

2006-1-69

## 남극 호냉성 미세조 *Porosira pseudodenticulata*의 형태와 분자적 자료

정웅식 · 주형민 · 홍성수 · 강재신 · 최한구 · 강성호\*

(한국해양연구원 부설 극지연구소)

### Morphology and Molecular Data for Antarctic Cryophilic Microalga, *Porosira pseudodenticulata*

Woongsic Jung, Hyoung Min Joo, Sung Soo Hong,  
Jae-Shin Kang, Han-Gu Choi and Sung-Ho Kang\*

Korea Polar Research Institute,  
7-50 Songdo-dong, Yeosu-si, Incheon, 406-840, Korea

We have cultured more than 100 Arctic and Antarctic cryophilic microalgal strains in KOPRI culture collections of polar microorganisms (KCCPM). Among them, we tried to identify an Antarctic strain, KOPRI AnM0008 by morphological and molecular analysis. Nuclear SSU rDNA and plastid *rbcL* sequences were used to identify the strain. It was identified as *Porosira pseudodenticulata* based on SSU sequence data showing 99% identity with GenBank X85398. This result was supported by morphological features like solitary labiate process, external foramina and internal cribra by optical and scanning electron microscope. Morphological identification and molecular analysis on polar cryophilic microalgae will be accomplished to construct the databases for KCCPM.

**Key Words:** cryophilic microalgae, molecular analysis, *Porosira pseudodenticulata*, *rbcL*, SSU rDNA

## 서론

남극은 지구에서 다섯 번째로 큰 대륙이며, 일년 내내 낮은 기온과 강한 바람이 존재하는 지역이다. 북극 역시 남극과 유사한 환경을 가지고 있고, 이러한 극한의 환경에서 많은 생물들이 살아가고 있다.

남극해의 경우 일사량의 연중 변화가 커서 해빙 분포의 계절적 변화가 심해 식물플랑크톤의 생물량 및 생장률이 시간적, 공간적으로 해빙의 분포에 큰 영향을 받는다(강 등 2000). 식물플랑크톤 중 해빙에 존재하는 규조류를 호냉성 규조류라 하고 이 규조류는 해수 유빙의 아래 표면 또는 내부에 노란색에서 갈색을 띠고 있으며, 중심규조보다 우상구조가 우점하고 있다. 최근 남극해에 생육하는 호냉성 규조류인 *Naticula glacialis*와 *N. penninuta*에 대한 형태학적, 생태학적 연구(Kang *et al.* 1999)와 북극 지역의 미세조류의 분류와 생

물리학적 특성 등에 대한 조사(Thomas *et al.* 2000)가 진행된 바 있으나, 남극해에서 발견되는 미세조류의 형태와 분자계통학적 연구는 현재까지 활발하게 연구되고 있지 않다.

본 연구에서는 극지에 생육하고 있는 호냉성 미세조류들의 분자 계통학적 유연관계를 알아보고자 핵의 SSU rDNA (small subunit ribosomal DNA)와 엽소체의 *rbcL* (ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase large subunit) 유전자의 염기서열을 분석하였다. SSU는 핵의 리보솜 생성의 정보를 가지고 있는 유전자로서 진핵생물에 대한 분자계통학적 연구에 널리 사용되고 있다(Medlin *et al.* 1996; Kühn *et al.* 2000; Kühn *et al.* 2004). *rbcL* 유전자는 광합성 식물의 캘빈 회로에서 CO<sub>2</sub>를 고정하는 기작에 관여하는 효소로서 엽소체를 갖고 있는 식물과 조류의 분자계통학적 연구에 널리 사용되고 있다(Bouquet *et al.* 1992; Miller *et al.* 1998; McCourt *et al.* 2000; 남과 이 2001; Draisma *et al.* 2001; Lindstrom and Fredericq 2003; Savolainen and Chase 2003).

본 연구의 목적은 현재 한국해양연구원 부설 극지연구소 미세조류 저온배양실에서 배양 중인 100여 종류의 극지 호냉

\*Corresponding author (shkang@kopri.re.kr)

**Table 1.** Six primers for partial *rbcL* sequences used in this study

Primer name	Primer sequence	bp	Tm(°C)
Dia-F1	5'-ATG TCT CAA TCT GTA TCA GA-3'	20	40.4
Dia-R1	5'-TTA CCA GAT AAA CCT AAT TT-3'	20	40.3
Dia-F2	5'-TTA TTA GGT GCW* ACW* GTA AA-3'	20	49.9
Dia-R2	5'-AAA CCT TTA ATC ATT AAA GG-3'	20	42.6
Dia-F3	5'-GCG TAI GTC TGG TGT AGA-3'	18	42.5
Dia-R3	5'-TAT CTT TCC ATA AAT CTA A-3'	19	36.0

\* W means A+T nucleic acids.

