최대층에서 *Synechococcus* 개체수 증가에 수온 이외에 수층의 안정도도 중요한 요인으로 나타났으며, *Synechococcus*의 다양성도 대체로 수온 분포에 의해 잘 설명될 수 있었으나, 물리적 특성이 다른 수괴의 유입과 혼합도 다양성의 분포를 결정하는 중요한 요인으로 파악되었다. 따라서, 독도 주변해의 부유성 생물의 생태를 이해하기 위해서는 계절적 환경 변동뿐만 아니라 다양한 물리적 과정도 고려되어야 할 것으로 보인다.

Picophytoplankton, a group of tiny microorganisms of less than 3 μm , play an important role as a major primary producer in tropical open ocean as well as temperate coastal waters. Until now, more than 20 and 10 clades of *Synechococcus* and *Prochlorococcus*, respectively, have been identified in various marine environments, and its biogeographical distribution have been well studied as well as ecological niches of its major clades. To understand a distribution of diverse picocyanobacterial clades and environmental factors regulating their distribution, picocyanobacterial abundance and genetic diversity was investigated in adjacent waters of Dokdo showing diverse physical properties not only by seasonal variation but also by diverse physical processes. *Synechococ-*

cus abundances were low in winter and then exponentially increased as water temperature increased up to 20 °C. Above 20 °C, the abundances tended to be saturated. On the contrary, *Prochlorococcus* was undetected or occupied a minor fraction of picocyanobacteria in most seasons. In summer, however, *Prochlorococcus* belonging to HLII ecotype occupied a significant fraction (up to 7%) of picocyanobacteria. In spring and early summer, the steep increase of *Synechococcus* abundances were resulted from growth of cold water-adapted *Synechococcus* belonging to clades I and IV. In summer, diverse *Synechococcus* clades including warm and pelagic water-favoring clade II tended to replace clades I and IV with maintaining high abundance. The water-column stability as well as temperature were found to be important factors regulating the *Synechococcus* abundances. Moreover, inflow and mixing of distinct water masses with different origins exerted significant influence on the composition of *Synechococcus* in the study area. Thus, physical processes as well as natural seasonal variation of environmental factors should be considered to better understand ecology of planktonic organisms around Dokdo.

Key words: Diversity, Dokdo, East Sea, picocyanobacteria, *Prochlorococcus*, *Synechococcus*

서 론

지름 3 μm 이하의 크기를 갖는 초미소식물플랑크톤은 크게 초미소남세균(picocyanobacteria)과 광합성 초미소진핵생물(photosynthetic picoeukaryotes)로 나뉜다. 초미소남세균 중 *Synechococcus*와 *Prochlorococcus*는 해양에서 가장 우점하며, 해역 및 시기에 따라 차이는 있지만, 해양 생태계에서 중요한 일차생산자로 이미 잘 알려져 있다(Li, 1994; Liu et al., 1997; Teira et al., 2005). *Prochlorococcus*는 열대 및 아열대의 빈영양성 외양 해역에서 일차생산자 중 가장 우점하나 연안 해역에서는 거의 나타나지 않는 특성을 보인다(Partensky et al., 1999; Choi et al., 2011). 반면 *Synechococcus*는 빈영양성 외양 환경에서는 *Prochlorococcus*에 비해 100여배까지 그 수가 매우 낮으나, 용승 해역이나 연안의 증영양 및 부영양 해역에서 높은 수로 나타나며 적도부터 극지에 이르는 넓은 해역에 분포하는 특성이 있다(Partensky et al., 1999; Zwirgmaier et al., 2007, 2008).

한반도 주변해역에서 초미소남세균의 분포 연구는 2000년대 중반에 flow cytometry를 이용하여 시작되었으며, 초미소남세균의 분자생물학적 방법을 이용한 계통적 다양성 연구도 2000년대 후반에 본격적으로 시작되었다(Noh et al., 2005; Choi and Noh, 2006, 2009; Choi, 2012; Choi et al., 2013). 이들 연구를 통해 동중국해와 동해에서 분리된 *Synechococcus* 균주들의 계통적 다양성 연구가 행해졌으며(Choi and Noh, 2006, 2009), 차세대 대량 염기서열 분석법의 하나인 pyrosequencing 방법을 이용하여 하계 동중국해 북부 해역 및 동중국해와 동해 초미소남세균 다양성의 계절적 분포 특성을 규명할 수 있었다(Choi, 2012; Choi et al., 2013). 이들 연구를 통해 한반도 주변해에 다양한 clade에 속하는 초미소남세균이 분포하고, 수온 및 영양염 등이 다양성 분포를 결정하는데 중요한 요인임을 밝혀냈다. 또한 서로 다른 물리·화학적 특성을 갖는 다양한 수괴의 영향을 받는 한반도 주변해에서 수괴의 유입과 혼합 등의 물리적 과정이 초미소남세균 다양성의 공간 분포의 결정에 중요함을 규명하였다.

독도 주변해는 동한난류와 북한한류에 의해 형성되는 극전선의 위치, 난수성 또는 냉수성 소용돌이의 발생 및 이동에 의해 해류 분포와 해양학적 현상이 영향을 받는 것으로 알려져 있다(Mitchell et al., 2005). 또한 상층 해수의 수온 및 염분은 계절에 따라 유입되는 대마난류수와 동중국해 및 남해의 저염수의 유입량 등에 의

해서도 영향을 받는다(해양연구원, 2005). 독도 주변해 부유생물의 시·공간적 분포는 온대 해역의 계절 변동에 따른 물리·화학적 특성 변화와 함께 이들 해류들의 복잡한 분포 양상에 의해 변화할 것으로 여겨진다. 하지만, 미시적 규모에서의 식물플랑크톤 군집 조성 변동과 물리적 과정에 대한 연구는 거의 수행되지 않았다.

