

Article

노르웨이 북극다산기지 주변에 형성된 일시적 담수지의 미세조류 및 *Chlamydomonas* 18S rDNA의 유전자 특성

기장서¹ · 강성호² · 정승원¹ · 박범수¹ · 한명수^{1*}

¹한양대학교 생명과학과
(133-791) 서울 성동구 행당1동 산 17

²한국해양연구원 부설 극지연구소
(406-130) 인천시 연수구 동춘동 994번지 송도테크노파크

A Study on the Freshwater Algal Flora Occurring in Temporary Ponds around the Dasan Arctic Station, Ny-Alesund (Norway), and the Molecular Characteristics of *Chlamydomonas* 18S rDNA

Jang-Seu Ki¹, Sung-Ho Kang², Sung-Won Jung¹, Bum Soo Park¹, and Myung-Soo Han^{1*}

¹Department of Life Science, College of Natural Sciences
Hanyang University, Seoul 133-791, Korea

²Korea Polar Research Institute, KORDI
Songdo Technopark, Incheon 406-130, Korea

Abstract : Freshwater algal studies in North polar environments are relatively few. This study presented the algal-flora, -biomass and genetic features of dominant cells collected from temporary ponds around the Polar Research Station (PRS), Norway. Water samples were collected from 4 stations around PRS, and analyzed for their environmental and biological variables. Water temperature, salinity and conductivity ranged from 5 to 10°C, 0.1 to 0.3‰ and 0.21 to 0.36 $\mu\text{S}/\text{cm}$, respectively. Chlorophyll *a* concentration ranged from 1.8 to 11.1 $\mu\text{g}/\text{l}$, and that of the size-fractionated cells was recorded from 0.7 to 1.1 $\mu\text{g}/\text{l}$ in picoplankton, 0.3 to 6.5 $\mu\text{g}/\text{l}$ in nanoplankton, and 0.4 to 3.9 $\mu\text{g}/\text{l}$ in microplankton, respectively. Algal flora in the present study was recorded as 10 genera, in which *Chlamydomonas*, particularly, was dominant in all studied sites. By comparison of *Chlamydomonas* 18S rDNA sequences, including two isolates from PRS, they formed a distinct clade against others: sequence similarity was significantly low (<97.2%) with *C. noctigama*, being the highest score by BLAST search in GenBank. This study was valuable for basic knowledge regarding the freshwater algae around PRS and their genetic information.

Key words : Dasan Arctic Station, freshwater algae, biomass, *Chlamydomonas*, 18S rDNA

1. 서 론

스발바드 군도는 북위 79도에 위치하여 9개의 섬으로 이루어져 있고, 육지의 약 60%가 연중 눈과 얼음에 덮여

있다. 이곳은 접근이 상대적으로 쉬워, 빙하 및 북극과 관련된 연구가 활발하게 진행되고 있다. 북극 연구기지가 위치한 칭스 만은 스발바드 군도 스피츠베르겐 섬 서쪽 해안에 위치해 있는 전형적인 빙하피오르드 해안이다. 79°N, 12°E의 고위도 지방임에도 불구하고 따뜻한 북대서양과 걸프 해류의 영향으로 동쪽 해안에 비해 훨씬 온난

*Corresponding author. E-mail : hanms@hanyang.ac.kr

하며(Svendsen *et al.* 2002), 대서양과 유사한 해양 생물종이 출현하는 것으로 보고되어졌다. 스발바드 지역 해양과 달리 군도는 노르웨이로부터 1,000 km, 북극으로부터 900 km 정도되는 곳에 위치하고 있다. 즉, 스발바드 지역은 대륙과 뚜렷하게 분리되어 있다는 것이 특징이다.

1996년 국제 연구 프로젝트인 BIODAFF(Biodiversity and Fluxes in Arctic Glaciated Fjords)가 북극 생물에 관한 연구를 시작한 이후, 콩스피오르텐 피오르드를 중심으로 북극 생물다양성의 연구가 실시되고 있다. 특히 스발바드 지역을 중심으로 실시된 연구는 해양미생물(Soltwedel *et al.* 2000), 식물플랑크톤(Halldal and Halldal 1973; Schei *et al.* 1979; Heimdal 1983; Eilertsen *et al.* 1989; Weslawski *et al.* 1993; Wiktor 1999), 대형조류(Lippert *et al.* 2001), 동물플랑크톤(Lischka and Hagen 2005), 저서동물(Pfannkuche and Thiel 1987; Szymelfening *et al.* 1995; Lech *et al.* 2004; 김 등 2005), 어류(Nilssen and Gulseth 1998) 등 대부분 해양생물을 중심으로 실시되어 왔다.

북극 지역 육상 및 담수지와 관련된 미소생물 연구는 주로 토양미생물과 빙설조를 대상으로 연구되어 왔다(Muller *et al.* 1998; Leya *et al.* 2000; Sawstrom *et al.* 2002). 특히 Leya *et al.*(2000)은 스발바드 지역 빙하를 대상으로 호냉성 미세조류 28속 63종을 동정하여 보고하였다. 담수 미세조류에 관한 연구는 최근에 스발바드 지역 담수지를 대상으로 실시되고 있는데, Ellis-Evans *et al.*(2002)는 콩스피오르텐 지역의 수질 및 조류의 생물상을 조사하여 보고하였으며, 이후 Sawstrom *et al.*(2002)는 미세조류와 이들의 기초생산력에 관하여 보고하였다. 니알슨 주변 담수지에서 현재까지 보고된 미세조류는 *Chlamydomonas*, *Dinobryon* 및 나노 크기의 편모조류가 있다. 그러나 이들의 크기별 생물량 분포 특성 및 주요 출현 종에 관한 유전학적 정보는 미흡한 실정이다.

본 연구는 칭스만 주변 하계에 형성되는 담수지의 물리/화학적 환경특성을 파악하고, 이곳에 출현하는 미세조류의 세포 크기별 생물량을 규명하고, 주요 출현종의 ribosomal DNA(rDNA) 유전자 정보를 분석하여, 유사한 분류군 내의 분자계통학적 유연과계를 규명하였다.