성 미세조류 중 KOPRI AnM0008(이하 AnM0008) 시료를 대상으로 외부 형태와 미세구조를 관찰하고, 분자적 동정을 위하여 핵의 SSU와 색소체의 *rbcL* 유전자 염기서열을 결정하고, 이들 염기서열 자료의 유전자의 유용성을 비교·검토하며, 대상종 및 근연종들과의 계통학적 유연관계를 파악하기 위함이다.

## 재료 및 방법

### 호냉성 미세조류의 채집

AnM0008은 2000년 남극 하계연구 기간 중 남극 세종기지 부두 앞에서 망록 크기 20  $\mu\text{m}$ 의 식물플랑크톤 망을 사용하여 채집하였다. 채집된 시료들은 순수 분리하여 한국해양연구원 부설 극지연구소 미세조류 저온배양실에서 배양하였다.

### 호냉성 미세조류의 형태 관찰

AnM0008의 동정 및 이미지를 얻기 위해 광학현미경과 주사전자현미경을 사용하였다. 시료의 동정을 위해 슬라이드 글라스 위에 일정량을 떨어뜨린 뒤 커버 글라스를 덮고 광학현미경 BX-51(OLYMPUS)에서 400-1000배의 배율로 관찰하였다. 또한 시료의 미세구조를 관찰하기 위하여 1% glutaraldehyde 고정 후 탈염한 뒤  $\text{OsO}_4$ 로 후고정하고, 에탄올로 탈수단계를 거쳐서 임계점 건조를 실시하였다. 건조된 시료는 specimen mounts에 고정하여 gold-palladium으로 coating(BIO-RAD, SEM Coating System, P5100) 후 주사전자현미경(SEM 515, Philips)으로 검경 및 동정하였다.

호냉성 미세조류의 SSU rDNA 및 *rbcL* 유전자 염기서열 분석

극지연구소 미세조류 저온배양실에서 배양중인 AnM0008 10 mL를 배양튜브에 넣어 12,000 rpm으로 3분간 원심분리한 후 튜브 하부에 모인 세포들을 제외한 나머지 상층액을 제거한 뒤, PBS buffer 1 mL을 넣고 vortexing하는 방법으로 배지 내의 염분을 제거하였다. 이후 Accuprep genomic DNA extraction kit (Bioneer)를 사용하여 전체 DNA를 추출하였

다. 전체 DNA의 상태를 확인하기 위해 EtBr를 첨가한 0.8% agarose gel에 전기영동하였고, 그 농도를 측정하기 위해 spectrophotometer(ND-1000, Nanodrop)를 사용하였다.

SSU rDNA는 2쌍의 프라이머(Saunders and Kraft 1994) 조합을 사용하여 두 부분으로 증폭되었다. *rbcL* 유전자 증폭을 위해서 총 8개의 염기서열 (Genbank ID: AY571744, AY571748, AY571749, AY571750, AY571751, AY571752, AY571753, AY571755)을 입수하여 이들의 *rbcL* 유전자 염기서열을 ClustalX ver. 1.81(Thompson *et al.* 1997) 컴퓨터 프로그램으로 정렬하고 Primer3 ver. 0.2(Rozen and Skaletsky 2000)를 이용하여 프라이머를 선별하였다. 약 1500 bp의 염기서열로 예상되는 *rbcL* 유전자를 크게 세 부분으로 나누어 총 6개의 프라이머를 제작하였다(Table 1). PCR 반응액으로 Perfect Premix ver. 2.1(Takara)을 사용하였고, TP-600(Takara)을 이용해 PCR 반응을 수행하였다. PCR 반응의 주형으로서 전체 DNA 약 300 ng을 사용하고, 정방향과 역방향의 프라이머 각각 20 pmol씩 반응 튜브에 넣었다. 최종 반응액은 3차 증류수를 이용해 50  $\mu\text{L}$ 로 맞추었다. 적합한 PCR 반응조건을 위하여 최초에 온도구배 PCR을 수행하였는데, 중합온도를 40°C, 43°C, 45°C, 50°C로 하였다. PCR 반응은 최초 변성을 95°C에서 10분간 수행하고, 36회 반복적으로 변성 95°C로 1분, 중합 과정은 온도구배로 1분, 신장은 72°C로 1분간 수행하였다. 이후 최종 신장 과정은 72°C에서 10분간 수행하고 이후 4°C로 반응온도를 낮추어 PCR 반응을 마쳤다. 반응산물의 증폭여부를 확인하기 위하여 EtBr이 함유된 0.8% agarose gel로 전기영동하였다. 정확하게 증폭된 PCR 반응산물은 Accuprep PCR purification kit(Bioneer)를 사용하여 정제하였다.