본 연구는 독도 주변해에서 초미소남세균의 개체수 분포와 16S-23S rDNA 염기서열 분석을 통해 독도 주변 유광대 수층에서 초미소남세균의 계절 및 수심에 따른 분포 특성과 이러한 변화에 영향을 미치는 환경적 요인을 이해하고자 하였다.

재료 및 방법

연구 해역, 시기 및 채수

본 연구는 울릉도와 독도를 잇는 조사선 위의 5개 정점에서 2010년 2월과 10월, 2011년 7월, 2012년 5월과 8월 그리고 2013년 4월까지 총 6회에 걸쳐 연구선인 이어도호를 이용하여 수행되었다(Fig. 1). 조사는 표층과 SCM(subsurface chlorophyll maximum)의 두 층에서 행해졌다. SCM 층은 CTD(conductivity-temperature-depth) 장치에 함께 장착된 형광측정기를 이용하여 실시간으로 확인하였고, 채수는 로켓에 부착된 니스킨 채수기를 이용하였다. 수층의 혼합이 활발하여 SCM층이 발달하지 않은 2월과 4월에는 수심 20 m의 시료를 분석하였다.

엽록소 *a* 및 초미소식물플랑크톤 개체수

엽록소 *a*는 90% 아세톤으로 추출한 후 형광광도계(AU-10, Turner Designs)를 이용하여 측정하였다(Parsons et al., 1984). 엽록소 *a* 측정을 위해 현장에서 500 ml의 시료를 GF/F 여과지(25 mm 지름, Whatman)에 여과한 후, 여과지를 액체질소에 보관하였다. 초미소플랑크톤의 엽록소 *a* 농도는 중력 방식으로 3 μm의 폴리카보네이트 여과지에 여과한 해수를 이용하여 측정하였다.

초미소식물플랑크톤의 개체수는 flow cytometer(Accuri, BD Biosciences)를 이용하여 계수하였다. 엽록소 *a*의 붉은 색과 phycoerythrin의 오렌지색 형광 세기로 *Synechococcus*와 광합성 진핵생물을 구분하여 계수하였다. *Prochlorococcus*는 약한 형광과 낮은 개체수로 flow cytometer로 계수하지 못하였으며, 염기서열 분석을 통해 얻어진 *Synechococcus*와 *Prochlorococcus*의 염기서열 비율과 *Synechococcus* 개체수를 이용하여 추정하였다.

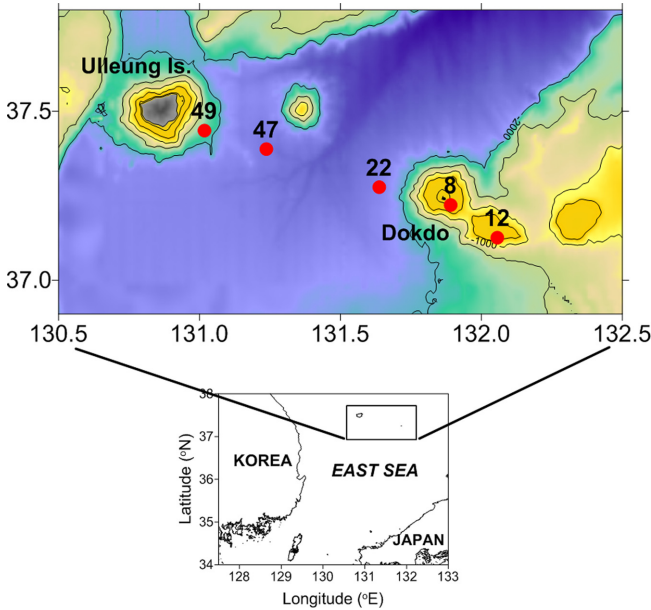


Fig. 1. Map showing the study area. Contour lines denote water depth.

DNA 정제 및 PCR 증폭

DNA 추출을 위해 2 l의 해수를 현장에서 0.2 μm의 Supor 여과지(47 mm 지름, Gelman Sciences)를 이용하여 여과한 후, 여과지를 1 ml의 STE 완충액(100 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA; pH 8.0)에 넣어 액체 질소에 보관하였다. DNA의 추출 및 정제는 lysozyme, SDS 및 proteinase K로 세포를 용해시킨 후 DNeasy blood and tissue kit(Qiagen)을 이용하였다(Choi et al., 2015).

초미소남세균의 유전적 다양성은 16S-23S ITS 염기서열 분석을 통해 수행되었다. 시료 중 정점 8과 47의 대부분 시료와 다른 정점의 일부 시료는 Pyrosequencing(GS-FLX Junior, 454 Life Sciences)을 이용하여 염기서열을 분석하였으며, 나머지 시료는 MiSeq (Illumina) 플랫폼을 이용하였다(Fig. 3 참고). Pyrosequencing을 위한 프라이머 및 PCR 증폭 과정은 Choi et al.(2013)을 따라 수행하였다. MiSeq 분석에는 pyrosequencing과 동일한 초미소남세균 특이적인 프라이머가 사용되었으며, 어댑터와 인덱스는 MiSeq 매뉴얼(Illumina, 2013)에 제시된 염기서열을 사용하였다. MiSeq 분석을 위해 특이적 프라이머를 이용한 첫 번째 PCR 증폭에는 pyrosequencing과 동일한 증폭 과정을 따랐으며, 이후의 PCR 정제 및 두 번째 인덱스 PCR 과정은 MiSeq 매뉴얼(Illumina, 2013)을 따랐다. 두 번째 PCR 산물은 AMPure XP beads(Beckman Coulter Inc.)를 이용하여 최종 정제하였고, nanodrop 1000 (Thermo Scientific)을 이용하여 정량하였다. 각 시료마다 동일한 양을 취해 모은 후, MiSeq 2×300 PE를 이용하여 염기서열을 분석하였다. Pyrosequencing과 MiSeq 분석은 천랩(주)에서 수행하였다.