2. 재료 및 방법

본 연구는 2005년 8월 12일(조사기간: 8월 8~16일) 북극 다산기지 주변에 형성된 담수지를 대상으로 실시하였다. 시료채집은 접근이 용이하고 수위가 안정된 곳을 선정하여 4개의 정점에서 실시하였다(Fig. 1). 휴대용 TS meter (YSI model 6920)를 이용하여 물리/화학적 특성으로 수온, 전도도, 염분도를 측정하였다(측정시간 오전 11~12시

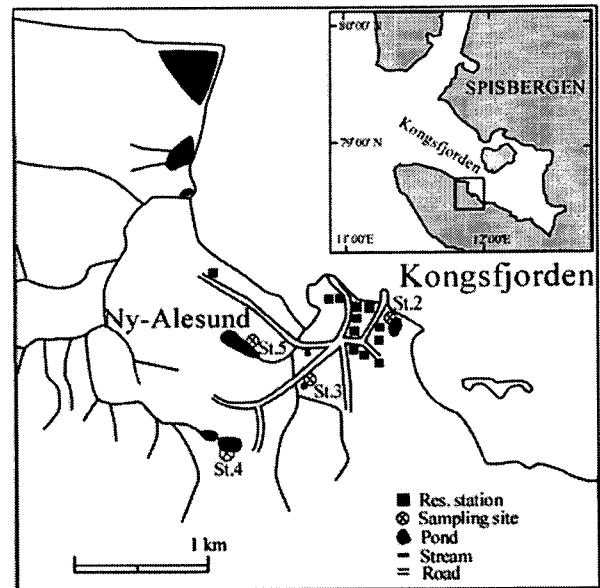


Fig. 1. Sampling sites around the Dasan Polar Station at Ny-Alesund, Norway.

/날짜 맑음). 시료 분석은 각 정점에서 20 l를 채수한 후, 즉시 기지로 운반하여 실시하였다.

총 엽록소 측정은 실험실로 운반한 20 l 시료중, 500 ml를 GF/F($\phi 0.45 \mu\text{m}$, Whatman) 필터로 여과한 다음, 습기를 제거하고, 90% 아세톤으로 암생장하에서 12시간 동안 색소를 추출하여 실시하였다. 엽록소는 휴대용 형광분석기 TD-700(Turner Designs)를 이용하여 흡광도를 측정한 후, 엽록소 *a* 값으로 환산하였다. 식물플랑크톤의 크기별 분획에 대한 엽록소 *a* 측정은 공극 크기가 각각 $20 \mu\text{m}$, $3 \mu\text{m}$, $0.45 \mu\text{m}$ 되는 여과지로 여과하여, 피코플랑크톤(세포 크기: $< 3 \mu\text{m}$), 나노플랑크톤($2\sim 20 \mu\text{m}$), 마이크로플랑크톤($> 20 \mu\text{m}$)으로 분획하여 실시하였다. 엽록소 측정은 100 ml 시료를 $20 \mu\text{m}$ 필터(밀리포어)→ $3 \mu\text{m}$ 공극 필터→GF/F 필터로 단계적으로 거른 후, 각각의 필터를 총 엽록소 분석방법과 동일하게 실시하였다. 이때 일정한 압력(100 mmHg) 하에서 세포의 파괴를 줄이도록 여과하였다.

미세조류의 정량(cell counting) 및 정성(종의 동정) 분석은 채수한 물을 50 ml Falcon 튜브에 담아 글루타르 용액으로 최종 농도 1%로 고정하여 실시하였다. 특히, 세포수는 채집 후, 고정한 시료를 24시간 이내에 광학 현미경 하에서 200X 배율로 측정하였다. 식물플랑크톤의 정성 분석은 중력에 의해 침전되어진 농축 시료를 광학현미경(Axioplan, Carl Zeiss) 400-1,000배에서 관찰하여 실시하였다. 규조류의 미세구조 관찰을 위하여 주사전자현미경(Model JSM-6300, Jeol)을 이용하였다. 고정한 현장시료를 증류수로 세척한 후, 상온에서 건조한 후 금으로 코팅

하여 시편을 준비하였다.

주요 우점종의 유전형 분석을 위하여, 미세관법(Ki *et al.* 2004)을 이용하여 우점종으로 출현한 *Chlamydomonas* 를 분리하여 배양하였다(배양주 HYNP007, HYNP009). 배양은 CB배지(Shirai *et al.* 1991)에서 실시하였다. 광조건은 12:12 LD cycle, 4~20°C에서 실시하였다.

Genomic DNA 분리를 위하여 대수 성장기의 배양세포 15 ml/을 원심분리기(3,000 rpm)로 농축하였다. Genomic

DNA는 Plant DNeasy mini Kit(Qiagen, Valencia, CA)을 이용하여 추출하였다. 효소중합반응은 프라이머로 AT18F01 (5'-YACCTGGTTGATCCTG-CCAGTAG-3')와 AT18R02 (5'-GTTTCAGCCTTGCGACCATACTCC-3')를 용하여 18S rDNA를 증폭하였다(Ki *et al.* 2005). 염기분석은 PCR에 사용한 프라이머와 내부의 염기서열로부터 제작한 프라이머를 이용하여 실시하였다. 반응은 BigDye 2.0 kit를 이용하였으며, 자동유전자분석기(BaseStation,

Table 1. A list of *Chlamydomonas* species included in this study for phylogenetic analysis and GenBank accession numbers for their 18S rDNA sequences. (up) represents the unpublished data.