*rbcL* 유전자의 경우, 총 3개의 PCR 반응산물은 TOPO TA Cloning kit(Invitrogen)를 사용하여 클로닝(cloning)하였고, M13F(5'-GTAAAACGACGGCCAG-3'), M13R(5'-CAGGA AACAGCTATGAC-3') 프라이머와 Perfect Premix ver. 2.1(Takara)를 사용하여 벡터 내에 PCR 반응산물의 삽입 여부를 확인하는 크기결정 PCR(size check PCR)을 수행하였다. 삽입된 반응산물은 Accupower PCR purification kit(Bioneer)를 이용하여 정제하여 시퀀싱 반응의 주형으로 삼

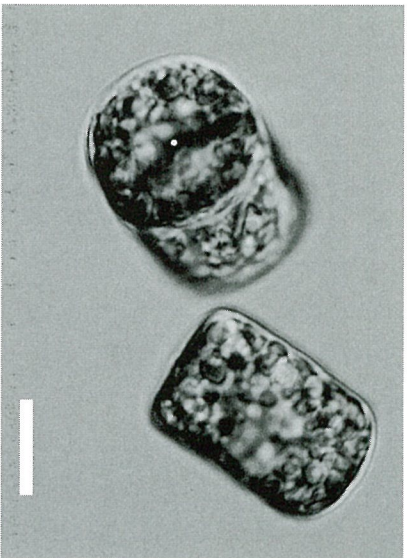


Fig. 1. Optical microscopy of KOPRI AnMM0008 (Scale bar: 10  $\mu\text{m}$ ).

았다. 시퀀싱 반응산물의 정제를 위하여 알콜 침전법을 사용하였고 ABI Prism 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) 를 사용하여 DNA 염기서열을 결정하였다.

DNA 염기서열은 DNAssist 프로그램 (ver. 2.2, <http://www.dhassist.org>)와 SeqEd™ 프로그램 (ABI) 을 사용하여 수정한 후 완성시켰다. 완성된 염기서열은 Clustal X 프로그램 (ver. 1.64b, Thompson et al. 1997) 을 사용하여 정렬시킨 후 MacClade 프로그램 (ver. 4.06, Maddison and Maddison 2003) 에서 염기서열의 변화를 관찰하였다. *rbcL* 유전자의 경우, 제작한 프라이머의 대상 유전자가 *rbcL* 유전자가 맞는지 확인하기 위하여 GenBank 내의 *blastn*에 염기서열을 등록하여 다른 생물들의 *rbcL* 염기서열 자료와 비교하였다.

AnMM0008과 연관성이 높은 종들의 염기서열을 확보하기 위하여 *blastn search*를 수행하였고, 이 종들에 대한 분자학적 유연관계를 파악하기 위하여 PAUP\* 프로그램 (ver. 4.0 beta 10, Swofford 2002) 을 사용하였다. 분석방법으로 최대유사분석 (ML, maximum likelihood analysis: 1000 rounds of bootstrap) 과 최대절약분석 (MP, maximum parsimony analysis: R=10, 1000 rounds of bootstrap) 그리고 근린결합분석 (NJ, neighbor-joining analysis: 1000 rounds of bootstrap) 을 수행하였다. 최대유사분석과 근린결합분석에서는 Modeltest 프로그램 (v.3.06, Posada and Crandall 1998) 을 사용하여 각 분자 자료를 위한 최적의 진화모델을 결정하고 분석에 적용하였다.