염기서열 및 통계 분석

얻어진 염기서열은 mothur 프로그램(Schloss et al., 2009)을 이용하여 분석하였다. 바코드 (pyrosequencing) 또는 인덱스 (MiSeq) 서열을 이용하여 ‘mismatch=0’의 조건 하에서 얻어진 염기서열을 시료별로 구분하였다. 제공한 프라이머 서열과 일치하지 않은 염

기서열은 추가로 제거되었다. 그 밖의 PCR 및 시퀀싱 과정에서 발생하는 여러 및 chimera 제거 등의 과정은 Choi et al.(2013)의 방법을 따랐다. 최종적으로 얻어진 염기서열의 정렬 및 clade를 구분하는 방법, 사용된 데이터베이스 그리고 각 clade 사이의 계통학적 관계는 Choi et al.(2013)에 제시되었다. 직선회귀 분석 및 다중회귀분석은 PASW Statistics 18 프로그램을 이용하였다(SPSS, 2009). 한편, SCM 층에서 수층 안정도는 SCM 수심의 5 m 아래와 5 m 위 수심에서의 sigma-t의 차이를 10으로 나눈 값을 이용하여 계산하였다.

결과 및 토의

수온 및 염분 분포

연구 기간 동안 각 조사 정점의 표층과 SCM 층에서 수온은 8.2~28.0 °C로 계절에 따라 큰 변이를 나타내었다(Fig. 2). 수직 혼합이 활발하여 수온약층이 발달하지 않은 2월과 4월에는 각각 9.4~11.1 °C와 8.2~11.0 °C 범위를 보여 정점 및 수심에 따른 변이가 크지 않았다. 5월에 성층이 점차적으로 형성되기 시작하였으며, 7월과 8월에는 강한 성층이 나타나 표층과 SCM 층 사이 수온 차이가 각각 9 °C와 14 °C로 컸다. 11월 조사에는 성층이 다시 약화되어 대부분 정점에서 표층과 SCM 층 사이의 수온이 1 °C 정도의

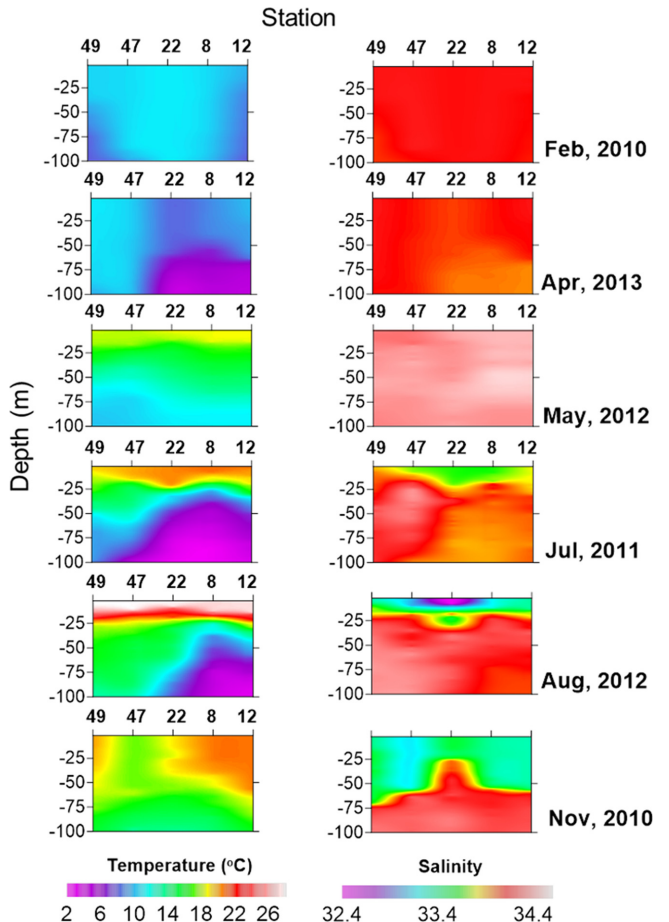


Fig. 2. Contour plots showing temperature and salinity in surface water of the study area.

작은 차이를 보였다. 그러나 11월에 정점 47의 표층에서 독도 및 울릉도에 인접한 정점에 비해 2°C 이상 낮은 수온을 보여 정점 간 변이가 비교적 크게 나타났으며, 정점 8에서는 표층과 SCM 층 사이에 2°C 정도의 수온 차이가 나타나, 물리·화학적 성질이 다른 수괴들이 연구 해역에 존재함을 시사하였다.

염분은 32.5~34.5 범위의 변이를 나타냈다(Fig. 2). 2월과 4월에는 50 m 이내의 수층에서 34.1~34.2로 대체로 높고 균일한 범위의 염분을 나타냈으며, 5월에는 34.3~34.5로 시기적으로 가장 높은 값을 보였다. 표층 염분은 7월에 33.6~33.9로 감소하였으며, 8월에는 32.5~33.4까지 떨어졌다. 11월에는 표층과 SCM 층 모두에서 33.2~33.5 범위의 낮은 염분을 나타냈다. 하계와 추계에 표층에서의 낮은 염분은 동중국해와 남해로부터의 저염수가 쿠로시오와 함께 독도 해역까지 유입된 결과로 여겨진다(KORDI, 2005).