Species	Acc. no.	Strain	Length (bp) used	Reference
<i>C. sp.</i>	DQ399675	HYNP007	1074	Present study
<i>C. sp.</i>	DQ399676	HYNP009	1072	Present study
<i>C. acidophila</i>	AJ628978	UTCC 354	1073	Huss <i>et al.</i> (up)
<i>C. asymmetrica</i>	U70788		1068	Buchheim <i>et al.</i> (1997)
<i>C. baca</i>	U70781		1068	Buchheim <i>et al.</i> (1997)
<i>C. bipapillata</i>	U70783		1067	Buchheim <i>et al.</i> (1997)
<i>C. chlamydogama</i>	AY220560		1059	Buchheim <i>et al.</i> (up)
<i>C. cribrum</i>	AF517099		1015	Hoham <i>et al.</i> (2002)
<i>C. culleus</i>	U70594		1067	Buchheim <i>et al.</i> (2002)
<i>C. debaryana</i>	AF008240		1067	Buchheim <i>et al.</i> (1997)
<i>C. dysosmos</i>	U13985		1067	Buchheim <i>et al.</i> (up)
<i>C. fimbriata</i>	U70784		1067	Buchheim <i>et al.</i> (1997)
<i>C. globosa</i>	AY781663		1068	Buchheim and Buchheim (up)
<i>C. hedleyi</i>	DQ009746	John Lee	1052	Buchheim <i>et al.</i> (up)
<i>C. humicola</i>	U13984		1068	Buchheim <i>et al.</i> (up)
<i>C. incerta</i>	AY781664		1068	Buchheim and Buchheim (up)
<i>C. macrostellata</i>	U70785	SAG 72.81	1067	Buchheim <i>et al.</i> (1997)
<i>C. mexicana</i>	AF395434		1056	Buchheim <i>et al.</i> (2002)
<i>C. moewusii</i>	U41174		1070	Buchheim <i>et al.</i> (up)
<i>C. monadina</i>	U57694		1047	Buchheim <i>et al.</i> (1996)
<i>C. mutabilis</i>	U57695		1054	Buchheim <i>et al.</i> (1996)
<i>C. nivalis</i>	U57696		1060	Buchheim <i>et al.</i> (1996)
<i>C. noctigama</i>	AF008238		1069	Buchheim <i>et al.</i> (1997)
<i>C. parkeae</i>	AB058373	MBIC10599	1072	Suda <i>et al.</i> (up)
<i>C. pitschmannii</i>	AJ628980	DBV 238	1072	Huss <i>et al.</i> (up)
<i>C. pseudogloeogama</i>	AF517097		1018	Hoham <i>et al.</i> (2002)
<i>C. pseudopulsatilla</i>	AF514405		1070	Leya <i>et al.</i> (up)
<i>C. pulsatilla</i>	AF514404		1070	Leya <i>et al.</i> (up)
<i>C. radiata</i>	U57697	UTEX 966	1049	Buchheim <i>et al.</i> (1996)
<i>C. rapa</i>	U70790		1069	Buchheim <i>et al.</i> (1997)
<i>C. reginae</i>	DQ009749	SAG 17.89	1061	Buchheim <i>et al.</i> (up)
<i>C. reinhardtii</i>	AY665726	CC-1418	1064	Buchheim and Buchheim (up)
<i>C. rubriflum</i>	AJ410455	SAG 3.85	1071	Proschold <i>et al.</i> (2001)
<i>C. segnis</i>	U70593		1069	Buchheim <i>et al.</i> (2002)
<i>C. uva-maris</i>	DQ009757	SAG 19.89	1055	Buchheim <i>et al.</i> (up)
<i>C. zebra</i>	U70792		1068	Buchheim <i>et al.</i> (1997)

MJ Research)로 분석하였다.

계통분석은 북극 기지 주변으로부터 분리된 *Chlamydomonas* sp. 배양주(HYNP007, HYNP009)의 18S rDNA 염기서열과 GenBank에 등록된 자료(*Chlamydomonas*, 34종)를 이용하여 실시하였다(Table 1). Clustal W 소프트웨어(자동 설정값)를 이용하여 염기서열을 동일한 값으로 재배열하였다. 이때, 변이가 심한 영역은 BioEdit 5.09(North Carolina State University)를 이용하여 육안으로 교정하였다. 계통분석은 배열한 18S rDNA를 MEGA3.0(Kumar et al. 2004)에서 Neighbor-Joining(Saitou and Nei 1987)과 Maximum Parsimony 방법으로 실시하였다. 또한, 이들 종간의 염기 유사도와 Kimura-2 Parameter(Kimura et al. 1980)를 이용하여 유전자 거리를 계산하였다.

3. 결 과

물리/환경적 특성

조사기간 중 각각의 정점에서 측정된 수온, 전도도, 염분도는 Table 2와 같다. 표층 수온은 5~10°C의 값을 유지

Table 2. Water temperature, conductivity, and salinity at each site.

Station	Water temp. (°C)	Conductivity (μS/cm)	Salinity (%)
St.2	11	0.363	0.17
St.3	8	0.699	0.34
St.4	9	0.211	0.11
St.5	10	0.338	0.16

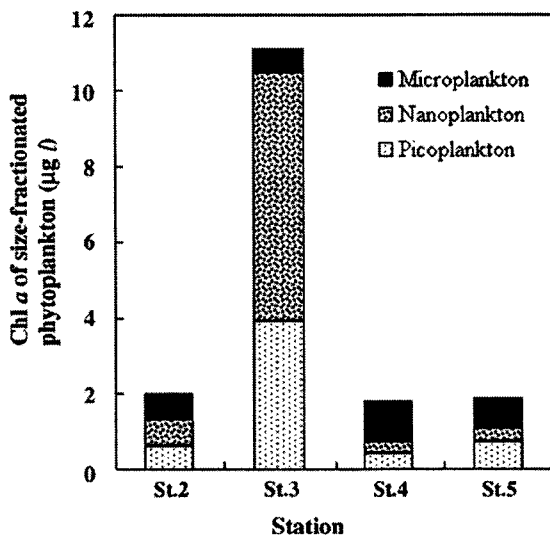


Fig. 2. Chl. a concentrations of the size-fractionated cells from temporary ponds around the Dasan Polar Station.

하였다. 전도도는 0.338~0.699 μS/cm의 값을 보였다. 염분도는 정점 3에서 0.34%로 가장 높은 값을 보였으며, 다른 정점에서는 0.1% 정도의 낮은 값으로 측정되었다.

미세조류 엽록소 a

총 엽록소 a량은 1.8~11.1 μg/l의 범위였으며, 정점 2, 4, 5는 유사한 값으로 조사되었다. 정점 3에서 가장 높은 값을 보였다(Fig. 2).

크기별 엽록소 a의 양은 피코플랑크톤, 나노플랑크톤, 마이크로플랑크톤에서 각각 0.7~1.1 μg/l, 0.3~6.5 μg/l, 0.4~3.9 μg/l이었으며(Fig. 2), 정점간의 뚜렷한 경향은 없었다. 정점 2는 각 크기별로 유사한 엽록소 값을 보인 반면, 정점 4와 5에서는 나노 크기의 엽록소 값이 상대적으로 낮은 값을 보였다. 정점 3의 마이크로플랑크톤의 엽록소량은 다른 정점에서 측정된 값과 유사하였으나(0.7 μg/l), 나노와 피코플랑크톤에 의한 엽록소량이 매우 높은 값을 보였다.

미세조류의 개체수 및 종조성

조사기간 중 출현한 미세조류의 개체수는 Table 3과 같다. 각 정점의 개체수는 340~760 cells/m로 조사되었다. 정점 간에 세포수의 차이는 약 2배 정도였다. 정점 3에서 가장 높은 값을 보인 반면, 정점 4에서 가장 낮은

Table 3. A list of microalgal taxa observed in the samples collected from 4 stations around the Dasan Polar Station at mid August, 2005.