## 결 과

### 호냉성 미세조류의 형태

형태학적으로 AnMM0008은 단독, 혹은 뚜껑면 (valve) 에 접액성분의 실에 의해 서로 연결되어 사슬형태의 모양이었다 (Figs 1, 2). 뚜껑면은 원형이고 직경은 35-70  $\mu\text{m}$ 이며, 두께 축 (peralvar axis) 은 10-25  $\mu\text{m}$ 이었다. 10  $\mu\text{m}$  내에 망목

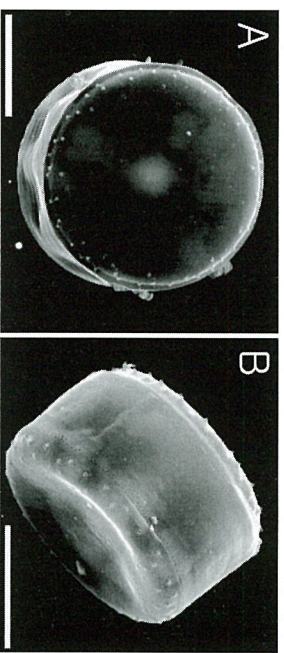


Fig. 2. Scanning electron microscopy (SEM) of KOPRI AnMM0008. Scale bars: 10  $\mu\text{m}$ . A, valve view; B, girdle view.

(areolae) 은 9-10개로 관찰되었다. 망목 (areolation) 은 방사상이며 점무늬열 (striae) 은 나선형이었다. 외부는 소실개구 (foramina) 이며 내부는 다공사막 (cribra) 으로 되어 있었다. 입술돌기 (labiate process) 는 내부경계 근처에 단 하나가 관찰되었다. 엽록체는 작고 원반모양이며 다수 존재하였다. 이러한 형태학적 특징은 Tomas (1997) 와 Scott와 Marchant (2005) 의 문헌 중, *Porosira pseudodenticulata* (Hustedt) Jouse의 형태적 특징과 잘 일치하였다.

호냉성 미세조류의 SSU rDNA 및 *rbcL* 유전자 염기서열

SSU rDNA 염기서열 분석: 분석된 AnMM0008의 SSU rDNA의 염기서열은 총 1805 bp로 구성되었으며 이를 GenBank에 등록시켰다 (GenBank ID: DQ436461). Blastn search 결과 총 9개의 종과 연관성이 높은 것으로 나타났다 (Table 2). 그 중 *Porosira pseudodenticulata*와 99% (598/604) 의 상동성이 있는 것으로 확인되었고, 정렬자료를 분석한 결과 5개의 염기에서 차이를 확인하였다 (Fig. 3). Position 1176-1177에서 두 개의 치환 (T $\rightarrow$ C와 G $\rightarrow$ T) 을 확인하였고, position 576에서는 gap 대신 G(Guanine)를 확인하였다. 특히 X89598의 염기서열에서 position 673-674의 R은 AnMM0008에서 A(Adenine)와 G(Guanine)로 결정하였다.

GenBank의 자료 중 AnMM0008의 SSU의 염기서열과 유사도가 비교적 높은 10개의 자료를 내려받아 총 11개의 염기서열 자료로 구성된 분류군에 1345개의 염기쌍으로 구성된 SSU의 정렬자료를 분석에 사용하였다 (Table 2). *Galeitinium rugatum*과 *Peridinium balticum*을 외군으로 하는 최대유사계통수에 최대유사분석, 최대절약분석, 근린결합분석의 bootstrap value를 표시하였다 (Fig. 4A). AnMM0008과 *P. pseudodenticulata*는 위의 3가지 분석의 bootstrap value가 모두 100으로 강하게 지지되는 단일 계통군을 형성하였다. 이들은 강하게 지지되는 *Detonula confervacea/Skeletonema costatum/Thalassiosira nordenskioldii*의 계통군과 강하게 연관된 저매군 (sister group) 을 형성하였다. *Galeitinium rugatum*과 *Peridinium balticum*이 외군으로 형성되었고, 최대유사분석, 최대절약분석 그리고 근린결합분석에 대한 bootstrap value를

Table 2. Sources of additional SSU and *rbcL* sequence data included in the multiple alignments

Name of Taxa	SSU	<i>rbcL</i>
<i>Porosira pseudodenticulata</i> (Hustedt) Jousé	X85398	-
<i>Rhizosolenia setigera</i> Brightwell	AY485508	AF015568
<i>Detonula conferruacea</i> (Cleve) Gran	AF525672	AB018006
<i>Skeletonema costatum</i> (Greville) Cleve	AY684946	AF015569
<i>Thalassiosira nordenskioeldii</i> Cleve	DQ093365	AB018007
<i>Nitzschia longissima</i> (Brébisson in Kützing) Ralls	AY881968	AY881967
<i>Cylindrotheca closterium</i> (Ehrenberg) Lewin & Reimann	DQ178394	DQ019445
<i>Phaeodactylum tricornutum</i> Bohlin	AJ269501	AF195952
<i>Galeidinium rugatum</i> Tamura & Horiguchi	AB195668	AB195669
<i>Peridinium balticum</i> (Levander) Lemmermann	AJ231803	AB195670