엽록소 a 분포

엽록소 a는 0.1~2.3 µg l⁻¹ 범위의 넓은 변이를 나타내었다(Table 1). 시기적으로는 4월에 표층과 SCM 모든 층에서 1.0~1.9 µg l⁻¹로 높았으며, 8월에는 표층에서 0.1 µg l⁻¹로 가장 낮고 SCM 층에서 1.0~2.3 µg l⁻¹로 높아 수심에 따라 큰 차이를 보였다. 7월에도 표층에 비해 SCM 층에서 높은 엽록소 a 농도를 보였으나, 성층이 약한 11월과 2월에는 두 층에서 유사한 농도를 보였다. 엽록소 a 중 3 µm 이하의 초미소식물플랑크톤이 차지하는 비율은 평균 51% (21~94% 범위)를 나타내어 많은 시기에 초미소식물플랑크톤이 일차생산자로서 중요한 역할을 함을 시사하였다(Table 1). 시기적으로는 7월에 평균 65%로 가장 높았으며, 4월에 평균 40%로 가장 낮았는데, 수층 혼합에 의해 영양염의 공급이 활발한 춘계에는 엽록소 a에 대한 초미소식물플랑크톤의 기여도가 낮았으나, 성층의 발달로 표층으로 영양염 공급이 제한된 7월과 8월의 표층에서 상

Table 1. Chlorophyll a (chl a), percentage of pico-sized chl a, *Synechococcus* abundance (SYN) and percentage of *Prochlorococcus* (PRO) among picocyanobacteria in surface and subsurface chlorophyll maximum (SCM) depths

| Month, Year | Station | Surface | | | | SCM | | | | |
|-------------|---------|-----------------------------|-----------|---|-------------------|-----------------|-----------------------------|-----------|---|-------------|
| | | Chl a (µg l ⁻¹) | | SYN (×10 ⁴ ml ⁻¹) | % of PRO* | Depth (m) | Chl a (µg l ⁻¹) | | SYN (×10 ⁴ ml ⁻¹) | % of PRO |
| | | Total | % of Pico | | | | Total | % of Pico | | |
| Feb, 2010 | 12 | 1.1 | 46 | 0.2 | n.d. [†] | 20 [‡] | 0.8 | 54 | 0.3 | n.d. |
| | 8 | 0.5 | 55 | 0.1 | n.d. | 20 [‡] | 0.5 | 57 | 0.1 | n.d. |
| | 22 | 0.5 | 44 | 0.1 | 0.01 | 20 [‡] | 0.6 | 34 | 0.1 | n.d. |
| | 47 | 0.5 | 55 | 0.1 | n.d. | 20 [‡] | 0.5 | 69 | 0.1 | n.d. |
| | 49 | 0.4 | 59 | 0.1 | 0.01 | 20 [‡] | 0.6 | 47 | 0.1 | n.d. |
| Apr, 2013 | 12 | 1.7 | 36 | 1.9 | n.d. | 20 [‡] | 1.8 | 38 | 1.6 | n.d. |
| | 8 | 1.8 | 29 | 0.8 | n.d. | 20 [‡] | 1.9 | 27 | 0.7 | n.d. |
| | 22 | 1.4 | 24 | 0.9 | n.d. | 20 [‡] | 1.3 | 43 | 0.9 | n.d. |
| | 47 | 1.0 | 51 | 0.8 | n.d. | 20 [‡] | 1.0 | 56 | 0.5 | n.d. |
| | 49 | 1.1 | 49 | 0.5 | n.d. | 20 [‡] | 1.1 | 45 | 0.6 | 0.10 |
| May, 2012 | 12 | 0.2 | 57 | 2.3 | n.d. | 45 | 1.1 | 26 | 3.0 | n.d. |
| | 8 | 0.2 | 33 | 2.3 | n.d. | 45 | 0.9 | 24 | 1.2 | n.d. |
| | 22 | 0.1 | 72 | 5.2 | 0.05 | 45 | 1.3 | 59 | 10.8 | 0.02 |
| | 47 | 0.2 | 38 | 1.8 | n.d. | 37 | 0.7 | 65 | 3.4 | 0.18 |
| | 49 | 0.2 | 34 | 3.1 | n.d. | 49 | 0.8 | 35 | 7.7 | n.d. |
| Jul, 2011 | 12 | 0.2 | 35 | 0.2 | 0.02 | 45 | 0.8 | 72 | 1.3 | n.d. |
| | 8 | 0.1 | 79 | 0.6 | n.d. | 30 | 1.0 | 66 | 2.3 | n.d. |
| | 22 | 0.1 | 73 | 1.7 | n.d. | 40 | 1.0 | 56 | 2.5 | n.d. |
| | 47 | 0.2 | 82 | 0.5 | n.d. | 40 | 0.7 | 38 | 1.7 | 0.25 |
| | 49 | 0.3 | 94 | 2.4 | 0.08 | 28 | 0.8 | 59 | 3.4 | n.d. |
| Aug, 2012 | 12 | 0.1 | 34 | 0.8 | 0.15 | 38 | 1.7 | 66 | 23.9 | n.d. |
| | 8 | 0.1 | 50 | 0.4 | 2.17 | 45 | 1.5 | 55 | 6.4 | n.d. |
| | 22 | 0.1 | 50 | 0.9 | 0.21 | 30 | 2.3 | 21 | 6.3 | 0.02 |
| | 47 | 0.1 | 63 | 1.9 | 1.88 | 40 | 1.8 | 25 | 1.7 | n.d. |
| | 49 | 0.1 | 56 | 2.5 | 7.09 | 45 | 1.0 | 26 | 1.3 | 0.26 |
| Nov, 2010 | 12 | 0.7 | 49 | 4.6 | n.d. | 20 | 0.7 | 62 | 3.7 | 0.03 |
| | 8 | 0.6 | 69 | 5.6 | 0.01 | 50 | 0.6 | 78 | 2.6 | 2.25 |
| | 22 | 1.0 | 44 | 3.8 | 0.02 | 10 | 0.6 | 60 | 3.3 | 0.72 |
| | 47 | 0.8 | 70 | 8.4 | 0.24 | 30 | 0.9 | 64 | 6.8 | 0.23 |
| | 49 | 0.8 | 55 | 4.2 | 0.72 | 25 | 0.9 | 47 | 3.5 | 0.18 |

*Data were obtained from 16S-23S ITS sequence analyses (see Fig. 3).