Phylum species (Cells/ml)	St.2	St.3	St.4	St.5
Bacillariophyta				
<i>Navicula</i> spp.	92			
<i>Nitzschia</i> sp.	144			
<i>Pinularia</i> sp.	14			
Chlorophyta				
<i>Chlamydomonas</i> sp.		385	12	
<i>Scenedesmus</i> sp.	52			
Unidentified sp.			47	11
Chrysophyta				
<i>Dinobyron</i> sp.			35	
Cyanophyta				
Unidentified sp.				80
Euglenophyta				
<i>Trachelomonas</i> sp.	52	214		
<i>Euglena</i> sp.	14			
Unclassified				
Nano-sized flagellate	52	161	246	489
Total (cells/ml)	420	760	340	580

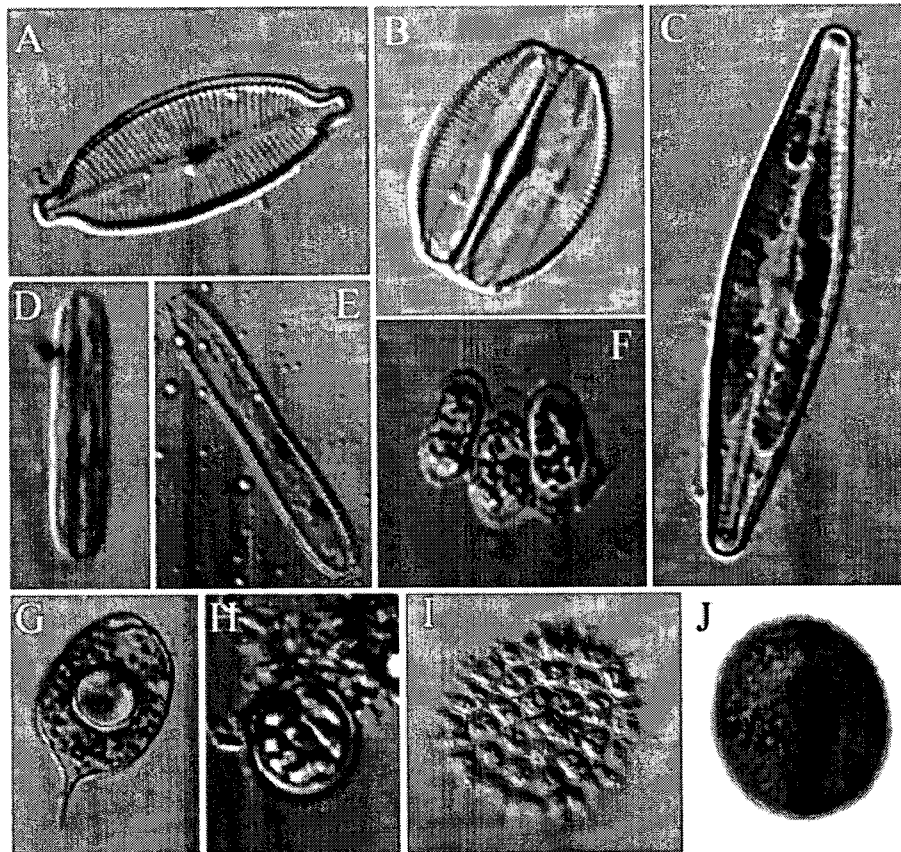


Fig. 3. LM micrographs of algae presented in temporary ponds of Svalvard. A, B: *Cymbella* sp., C: *Navicula* sp., D, E: *Pinnularia* sp., F: *Scenedesmus* sp., G: *Phacus* sp., H: *Chlamydomonas* sp., I: *Pediastrum* sp., J *Trachellomonas* sp.

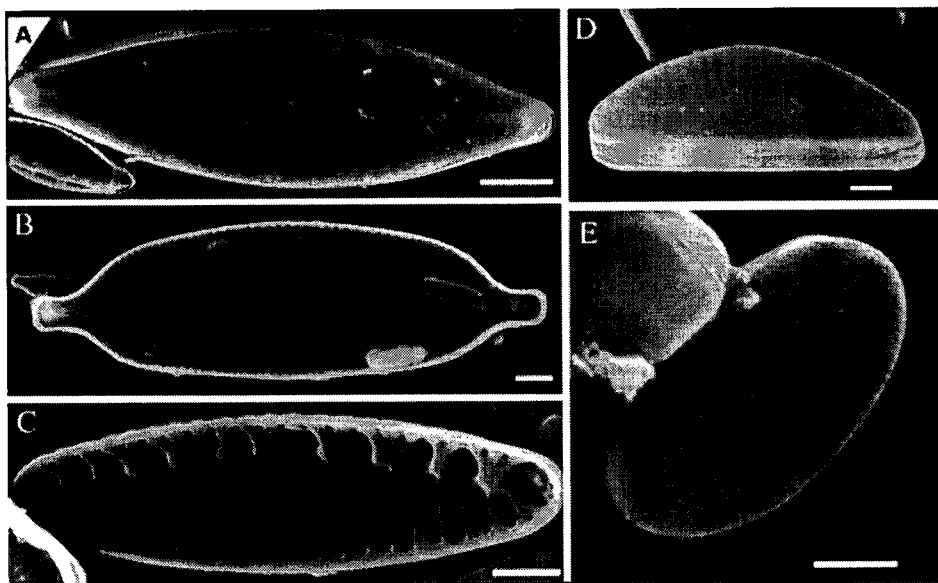


Fig. 4. SEM micrographs of diatoms presented at temporary ponds. A: *Nitzschia* sp., B: *Navicula* sp., C: *Diatoma* sp., D: *Cymbella* sp., E: unidentified diatom. Scale bar = 5 μ m.

Table 4. Genetic distance (below diagonal) estimated by the Kimura 2-parameter model and similarity scores (above diagonal) between pairs of the aligned sequence data of the partial 18S rDNA from *Chalamydomonas* genus. Similarity score = %.