X85398	GCCAAATTCGAATGAGAACAAATTTAAATCCCTTATCGAGTATCAATTTGGAGGGCAAGTCTGGTGCCAGCAGCCGCG-TAAATTCAGCTCCAATAGCGTATA	550	560	570	580	590	600				
AnM0008	.....G.....										
X85398	TTAAAAGTTGTCAGTTAAAAGCTCGTAGTGAATACTGACATAGTCCAGCATTCACCGATTCGCTGRRRCACCTTGTGTGTAFTAGGTCATTCCTT	650	660	670	680	690	700				
AnM0008	.....AG.....										
X85398	TGGGTTCCGGGGGAGTATGGTCGCAAGACTGAACAATTAAAGAAATTTGACGGAGGCCACCACGAGGAGTGGAGCTGGCGGCTTAATTTGACTCAACACG	1100	1120	1130	1140	1150	1160	1170	1180	1190	1200
AnM0008	.....CT.....										

Fig. 3. Comparison of SSU rDNA sequences between *Porosira pseudodenticulata* (X85398) and KOPRI AnM0008.

최대 유사계통수에 표시하였다(Fig. 4A). 시료인 AnM0008과 *P. pseudodenticulata*는 위의 3가지 분석의 bootstrap value가 모두 100으로 나타나 이들은 단일 계통군을 형성하였다. 이 계통군은 *Detonula conferruacea*/ *Skeletonema costatum*/ *Thalassiosira nordenskioeldii*의 계통군과 연관된 자매군(sister group)을 형성하였다.

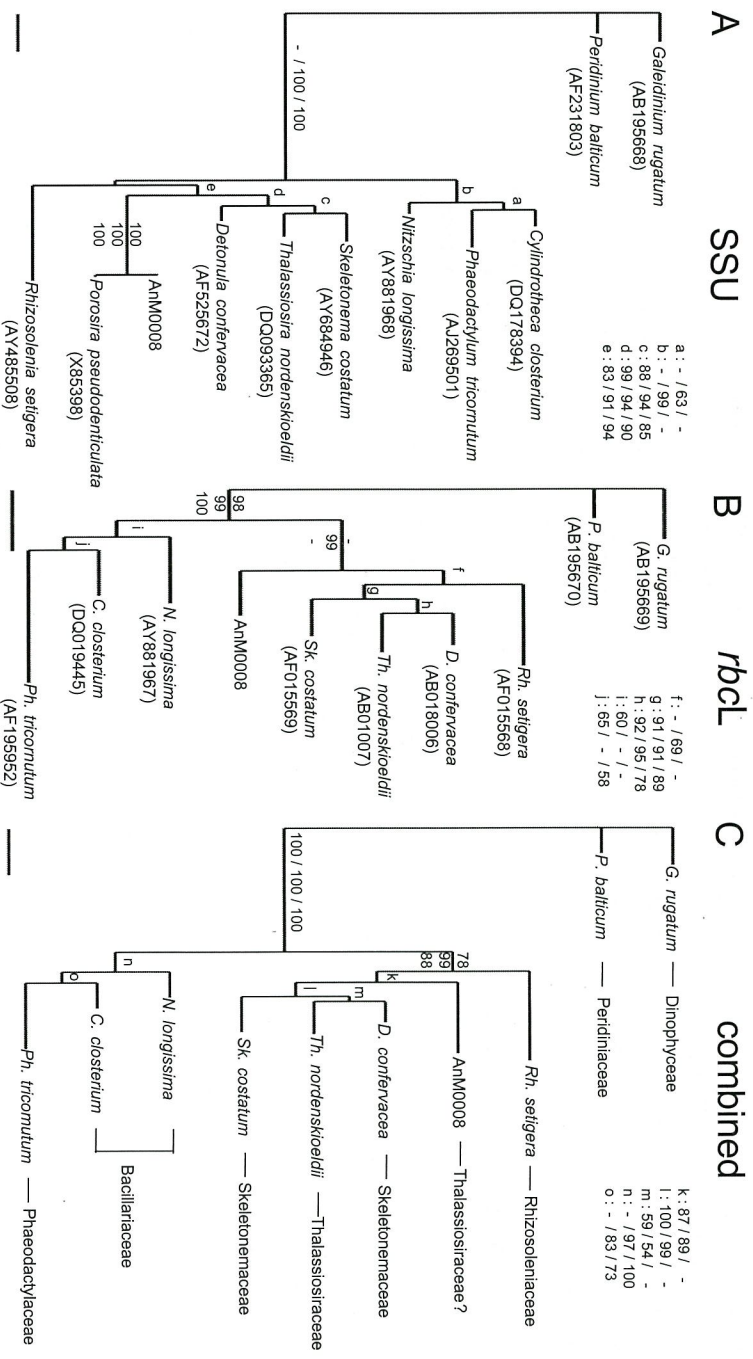
*rbcL* 유전자 염기서열 분석: 극저 호냉성 미세조류의 *rbcL* 유전자에 대해 온도구배 PCR 반응을 수행한 결과 모든 중합 온도(40°C, 43°C, 45°C, 50°C)에서 높은 강도로 증폭되었고, 정상적인 크기로 증폭되었다. 특히 중합온도 중 45°C에서의 PCR 산물이 3개의 PCR 부분에서 고르게 증폭되었다. 크기 결정 PCR 산물로 시퀀싱을 수행하고 세부문의 전체 DNA PCR 산물의 염기서열을 서로 정렬하여 *rbcL* 유전자 염기서열을 얻었다. 증폭된 *rbcL* 유전자의 염기서열의 크기는 1408 bp였으며, 이를 GenBank 내의 blastn 검색을 한 결과 다른 생물들의 *rbcL* 유전자와 최고 94%의 염기서열 상동성을 지닌 것으로 나타나, 이 유전자가 *rbcL* 유전자임을 확인할 수 있었다. 분석된 본 시료의 *rbcL* 유전자의 염기서열의 길이는 1408 bp였으며, 이를 GenBank에 등록시켰다(Genbank ID: DQ108387).