[†]Not detected or less than 0.01% of total cyanobacterial sequences.

[‡]As SCM depth was not developed due to active water mixing, samples from 20 m were collected instead.

대적으로 낮은 영양염 농도에 유리한 초미소식물플랑크톤의 기어도가 증가한 것으로 여겨진다.

초미소남세균 개체수

연구 기간 동안 *Synechococcus* 개체수는 표층과 SCM 층에서 각각 $0.1\sim 8.4\times 10^4$ cells ml^{-1} 과 $0.1\sim 23.9\times 10^4$ cells ml^{-1} 범위를 보여, 두 층에서 유사하거나 SCM 층에서 다소 높은 경향을 나타내었다 (Table 1). 동중국해와 울릉분지에서 수행된 기존 연구에서 *Synechococcus* 개체수는 20 °C 이하에서 수온이 증가함에 따라 지속적으로 증가한 후, 점차로 포화되는 경향을 나타낸 바 있다(Choi et al., 2013). 이와 유사하게 본 연구의 표층 시료에서도 *Synechococcus* 개체수는 10 °C 내외의 낮은 수온을 보인 2월에 0.1×10^4 cells ml^{-1} 로 낮았으나, 18~19 °C 정도의 수온을 나타낸 5월에는 평균 3.0×10^4 cells ml^{-1} 로 높아져 수온의 상승이 *Synechococcus* 개체수 증가에 중요한 요인임을 알 수 있었다(Table 1). 그러나, 7월과 8월에 표층 *Synechococcus* 개체수는 $0.2\sim 2.5\times 10^4$ cells ml^{-1} 범위로 낮아지다가 11월에 다시 평균 5.3×10^4 cells ml^{-1} 로 증가하였는데, 이는 하계에 발달된 수온 약층에 의해 표층으로 영양염 공급이 부족하여 *Synechococcus*의 성장이 제한되었기 때문으로 여겨진다. SCM 층에서도 2월부터 5월까지 수온이 평균 10 °C에서 14 °C로 증가함에 따라 *Synechococcus* 개체수도 평균 0.2×10^4 cells ml^{-1} 에서 2.6×10^4 cells ml^{-1} 로 10배정도 증가하였다. 그러나, 7월과 8월에는 강한 성층으로 SCM층의 수온이 9~16 °C 범위로 낮았음에도 불구하고 *Synechococcus* 개체수는 $1.3\sim 23.9\times 10^4$ cells ml^{-1} 로 매우 높은 범위의 값을 나타내어, 수온 이외에 *Synechococcus* 개체수의 증가에 중요한 요인이 있음을 시사하였다. 하계에 밀도약층의 하부에 주로 형성되는 SCM 층은 하층으로부터 확산에 의해 무기영양염이 공급되고, 동계에 비해 수층이 안정적이기 때문에 아래층과의 혼합이 상대적으로 적어 지속적인 광합성이 가능할 것으로 여겨진다. 실제로 SCM 층 시료에서 수온은 *Synechococcus* 개체수와 통계적으로 유의한 양의 관계를 보였으나 r^2 값은 0.19로 낮았다 (Table 2). 그러나, SCM 수심 주변에서의 수층안정도 변수를 추가한 다중회귀분석에서 r^2 값이 0.42로 크게 증가하여, 수층 안정성이 *Synechococcus* 개체수 증가를 유지하는 중요한 요인으로 나타났다. 이는 20 °C 이하의 낮은 수온에서도 적절한 영양염과 광량이 제공된다면 저온에 적응한 *Synechococcus*가 빠르게 성장할 수 있음을 보여준다(Fig. 3의 5월 자료 참조). 한편, 독도 주변 해역에서 *Prochlorococcus*는 대부분의 시기에 나타나지 않거나 초미소남세균 군집의 1%미만을 차지하는 것으로 나타났다(Table 1). 그러나, 8월에 표층에서 0.2~7% 정도를 차지하여 11~1,900 cells ml^{-1} 정도의 개체수를 보일 것으로 추정되었는데, 이는 8월에 독도 주변 해역에서 수행된 다른 연구에서 qPCR(quantitative PCR) 방법으로 *Prochlorococcus* HLII 생태형의 개체수를 정량하여 얻어진 80~1,300 cells ml^{-1} 범위와 유사하였으며(미발표자료), 독도