No.	Acc. no.	Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
1	AJ628978	<i>C. acidophila</i>																			
2	U70788	<i>C. asymmetrica</i>	.086																		
3	U70781	<i>C. baca</i>	.087	.028																	
4	U70783	<i>C. bipapillata</i>	.093	.07	.065																
5	AY220560	<i>C. chlamydogama</i>	.077	.064	.06	.054															
6	AF517099	<i>C. cribrum</i>	.093	.043	.046	.072	.06														
7	U70594	<i>C. culleus</i>	.08	.062	.05	.042	.043	.058													
8	AF008240	<i>C. debaryana</i>	.092	.045	.042	.065	.059	.013	.05												
9	U13985	<i>C. dysosmos</i>	.08	.063	.052	.039	.036	.059	.029	.055											
10	U70784	<i>C. fibrinata</i>	.088	.062	.051	.046	.063	.015	.054	.004	.058										
11	AY781663	<i>C. globosa</i>	.092	.043	.046	.065	.072	.067	.067	.062	.069	.058									
12	DQ009746	<i>C. hedleyi</i>	.048	.068	.075	.074	.065	.059	.029	.055	0	.037	.058	.062							
13	U13984	<i>C. humicola</i>	.08	.063	.052	.039	.036	.059	.029	.055	0	.037	.058	.062							
14	AY781664	<i>C. incerta</i>	.092	.043	.046	.065	.063	.015	.054	.004	.058										
15	U70785	<i>C. macrostellata</i>	.078	.065	.061	.025	.045	.065	.036	.059	.034	.043	.056	.066	.034						
16	AF395434	<i>C. mexicana</i>	.086	.023	.022	.063	.057	.044	.051	.042	.056	.054	.044	.073	.056	.044					
17	U41174	<i>C. moewisii</i>	.083	.121	.122	.105	.1	.116	.099	.111	.094	.104	.045	.087	.094	.115	.091				
18	U57694	<i>C. monadina</i>	.082	.067	.064	.045	.042	.067	.035	.063	.03	.043	.046	.061	.03	.063	.038	.067	.099		
19	U57695	<i>C. mutabilis</i>	.09	.074	.068	.015	.053	.068	.039	.062	.04	.045	.047	.074	.04	.062	.024	.065	.1	.043	
20	U57696	<i>C. nivalis</i>	.079	.067	.062	.026	.048	.067	.035	.06	.037	.044	.048	.068	.037	.058	.003	.059	.092	.04	
21	AF008238	<i>C. noctigama</i>	.043	.066	.073	.066	.06	.069	.062	.067	.062	.064	.049	.022	.062	.065	.059	.067	.079	.062	
22	AB058373	<i>C. parkeae</i>	.054	.073	.08	.076	.071	.076	.074	.074	.064	.075	.050	.015	.064	.072	.066	.078	.093	.063	
23	AJ628980	<i>C. pilschmannii</i>	.026	.099	.101	.092	.085	.103	.086	.102	.086	.091	.051	.061	.086	.102	.076	.095	.074	.09	
24	AF517097	<i>C. pseudogloeogama</i>	.08	.101	.113	.103	.093	.097	.107	.101	.102	.107	.052	.064	.102	.096	.096	.107	.103	.105	
25	AF514405	<i>C. pseudopulsatilla</i>	.072	.063	.062	.054	.042	.065	.043	.066	.04	.051	.053	.059	.04	.066	.042	.058	.102	.026	
26	AF514404	<i>C. pulsatilla</i>	.077	.071	.064	.047	.046	.069	.034	.068	.034	.045	.054	.056	.056	.034	.068	.039	.069	.095	.024
27	U57697	<i>C. radiata</i>	.089	.07	.065	.024	.053	.067	.037	.059	.036	.042	.055	.068	.036	.061	.026	.061	.1	.045	
28	U70790	<i>C. rapa</i>	.087	.018	.018	.067	.063	.045	.057	.04	.06	.058	.056	.069	.06	.043	.061	.016	.119	.07	
29	DQ009749	<i>C. reginae</i>	.081	.074	.069	.06	.051	.073	.046	.073	.043	.056	.057	.062	.043	.075	.053	.072	.109	.03	
30	AY665726	<i>C. reinhardtii</i>	.092	.045	.046	.065	.066	.019	.054	.006	.06	.058	.058	.067	.06	.004	.056	.044	.115	.068	
31	AJ410455	<i>C. rubrifilum</i>	.09	.074	.072	.049	.067	.081	.05	.072	.051	.056	.059	.08	.051	.073	.032	.068	.106	.055	
32	U70593	<i>C. segnis</i>	.095	.066	.06	.051	.04	.065	.015	.057	.037	.011	.060	.079	.037	.061	.045	.057	.107	.043	
33	DQ399675	<i>C. sp.</i>	.044	.063	.069	.074	.059	.063	.067	.068	.063	.072	.061	.029	.063	.063	.065	.068	.081	.063	
34	DQ399676	<i>C. sp.</i>	.044	.063	.069	.074	.059	.063	.067	.068	.063	.072	.062	.029	.063	.063	.065	.068	.081	.063	
35	DQ009757	<i>C. urva-maris</i>	.078	.07	.061	.043	.037	.068	.035	.064	.03	.04	.063	.056	.03	.067	.036	.066	.098	.015	
36	U70792	<i>C. zebra</i>	.09	.042	.043	.068	.063	.016	.057	.01	.062	.06	.064	.071	.062	.007	.059	.04	.118	.068	

값을 보였다.

조사기간 담수지에서 미세조류는 5문 11속의 분류군이 나타났다(Table 3). 각각의 분류군은 규조류가 5속(*Navicula*, *Pimularia*, *Cymbella*, *Diatoma*, *Asterionella*)으로 가장 많았고, 녹조류 3속(*Chlamydomonas*, *Scenedesmus*, *Pediastrum*), 유글레나류 2속(*Trachelomonas*, *Phacus*), 황록조류 1속(*Dinobryon*), 남조류 1속이었다(Fig. 3). 정점 2는 7속이 조사되어 정점간에 가장 많은 종이 출현하였으며, 다른 정점은 2~3속으로 구성되는 단순한 미세조류의 생물상을 보였다. *Cymbella*, *Diatoma*, *Asterionella*, *Pediastrum*은 MPN(most probable number) 방법을 이용한 배양시료에서 관찰하였으며, 현장에서 고정된 시료에서는 관찰되지 않았다(미발표 자료).

전자현미경을 이용하여 규조류의 미세구조를 관찰하였다. 조사지점에서 출현한 규조류는 광학현미경 분류와 같이 *Navicula* spp., *Nitzschia* sp.가 조사되었다(Fig. 4). 그러나 광학 현미경에서 관찰하기 어려웠던 *Diatoma* sp.를 관찰할 수 있었다.