GenBank에 *P. pseudodenticulata*의 *rbcL* 염기서열이 존재하지 않아 SSU 분석에 사용하였던 9종의 *rbcL* 염기서열을 입수

하여 총 10개의 분류군에 1206개의 염기쌍으로 구성된 정렬 자료를 사용하여 이들의 유연관계를 분석하였다(Table 2). *Galeidinium rugatum*과 *Peridinium balticum*을 외군으로 하는 최대 유사계통수에 최대 유사분석, 최대절약분석 그리고 근린결합분석에 대한 bootstrap value를 최대 유사계통수에 표시하였다(Fig. 4B). 최대 유사계통수에서 AnM0008은 약하게 지지된 *Rhizosolenia setigera*/ *Detonula conferruacea*/ *Skeletonema costatum*/ *Thalassiosira nordenskioeldii*의 계통군과 강하게 연관된 자매군을 형성하였다.

SSU rDNA와 *rbcL* 유전자 염기서열의 유합자료 분석: 본 연구에 사용된 총 10개의 유합자료의 염기서열은 총 2551 bp로 구성되었다(Table 3). 유합자료의 AT ratio는 58.2%였으며 transition과 transversion 비율은 1.02로, SSU 자료보다 낮고 *rbcL* 자료보다는 높았다. Informative site의 비율은 SSU 자료가 가장 높았고 유합자료, *rbcL* 자료의 순서로 작게 나타났다. variable site의 비율 역시 informative site의 순서와 같았다. 한편, 분류군간의 변이율은 SSU 자료에서 0.2-20%, 유합자료에서 5.1-16% 그리고 *rbcL* 자료에서 5.1-13%로 분석되었다.

유합자료를 사용하여 *Galeidinium rugatum*과 *Peridinium balticum*을 외군으로 하는 최대 유사계통수에 최대 유사분석, 최대절약분석, 근린결합분석의 bootstrap value를 표시하였다



**Fig. 4.** Phylogenetic trees constructed by maximum likelihood analyses for SSU rDNA (A), TIM + I + G model), *rbcL* (B; GTR + G model) and combined (C; GTR + I + G model) alignment. Values at branches represent probabilities of maximum parsimony (left value), maximum likelihood, and distance analyses (middle and right value, respectively). The bootstrap replicates for SSU rDNA, *rbcL* and combined alignments are 1000. Scale bars = 0.05 substitutions/site.