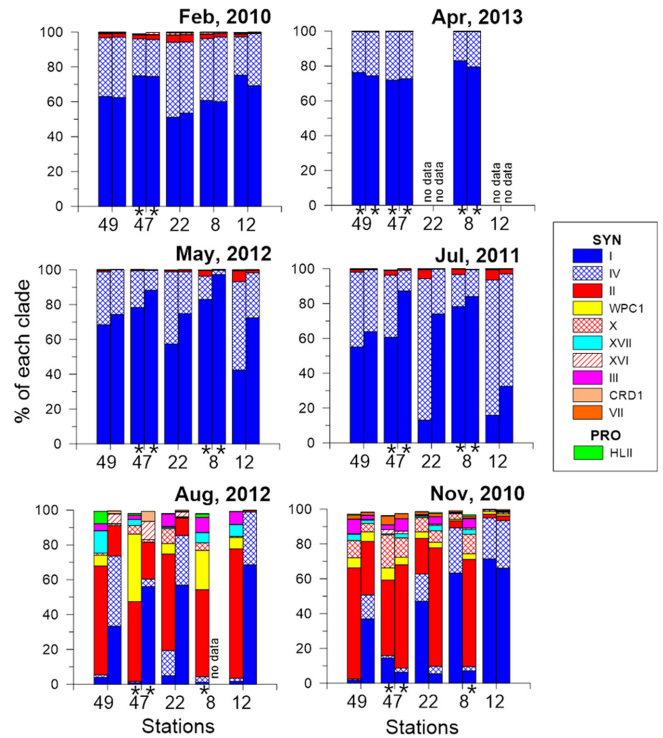


Fig. 3. Percent contribution of sequences belonging to each clade among picocyanobacterial sequences obtained from the surface (left bar) and SCM (right bar) depths of each station. Asterisk-marked and unmarked samples were sequenced by pyrosequencing and MiSeq methods, respectively. The minor clades (<5% in all samples) were not shown. PRO: *Prochlorococcus*, SYN: *Synechococcus*.

주변 해역에서 *Prochlorococcus*의 생태적 역할이 *Synechococcus*에 비해 크지 않음을 시사한다.

초미소남세균의 다양성

Pyrosequencing 및 MiSeq 분석에 의해 최종적으로 총 165만 여 개의 염기서열이 얻어졌다. Pyrosequencing 방법에 의해서는 시료당 평균 887개의 염기서열이 얻어졌으며 MiSeq 방법에 의해서는 시료당 평균 52,700여개의 염기서열이 얻어져 시료별 염기서열의 수는 분석 방법에 따라 큰 차이를 나타내었다. 그러나, pyrosequencing 방법으로 시료당 얻어진 염기서열 수의 최저값도 489개로 적지 않았으며 인접한 정점에서 MiSeq 방법에 의해 얻어진 군집 조성과도 큰 차이를 보이지 않아, 30여개의 clades로 나뉘지는 초미소남세균의 군집 조성 연구에 분석 방법의 차이에 의한 편차는 크지 않은 것으로 판단되었다(Fig. 3 참조). 한편, 본 연구에서 얻어진 염기서열은 GenBank의 SRA 데이터베이스에 등록되었다(SRA, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/sra>; accession number SRP065056).

Table 2. Results of regression analyses conducted using the data from subsurface chlorophyll maximum depths

| Y-variable | X-variable | Regression Equation | r^2 | p |
|--------------------------------|------------------------------|--|-------|---------|
| <i>Synechococcus</i> abundance | X: Temperature | Log Y = 0.074 X + 3.229 | 0.19 | 0.015 |
| <i>Synechococcus</i> abundance | X ₁ : Temperature | Log Y = 0.063 X ₁ + 13.32 X ₂ + 3.11 | 0.42* | < 0.001 |
| | X ₂ : Stability | | | |

*adjusted- r^2

연구 해역에서 대부분의 시기에 상대적으로 저온을 선호하는 *Synechococcus*로 알려진 clade I과 IV가 가장 우점하였으며, 난수성이며 대부분의 해역에서 가장 우점하는 *Synechococcus*인 clade II가 8월과 11월에 표층 및 SCM 층에서 우점하는 양상을 보였다 (Fig. 3; Zwirgmaier et al., 2007, 2008; Choi et al., 2013).

8월과 11월에는 clade II 이외에 WPC1, X, XVII, XVI, III, CRD1 및 VII 등 다양한 clade가 최소 한 시료 이상에서 5% 이상의 비율로 나타나 비교적 높은 다양성을 나타내었다. 8월에는 정점 22를 제외한 15.0~16.6 °C 범위의 수온을 나타낸 SCM 층에서 저온성인 clades I과 IV가 우점한 가운데 난수성 clades II와 chromatic adaptation이 가능한 clade XVI이 10~30% 정도의 비율로 함께 나타났다. 이는 발달된 성층에도 불구하고 표층과 SCM 층 사이에 미생물을 운반하는 과정(침강 등)이 활발하게 일어났거나, 낮은 수온에도 불구하고 chromatic adaptation으로 다양한 광조건에 적응할 수 있는 *Synechococcus*가 SCM 층에서 다른 clade 보다 경쟁적으로 유리하게 성장하였을 가능성을 시사한다(Fuller et al., 2003; Ahlgren & Rocap, 2006).

앞에서 본 바와 같이 *Synechococcus* 개체수는 동계와 초봄에 낮았다가 5월에 크게 증가하여 이후 포화되는 양상을 나타내었으며, 표층에서는 하계에 감소하고 저층에서 다소 증가하는 양상을 나타내었다(Table 1). 개체수 변동과 군집 조성의 변동을 볼 때, 독도 주변 해역에서 춘계에 시작된 *Synechococcus* 개체수의 증가가 저온성인 clades I과 IV의 성장과 동반되며, 이후 SCM 층에서도 이들의 성장이 개체수의 유지에 중요했다. 반면, clade II를 포함한 난수성 *Synechococcus*는 하계에 표층에서 중요한 생태적 역할을 함을 알 수 있었다. 따라서, 이들 clade의 생리·유전적 특성의 이해가 독도 주변을 포함한 온대 연안역의 *Synechococcus*의 생태 및 기능을 이해하는데 중요할 것으로 여겨진다.