Chlamydomonas 배양체의 18S rDNA 염기서열 분석

모든 정점에서 우점했던 나노 크기 미세조류인 *Chlamydomonas*를 분리/배양하여, 이들의 18S rDNA를 분석하였다. PCR 방법으로 18S rDNA 약 1,100 bp를 증폭하였으며, 이것을 이용하여 배양주 HYNP007, HYNP009로부터 각각 1,074 bp, 1,072 bp의 염기서열을 규명하였다. 두 개의 염기서열을 GenBank에 DQ399675(HYNP007), DQ399676(HYNP009)으로 등록하였다.

북극 다산기지 주변 담수지에서 분리한 *Chlamydomonas*의 유전자 특성을 파악하기 위하여 GenBank에 등록되어 있는 34종의 *Chlamydomonas* 18S rDNA 염기서열과 비교하여 이들 상호간의 유전적 거리와 염기 유사도를 측정하였다(Table 4). 본 연구에서 분리한 HYNP007과 HYNP009의 18S rDNA와 가장 높은 염기 유사도를 보인 종은 *C. noctigama*(GenBank accession no. AF008238)로 각각 97.2%(유전자 거리 0.020), 96.8%(0.055)로 각각 분석되었다. HYNP007과 HYNP009의 18S rDNA 염기서열 비교에서는 99.4% 염기유사도(유전자 거리 <0.001)로 분석되었다.

또한, *Chlamydomonas* 속을 구성하는 종간의 계통관계를 파악하기 위하여, NJ방법을 이용하여 분석하였다(Fig. 5). *Chlamydomonas*는 크게 4개의 계통으로 분지하였으며, HYNP007, HYNP009는 *C. noctigama*, *C. pseudogloeogama*, *C. parkeae*, *C. hedleyi*와 같은 그룹을 형성하였다. 그러나 HYNP007과 HYNP009는 GenBank에 보고된 종들과는 뚜렷하게 분리된 분류군을 형성하였다(Fig. 5).

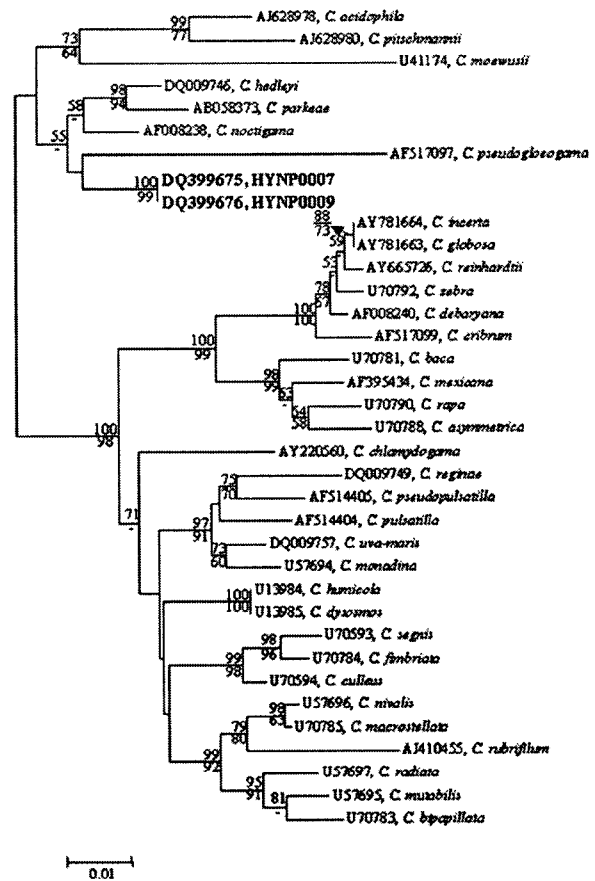


Fig. 5. Phylogenetic relationship of *Chlamydomonas* species, inferred by Maximum Parsimony (MP) and NJ methods using Kimura 2-distance model and partial 18S rDNA sequences (around 1,070 bp) revealed in the present study (2 strands) and from the database (34 strands). NJ and MP bootstrap values (>50%) were indicated at each branch node. Numbers in branches represent percentages of 1,000 bootstrap replications, and bootstrap values are shown above the internodes when higher than 50%.

4. 고 찰

지금까지 북극에 관한 연구는 대부분 해양을 중심으로 실시되었는데, 본 연구를 통하여 하계 다산기지 주변 담수지의 물리/화학적 특성과 미세조류의 생물자료가 확립되었다.

하계 니알슨 지역의 기온은 10°C 내외의 값으로 온대지역의 봄과 비슷한 특성을 보였다. 그러나 밤이 없는 백야로 식물성장에 필요한 충분한 광원을 공급한다는 것이 특징이다. 이와 같은 하계의 온화한 기후로 인하여, 겨울 기

간동안 눈과 얼음으로 덮여있던 빙하가 녹아 일시적인 담수지를 형성하게 된다. 정점 2는 다산기지 아래 쪽 해안선과 인접한 곳에 형성된 담수지로서, 주변에 이끼류 생물이 잘 발달 되어있고 극제비의 부화장소로 이용된다는 것이 특징이다. 또한, 10 m 정도의 틈을 경계로 바다와 분리되어 있지만 전도도와 염분은 담수의 특징을 갖는 것을 알 수 있었다(Table 2). 정점 2는 다른 정점과 비교하여, 다양한 생물상(7종)이 관찰되었다. 특히, 여러 종의 익상형 규조류와 동물플랑크톤 *Daphnia* sp.(미발표 자료)를 관찰할 수 있었다. 이것은 정점 2가 해안에 위치하고 있어 눈이 녹기 시작하는 초기에 형성되었으며, 영양염류가 조류의 배설물에 의해 원활하게 공급되었기 때문으로 판단되어진다. 반면, 기지 상류에 위치한 정점 4와 5는 비교적 형성 시기가 짧고 영양염류 공급이 원활하지 않아 단순한 생물상을 갖는 것으로 판단되어진다. 정점 3은 계곡으로부터 흘러오는 물에 의해 형성된 직경이 10 m 정도의 웅덩이다. 또한 많은 새들이 물을 마시기 위해서 모여드는 곳으로, 조류의 배설물이 수면 바닥에서 관찰되었다. 그러므로, 정점 3은 영양염류 공급이 원활했을 것으로 판단되며, 실제 작은 편모조류에 의한 우점을 관찰 할 수 있었다. 또한 엽록소를 이용한 생물량 측정에서 가장 높은 값을 갖는 것을 알 수 있었다.