**Table 3.** Nucleotide composition of SSU, *rbcL* and their combined sequence alignments and statistics from maximum parsimony analyses of the individual and combined SSU rDNA and *rbcL* data sets

	SSU	<i>rbcL</i>	combined
Number of taxa	11	10	10
Nucleotides (bp)	1345	1206	2551
AT Ratio (%)	54.9	62.5	58.2
Ts/Tv Ratio	1.24	0.784	1.02
Variable sites (%)	32	25	28.4
Informative sites (%)	21	14	17
Divergence between all taxa (%)	0.2 - 20	5.1 - 13	5.1 - 16
Number of MP trees	1	1	1
MP tree length	762	510	1286
Consistency index	0.782	0.680	0.733
Retention index	0.702	0.513	0.575

(Fig. 4C). 유합자료에 대한 최대유사계통수에서 AnM0008은 비교적 강하게 지지된 *Detonula confervacea/Skeletonema costatum/Thalassiosira nordenskiöldii*의 계통군과 강하게 연관된 지메군을 형성하였다.

## 고찰

현재 한국해양연구원 부설 극지연구소의 미세조류 저온배양실에는 북극 및 남극에서 채집된 100여 종류의 호냉성 미세조류가 순수 배양되고 있다. 배양 중인 미세조류는 극지에서 채집된 것으로 저온의 환경에 적응되어 있다. AnM0008은 현재 2°C에서 24시간 연속 광으로 배양 중이며, 이 종에 대한 생활물 실험이 실시되었다(해양수산부 2005). 질산염과 인산염이 과잉으로 첨가된 해수배지에서 생활물이 상승하였고, 규산염은 과잉으로 첨가되었을 때 생활물이 감소하는 것으로 나타났다. 10일 경과 후 규산염, 질산염, 인산염에 대한 클로로필 농도가 최고를 나타내고, 15일 이후부터는 감소하는 것으로 보여 AnM0008의 최적 배양일은 약 10일인 것으로 판단된다.

이러한 호냉성 미세조류의 데이터베이스화를 위하여 형태학적 동정과 함께 분자 계통학적 분석이 병행되어야 한다. 광학현미경과 주사전자현미경으로 관찰하였을 때, AnM0008은 *Porosira pseudodenticulata* (Fustedt) Jousé와 유사한 형태로 보였다. 이러한 결과는 분자적 분석을 통해 뒷받침되었다. AnM0008의 SSU 염기서열 자료 분석 결과 *P. pseudodenticulata* (X85398)와 99%의 염기서열에서 동일하였고, SSU와

*rbcL*, 그리고 유합자료의 최대유사분석 결과, AnM0008은 Skeltonemataceae과와 Thalassiosiraceae과의 근연분류군으로 확인되었다. AnM0008이 *P. pseudodenticulata*와 형태 및 형질이 잘 일치하고, SSU에서 2개의 염기 치환이 확인되어 잠정적으로 AnM0008을 *P. pseudodenticulata*로 동정하였다.

분석대상 유전자 중 SSU 정렬자료가 variable site, informative site와 taxon divergence의 비율이 *rbcL* 유전자보다 높아 분자 계통학적으로 보다 유용한 것으로 확인되었다. 남극시료인 AnM0008의 경우와 같이 양극지역의 미세조류에 대한 분자 계통학적 연구를 위한 GenBank 염기서열 자료들은 다른 분류군에 비해 비교 대상 분류군의 자료가 부족하고 염기서열 자료에 확정되지 않은 염기들이 상당수 존재하고 있어 database로서의 활용 가치가 매우 미약한 실정이다.

본 연구를 바탕으로 남극과 북극의 호냉성 미세조류를 대상으로 형태적 연구와 함께 분자 계통학적 연구를 지속적으로 병행하여 극지 미세조류에 대한 체계적인 database를 구축해야 할 것으로 생각된다.

## 사 사

이 연구는 한국해양연구원 부설 극지연구소 '극지생물체 현 및 활용기반구축(PE06060)' 사업의 일환으로 수행되었습니다.