한편, 11월에 *Synechococcus* 군집 조성은 정점과 수심에 따라 큰 차이를 나타내었다(Fig. 3). 특히, 20.6 °C 정도의 수온을 보인 정점 12의 표층과 SCM, 그리고 정점 8의 표층에서 저온성인 clades I과 IV가 90%이상을 차지하여 유사한 수온을 보인 7월과 대체로 비슷한 군집 조성을 나타내었으나, 정점 47의 표층과 SCM 층에서는 수온이 17.3 °C 정도로 낮았음에도 불구하고 clades I과 IV의 합은 각각 16%와 8%로 낮은 반면, 난수성인 clade II가 각각 43%와 59%로 높게 나타났다. 이러한 특이적인 군집 분포는 11월에 독도 주변의 복잡한 물리적 특성이 반영된 결과로 여겨진다. 즉, 늦가을에 독도와 울릉도 연안에 수직적으로 잘 혼합된 20 °C 정도의 수온이 유지되어 저온성인 clades I과 IV가 상대적으로 우점하는 환경이 유지되었을 것이다. 이때, 난수성인 clade II가 우점하고 높은 개체수를 갖는 난류와 낮은 수온으로 clades I과 IV가 우점하나 개체수가 낮은 한류가 만나 형성된 극전선역의 수괴가 정점 47를 중심으로 유입되어(Fig. 2), 정점 47에서 가장 높은 clade II의 비율이 나타났으며, 이 수괴의 영향으로 정점 22와 정점 8의 SCM 층에서도 clade II가 높은 비율을 차지하였을 가능성이 있다. 유사하게 제주도 동쪽 해역에서 겨울에 16 °C의 낮은 수온에도 불구하고 쿠로시오 난류의 영향으로 70%정도의 높은 clade II가 나타나, 수괴의 혼합과 이류 등의 물리적 과정이 다양성 분포에 중요함을 제시한 바 있다(Choi et al., 2013). 이러한 점에서 볼 때 초미소남세균 개체수 뿐만 아니라 다양성 분포에도 수온 등의 물리적 환경 요인과 수괴

의 이동과 혼합 등의 물리적 과정도 매우 중요한 것으로 보인다.

최근에 대서양과 태평양에서 얻어진 자료로부터 *Synechococcus* clade 중 I과 IV는 저온의 중영양 해역, 그리고 clade II, III과 X은 빈영양 난수성 외해역에서 우점하며, clade CRD1과 CRD2는 가용한 철의 농도가 낮은 해역에 제한적으로 나타난다고 보고되었다(Sohm et al., 2015). 본 연구에서 8월과 11월에 표층에서는 clade II가 우점하는 가운데 WPC1, X, XVII 및 III이 clade에 따라 최대 9~38%까지 높은 비율로 출현하였다(Fig. 3). 그 중 WPC1은 엽록소 농도가 0.1 mg l⁻¹ 정도로 낮은 8월에 38%까지의 높은 점유율을 보였으며, clade XVII도 13%의 비율로 출현하여, WPC1과 XVII이 빈영양 난수 환경에 잘 적응하는 *Synechococcus*임을 시사하였다. 반면, 11월에는 clade X이 WPC1과 XVII 보다 높은 비율로 출현하여, 수온 감소 및 약화된 성층에 의해 증가된 영양염 공급 등 다양한 환경 요인에 의해 각 clades의 상대적 분포가 달라짐을 알 수 있었다.

*Prochlorococcus*는 HLII 생태형이 초미소남세균의 7%까지 나타났다으며, 그 밖의 생태형은 1% 미만으로 나타났다(Fig. 3). 울릉분지 등에서 수행된 이전 연구에서 하계와 추계에 약 40%까지의 높은 비율로 *Prochlorococcus* HLII가 우점한(Choi et al., 2013) 것에 비하면 *Prochlorococcus*의 점유율은 독도 주변 해역에서 상대적으로 낮게 나타났다. *Prochlorococcus*는 한반도 주변해역에 영향을 주는 쿠로시오 난류에서 가장 우점하는 초미소남세균으로 연안역에서는 그 수가 급격히 감소하는 경향을 나타낸 점을 고려하면(Choi et al., 2011), 이러한 낮은 *Prochlorococcus*의 비율은 대마난류수의 영향이 인접한 울릉분지에 비해 독도 주변 해역에서 상대적으로 크지 않을 가능성을 시사한다.

결론

독도 주변해역에서 초미소식물플랑크톤의 엽록소 양은 총 엽록소 a의 평균 51%를 차지하여 일차생산에 중요한 역할을 하는 것으로 나타났다으며, 여러 초미소식물플랑크톤 중 *Synechococcus*는 대부분의 시기에 가장 우점하였다. 20여개의 *Synechococcus* clade 중 대부분의 시료에서 저온성인 clades I과 IV가 가장 우점하였으며, 하계의 표층과 추계의 일부 시료에서는 난수와 빈영양 환경을 선호하는 clade II, WPC1 및 X 등이 높은 비율로 출현하여 시기에 따라 군집 조성이 크게 변화하는 양상을 나타냈다. *Synechococcus*의 개체수와 군집 조성의 변동에 수온이 중요한 요인의 하나로 나타났다으나, 수층의 안정화 및 수괴의 혼합과 같은 물리적 과정도 개체수의 변동과 군집 조성을 결정하는데 매우 중요한 것으로 파악되었다. 쿠로시오 난류의 영향을 받는 해역에서 상대적으로 높게 출현하는 *Prochlorococcus*는 하계에 초미소남세균의 약 7%를 차지하였으나, 대부분의 시기에 나타나지 않거나 1% 미만의 낮은 비율을 보여 독도 주변 해역에서 소수만 출현하였다.