크기별 특징은 모든 정점에서 나노 크기의 편모 조류들이 대체로 우점하였다. 엽록소 *a*에 의한 조류의 생물량은 정점 3을 제외하고 2 $\mu\text{g/l}$ 이하의 낮은 값을 보였다. 즉, 니알슨 지역 하계 담수생물상은 나노/피코플랑크톤의 생물량이 상대적으로 많은 것을 알 수 있었다. 특히, 조류의 활동이 왕성하여 배설물이 많이 관찰되었던 정점 3의 웅덩이에서는 나노 크기 미세조류의 우점을 관찰할 수 있었다. 크기별 엽록소 *a*의 양은 정점간의 뚜렷한 경향은 없었다. 이와 같은 낮은 엽록소 값으로 평가할 때, 극지 담수지의 수질은 빈영양 상태라는 것을 알 수 있었다. 이것은 Laybourn-Parry와 Marshall(2003)의 연구와 일치하는데, 이들은 엽록소 값을 기준으로 기지에 물을 공급하는 곳(정점 4)의 수질을 빈영양(oligotrophic) 상태로 보고하였다.

본 연구는 니알슨 지역 하계 담수지의 조류생물상이 10여 종 이하의 매우 단순한 구조를 갖는다는 것을 규명하였다. 또한 대부분 나노 크기의 편모조류가 주로 출현하는 것으로 조사되었다. Laybourn-Parry와 Marshall(2003)은 정점 4의 담수지를 대상으로 실시한 연구에서 다수의 *Dinobryon*, 편모조류, 와편모조류가 출현하는 것으로 보고하였다. 본 연구에서도 유사한 생물상을 관찰하였는데, 나노 크기의 녹조류인 *Chlamydomonas* sp.가 우점하여 출현하였으며, 정점 4에서 *Dinobryon*을 관찰하였다. 그러나 와편모조류는 관찰할 수 없었다. 본 연구에서 기록된 생물

종은 *Navicula*, *Pimularia*, *Cymbella*, *Diatoma*, *Asterionella*, *Chlamydomonas*, *Scenedesmus*, *Pediastrum*이었으며, 향후 미세구조, 색소 분석 등을 통한 종수준의 추가 연구가 필요하다.

니알슨 지역 하계의 미세조류는 크기가 작고, 규조류의 경우 미세한 형태관찰이 어려워 종 수준으로 동정하기 어렵고, 이들의 지리적 특성을 파악하기 어렵다. 그러므로 18S rDNA 유전자를 이용하여 이들의 유전적 특성을 파악하였다. 본 연구에서는 모든 정점에서 우점했던 *Chlamydomonas*의 rDNA 염기서열을 비교하였는데, 기존에 보고된 종과 다른 유전자 특징을 보였다(Fig. 5). 특히, *Chlamydomonas* 상호간의 유전자 비교에서 HYNP007과 HYNP009가 기존에 보고된 종과 각각 <97.2%, <96.8%의 낮은 유사도로 뚜렷하게 구분되는 것을 확인하였다(Table 4). 이것은 북극 니알슨 지역이 대륙으로부터 분리되어 독특하게 적응된 *Chlamydomonas*의 18S rDNA 유전자 특징을 갖는 것으로 판단되며, 현재까지 보고되지 않은 새로운 종일 가능성이 높다. 향후 이들을 신종으로 등록하기 위하여, 이들의 생리적 특징, 미세 구조관찰, ITS와 28S rDNA 분석 등 추가 연구가 필요하다. 또한, HYNP007과 HYNP009의 상호비교에서 18S rDNA 염기서열은 높은 유사도를 보였으나, 실제로 이들은 서로 다른 종일 가능성이 높다. 이것은 HYNP007배양주의 경우 약 10 μm 세포크기를 보인 반면, HYNP009는 약 5 μm 의 크기를 보였다(미발표 자료). 또한, 5.8S를 포함하는 전체 ITS(internal transcribed spacer) 염기서열을 비교하였을 때, 염기유사도가 매우 낮은(48.7%) 것으로 분석되었다(미발표 자료). 실제로, *Chlamydomonas*의 경우 18S rDNA의 염기유사도가 99.0% 이상에서 다른 종을 형성(예, *C. globosa*와 *C. incerta*; *C. dysosmos*와 *C. humicola*)하는 것을 확인할 수 있었다(Table 4).

본 연구를 통해 니알슨 다산기지 주변 담수 미세조류의 생물상에 관한 기초자료가 확립되었다. 또한, 모든 정점에서 우점한 *Chlamydomonas*의 18S rDNA 분석을 통하여 이들 생물이 기존에 보고되지 않는 독특한 유전자 특징을 가지고 있음을 규명하였다. 이것은 북극의 추운 지역에 서식하며 적응된 생물특성으로 사료되며, 향후 이들을 규명하기 위하여 생리적 특성 및 다른 유전자 연구가 필요하다.

사 사

시료분석을 도와준 해양연구원 극지연구소 주형민 연구원님께 감사드립니다. 본 연구는 한국해양연구원 부설 극지연구소 “극지생물재현사업(PP05001)”의 지원으로 수행되었습니다.