## 참고문헌

- 강성호, 강재진, 이상훈, 김동진, 김동엽, 2000. 전 지구 환경변화에 대한 극지 식물 플랑크톤의 중요성. *Korean J. Environ. Biol.* **18**: 1-20.
- 남미라, 이옥민, 2001. 물린지말 *Staurastrum*속 식물의 *rbcL* 유전자의 염기서열과 형태적 형질의 비교 연구. *Algae* **16**: 363-367.
- 해양수산부, 2005. '04 극지 생물 활용연구 보고서. pp.135-156.
- Bouquet J., Strauss S.H., Doerksen A.H., and Price R.A. 1992. Extensive variation in evolutionary rate of *rbcL* gene sequences among seed plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **89**: 7844-7848.
- Draisma S.G.A., Reine W.F.P.V., Stam W.T. and Olsen J.L. 2001. A reassessment of phylogenetic relationships within the *Phaeophyceae* based on rubisco large subunit and ribosomal DNA sequences. *J. Phycol.* **37**: 586-603.
- Kang J.S., Kang S.H. and Lee J.H. 1999. Cryophilic diatoms *Navicula glactei* and *N. perminuta* in Antarctic coastal environment I. Morphology and Ecology. *Algae* **14**: 169-179.
- Kühn S., Lange M. and Medlin L.K. 2000. Phylogenetic position of *Cryothecomonas* inferred from nuclear-encoded small subunit ribosomal RNA. *Protist* **151**: 337-345.
- Kühn S., Medlin L. and Eller G. 2004. Phylogenetic position of the parasitoid nanoflagellate *Pirsonia* inferred from nuclear-encoded small subunit ribosomal DNA and a description of *Pseudopirsonia* n. gen. and *Pseudopirsonia*

*mucosa* (Drebes) comb. nov. *Protist* **155**: 143-156.

Lindstrom S.C. and Fredericq S. 2003. *rbcL* gene sequences reveal relationships among north-east Pacific species of *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) and a new species, *P. aestivalis*. *Phycological Research* **51**: 211-224.

Maddison D. R. and Maddison W. P. 2003. MacClade, version 4.06, Sinauer Associated, Inc., Sunderland, Massachusetts.

McCourt R.M., Karol K.G., Bell J., Helm-Bychowski K.M., Grajewska A., Wojciechowski M.F. and R.W. Hoshaw. 2000. Phylogeny of the conjugating green algae (Zygnemophyceae) based on *rbcL* sequences. *J. Phycol.* **36**: 747-758.

Medlin L.K., Kooistra W.H.C.F., Gersonde R. and Wellbrock U. 1996. Evolution of the diatoms (Bacillariophyta). II. Nuclear-encoded small-subunit rRNA sequence comparisons confirm a paraphyletic origin of the centric diatoms. *Mol. Biol. Evol.* **13**: 67-75.

Müller K.M., Sheath R.G., Vis M.L., Crease T.J. and Cole K.M. 1998. Biogeography and systematics of *Bangia* (Bangiales, Rhodophyta) based on the Rubisco spacer, *rbcL* gene and 18S rRNA gene sequences and morphometric analyses. I. North America. *Phycologia* **37**: 195-207.

Posada D. and Crandall K.A. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics* **14**: 817-818.

Rozen S. and Skaletsky H.J. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. In: Krawetz S. and Misener S. (eds), *Bioinformatics Methods and Protocols: Methods in Molecular Biology*. Humana Press. Totowa, NJ, pp. 365-386.

Saunders G.W. and Kraft G.T. 1994. Small-subunit rRNA gene sequences from representatives of selected families of the Gigartinales and Rhodymeniales (Rhodophyta). I. Evidence for the Plocamiales ord.nov. *Can. J. Bot.*, **72**: 1250-1263

Savolainen V. and Chase M.W. 2003. A decade of progress in plant molecular phylogenetics. *TRENDS in Genetics* **19**: 717-724.

Scott F.J. and Marchant H.J. 2005. *Antarctic marine protists*. ABRs, Canberra and AAD, Hobart. pp. 87-89.

Swofford D. L. 2002. PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods). version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.

Thomas L., Torsten M., Hau U.L. and Günter F. 2000. Taxonomy and biophysical properties of cryophilic microalgae and their environmental factors in northwest Spitsbergen, Svalbard. 57th Eastern Snow Conference, Syracuse, New York, USA.

Thompson J.D., Gibson T.J., Plewniak F., Jeanmougin F. and Higgins D.G. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nuc. Acids Res.* **24**: 4876-4882.

Tomas C.R. 1997. *Identifying Marine Phytoplankton*. Part I. Academic Press, San Diego. pp. 41-43.

Received 24 February 2006

Accepted 10 May 2006