사사

본 연구는 한국해양과학기술원의 주요과제(PE99319) 및 해양수산부의 ‘독도의 지속가능한 이용연구(PG48910)’의 지원에 의해 수행되었습니다. 이에 감사드립니다.

참고문헌(References)

- Ahlgren, N.A. and G. Rocop, 2006. Culture isolation and culture-independent clone libraries reveal new marine *Synechococcus* ecotypes with distinctive light and N physiologies. *Appl Environ Microbiol* **72**: 7193–7204.
- Choi, D.H. 2012. Picocyanobacterial diversity and distribution during summer in the northern East China Sea. *Ocean & Polar Res* **34**: 19–28.
- Choi, D.H. and J.H. Noh, 2009. Phylogenetic diversity of *Synechococcus* strains isolated from the East China Sea and the East Sea. *FEMS Microbiol Ecol* **69**: 439–448.
- Choi, D.H. and J.H. Noh, 2006. Molecular phylogenetic analyses of three *Synechococcus* strains isolated from seawater near the Ieodo Ocean Research Station. *Ocean Sci J* **41**: 315–318.
- Choi, D.H., J.H. Noh and J. Shim, 2013. Seasonal changes in picocyanobacterial diversity as revealed by pyrosequencing in temperate waters of the East China Sea and the East Sea. *Aquat Microb Ecol* **71**: 75–90.
- Choi, D.H., J.H. Noh, M.-S. Hahm, and C.M. Lee, 2011. Picocyanobacterial abundances and diversity in surface water of the northwestern Pacific Ocean. *Ocean Sci J* **46**: 265–271.
- Choi, D.H., K.T. Park, S.M. An, K. Lee, J.C. Cho, J.H. Lee, D. Kim, D. Jeon and J.H. Noh, 2015. Pyrosequencing revealed SAR116 clade as dominant *dddP*-containing bacteria in oligotrophic NW Pacific Ocean. *PLoS ONE* **10**: e0116271.
- Fuller, N.J., D. Marie, F. Partensky, D. Vaultot, A.F. Post, D.J. Scanlan, 2003. Clade-specific 16S ribosomal DNA oligonucleotides reveal the predominance of a single marine *Synechococcus* clade throughout a stratified water column in the Red Sea. *Appl Environ Microbiol* **69**: 2430–2443.
- Illumina, 2013. 16S metagenomic sequencing library preparation. http://support.illumina.com/downloads/16s_metagenomic_sequencing_library_preparation.html.
- KORDI, 2005. A study on marine ecosystem of Dokdo (final report). pp 121-156.
- Li WKW, 1994. Primary Production of Prochlorophytes, Cyanobacteria, and eukaryotic ultraphytoplankton-Measurements from Flow cytometric sorting. *Limnol Oceanogr* **39**: 169–175.
- Liu, H.B., H.A. Nolla, and L. Campbell, 1997. *Prochlorococcus* growth rate and contribution to primary production in the equatorial and subtropical North Pacific Ocean. *Aquat Microb Ecol* **12**: 39–47.
- Mitchell, D.A., D.R. Watts, M. Wimbush, W. J. Teague, K.L. Tracey, J.W. Book, K.I. Chang, M.S. Suk, and J.H. Yoon, 2005. Upper circulation patterns in the Ulleung Basin. *Deep-Sea Res II* **52**: 1617–1638.
- Noh, J.H., S.J. Yoo, J.A. Lee, H.C. Kim, and J.H. Lee, 2005. Phytoplankton in the waters of the Ieodo Ocean Research Station determined by microscopy, flow cytometry, HPLC pigment data and remote sensing. *Ocean & Polar Res* **27**: 397–417.
- Parsons, T.R., Y. Maita, and C.M. Lalli, 1984. A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon, Amsterdam.
- Partensky, F., W.R. Hess, and D. Vaultot, 1999. *Prochlorococcus*, a marine photosynthetic prokaryote of global significance. *Microbiol Mol Biol Rev* **63**: 106–127.
- Schloss, P.D., S.L. Westcott, T. Ryabin, J.R. Hall, and M. Jartmann, 2009. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl Environ Microbiol* **75**: 7537–7541.
- Sohm, J.A., N.A. Ahlgren, Z.J. Thomson, C. Williams, J.W. Moffett, M.A. Saito, E.A. Webb, and G. Rocop, 2015. Co-occurring *Synechococcus* ecotypes occupy four major oceanic regimes defined by temperature, macronutrients and iron. *ISME J* doi:10.1038/ismej.2015.115.
- SPSS, 2009. PASW Statistics 18 Release 18.0.0.
- Teira, E., B. Mourino, E. Maranon, V. Perez, M.J. Pazo, P. Serret, de D. Armas, J. Escanez, E.M.S. Woodward, and E. Fernandez, 2005. Variability of chlorophyll and primary production in the Eastern North Atlantic Subtropical Gyre: potential factors affecting phytoplankton activity. *Deep-Sea Res I* **52**: 569–588.
- Zwirgmaier, K., J.L. Heywood, K. Chamberlain, E.M.S. Woodward, M.V. Zubkov, and D.J. Scanlan, 2007. Basin-scale distribution patterns lineages in the Atlantic Ocean. *Environ Microbiol* **9**: 1278–1290.
- Zwirgmaier, K., L. Jardillier, M. Ostrowski, S. Mazard, L. Garczarek, D. Vaultot, F. Not, R. Massana, O. Ulloa, and D.J. Scanlan, 2008. Global phylogeography of marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus* reveals a distinct partitioning of lineages among oceanic biomes. *Environ Microbiol* **10**: 147–161.

2015년 10월 23일 원고접수

2015년 11월 11일 수정본 접수

2015년 11월 12일 수정본 채택

담당편집위원: 박종규