참고문헌

- 김동성, 신재철, 강성호, 정호성. 2005. 북극해 스발바드 군도 Kongsfjorden 퇴적물에 서식하는 중형저서동물 군집의 공간 특성. *Ocean and Polar Res.*, 27, 299-309.
- Buchheim, M.A., J.A. Buchheim, and R.L. Chapman. 1997. Phylogeny of *Chloromonas*: A study of 18S ribosomal RNA gene sequences. *J. Phycol.*, 33, 286-293.
- Buchheim, M.A., J.A. Buchheim, T. Carlson, and P. Kugrens. 2002. Phylogeny of *Lobocharacium* (Chlorophyceae) and allies: A study of 18S and 26S rDNA data. *J. Phycol.*, 38, 376-383.
- Buchheim, M.A., C. Lemieux, C. Otis, R.R. Gutell, R.L. Chapman, and M. Turmel. 1996. Phylogeny of the Chlamydomonadales (Chlorophyceae): A comparison of ribosomal RNA gene sequences from the nucleus and the chloroplast. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 5, 391-402.
- Eilertsen, H.C., J.P. Taasen, and J.M. Weslawski. 1989. Phytoplankton studies in the fjords of West Spitsbergen: Physical environment and production in spring and summer. *J. Plankton Res.*, 11, 1245-1260.
- Ellis-Evans, J.C., V. Galchenko, J. Laybourn-Parry, A.P. Mylnikov, and W. Petz. 2001. Environmental characteristics and microbial plankton activity of freshwater environments at Kongsfjorden, Spitzbeegeb (Svalbard). *Arch. Hydrobiol.*, 152, 609-632.
- Halldal, P. and K. Halldal. 1973. Phytoplankton, chlorophyll and submarine light conditions in Kings Bay, Spitsbergen, July 1971. *Norw. J. Bot.*, 20, 99-108.
- Heimdal, B.R. 1983. Phytoplankton and nutrients in the waters north-west of Spitsbergen in the autumn of 1979. *J. Plankton Res.*, 5, 901-918.
- Hoham, R.W., T.A. Bonome, C.W. Martin, and J.H. Leebens-Mack. 2002. A combined 18S rDNA and *rbcL* phylogenetic analysis of *Chloromonas* and *Chlamydomonas* (Chlorophyceae, Volvocales) emphasizing snow and other cold-temperature habitats. *J. Phycol.*, 38, 1051-1064.
- Ki, J.-S., G.Y. Jang, and M.-S. Han. 2004. Integrated method for single-cell DNA extraction, PCR amplification, and sequencing of the ribosomal DNA from the harmful dinoflagellates *Cochlodinium polykrikoides* and *Alexandrium catenella*. *Mar. Biotechnol.*, 6, 587-593.
- Ki, J.-S. and M.-S. Han. 2005. Molecular Analysis of Complete SSU to LSU rDNA Sequence in the Harmful Dinoflagellate *Alexandrium tamarense* (Korean Isolate, HY970328M). *Ocean Sci. J.*, 40, 155-166.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.*, 16, 111-120.
- Kumar, S., K.M. Tamura, and Nei. 2004. MEGA3: Integrated Software for Molecular Evolutionary Genetics Analysis and Sequence Alignment. *Brief. Bioinform.*, 5, 150-163.
- Laybourn-Parry, J. and W.A. Marshall. 2003. Photosynthesis, mixotrophy and microbial plankton dynamics in two high Arctic lakes during summer. *Polar Biol.*, 26, 517-524.
- Lech, K., S. Maria, D.T. Marleen, and Z. Maria. 2004. Distribution of meiofauna in Kongsfjorden, Spitsbergen. *Polar Biol.*, 27, 661-669.
- Leya, T., T. Müller, H. Ling, and G. Fuhr. 2000. Taxonomy and biophysical properties of cryophilic microalgae and their environmental factors in northwest Spitsbergen, Svalbard. 57th Eastern Snow Conference, Syracuse, New York, USA.
- Lippert, H., K. Iken, E. Rachor, and C. Wienche. 2001. Macrofauna associated with macroalgae in the Kongsfjord (Spitsbergen). *Polar Biol.*, 24, 512-522.
- Lischka, S. and W. Hagen. 2005. Life histories of the copepods *Pseudocalanus minutus*, *P. acuspes* (Calanoida) and *Oithona similis* (Cyclopoida) in the Arctic Kongsfjorden (Svalbard). *Polar Biol.*, 28, 910-921.
- Müller, T., W. Bleiß, C.-D. Martin, S. Rogaschewski, and G. Fuhr. 1998. Snow algae from northwest Svalbard: Their identification, distribution, pigment and nutrient content. *Polar Biol.*, 20, 14-32.
- Nilssen, K.J. and O.A. Gulseth. 1998. Summer seawater tolerance of small-sized Arctic charr, *Salvelinus alpinus*, on Svalbard. *Polar Biol.*, 20, 95-98.
- Pfannkuche, O. and H. Thiel. 1987. Meiobenthic standing stocks and benthic activity on the NE Svalbard Shelf and in the Nansen Basin. *Polar Biol.*, 7, 253-266.
- Proschold, T., B. Marin, U.G. Schlosser, and M. Melkonian. 2001. Molecular phylogeny and taxonomic revision of *Chlamydomonas* (Chlorophyta). I. Emendation of *Chlamydomonas* Ehrenberg and *Chloromonas* Gobi, and description of *Oogamochlamys* gen. nov. and *Lobochlamys* gen. nov. *Protist*, 152, 265-300.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 4, 406-425.
- Säwström, C., P. Mumford, W. Marshall, A. Hodson, and J. Laybourn-Parry. 2002. The microbial communities and primary productivity of cryoconite holes in an Arctic glacier (Svalbard 79°N). *Polar Biol.*, 25, 591-596.
- Schei, B., H.C. Eilertsen, F.S. Petersen, B. Gulliksen, and J.P. Taasen. 1979. Marinbiologiske undersøkelser i Van Mijenfjorden etter oljekkasje ved Sveagrava 1978. *Tromsø Naturvitenskap*, 2, 1-50.

- Shirai, M., A. Ohtake, T. Sano, and 8 other authors. 1991. Toxicity and toxins of natural blooms and isolated *Microcystis* spp. (Cyanobacteria) and improved procedure for purification of cultures. *Appl. Environ. Microbiol.*, 57, 1241-1245.
- Soltwedel, T., V. Mokievsky, and I. Schewe. 2000. Benthic activity and biomass on the Yermak Plateau and in adjacent deep-sea regions northwest of Svalbard. *Deep-Sea Res. I*, 47, 1761-1785.
- Svendsen, H., A. Beszczynska-Moeller, J.O. Hagen, B. Lefauconnier, V. Tverberg, S. Gerland, J.B. Oeabaek, K. Bischof, C. Papucci, M. Zajaczkowski, R. Attolini, O. Bruland, C. Wiencke, J.G. Winther, and W. Dallmann. 2002. The physical environment of Kongsfjorden-Krossfjorden, an Arctic fjord system in Svalbard. *Polar Res.*, 21, 133-166.
- Szymelfenig, M., S. Kwasniewski, and J.M. Westawski. 1995. Intertidal zone of Svalbard. 2. Meiobenthos density and occurrence. *Polar Biol.*, 15, 137-141.
- Weslawski, J.M., S. Kwacniewski, J. Wiktor, and M. Zajaczkowski. 1993. Fast ice biota in Spitsbergen fjords. *Polar Res.*, 14, 331-343.
- Wiktor, J. 1999. Early spring microplankton development under fast ice covered fjords of Svalbard, Arctic. *Oceanologia*, 41, 51-72.

Received Feb. 26, 2006

Accepted May 8, 2006