

환경변화에 대한 킹조지섬 주요 육상생물의  
생물반응 모델링기술 개발

Modeling Responses of Terrestrial Organisms to  
Environmental Changes on King George Island



2020. 2. 28

한국해양과학기술원  
부설 극지연구소

# 제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “환경변화에 대한 킥조지섬 주요 육상생물의 생물반응 모델링기술 개발”과제의 최종 보고서로 제출합니다.

2020. 2. 28

연구 책임자 : 이형석

참여 연구원 : 김경모

참여 연구원 : 김덕규

참여 연구원 : 김민철

참여 연구원 : 김상희

참여 연구원 : 김성중

참여 연구원 : 김옥선

참여 연구원 : 김정훈

참여 연구원 : 김지희

참여 연구원 : 김현철

참여 연구원 : 서태건

참여 연구원 : 신승철

참여 연구원 : 이영미

참여 연구원 : 이원영

참여 연구원 : 이정은

참여 연구원 : 이주한

참여 연구원 : 이홍금

참여 연구원 : 정호성

참여 연구원 : 지준화

참여 연구원 : 현창욱

참여 연구원 : 홍순규

보고서 초록

과제관리번호	PE19090	해당단계 연구기간	2017.01.01 ~ 2019.12.31	단계 구분	2단계 / 3단계
연구사업명	중 사업명	기관목적사업			
	세부사업명	기관목적사업			
연구과제명	중 과제명	기관목적사업: 글로벌 이슈대응 과제			
	세부(단위)과제명	환경변화에 대한 킹조지섬 주요 육상생물의 생물반응 모델링기술 개발			
연구책임자	이 형 석	해당단계 참여연구원수	총 : 59 명 내부 : 16 명 외부 : 43 명	해당단계 연구비	정부: 4,311,334 천원 기업: 천원 계: 4,311,334 천원
연구기관명 및 소속부서명	극지연구소 극지생명과학연구부		참여기업명		
국제공동연구	상대국명 : 뉴질랜드 상대국명 : 포르투갈 상대국명 : 칠레		상대국연구기관명 : 와이카토대학교 상대국연구기관명 : 리스본대학교 상대국연구기관명 : 라프론테라대학교		
위탁연구					
요약				보고서 면수	254
<p>□ 육상생태계 환경변화-생물반응 집중관측거점의 구축과 운영</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 세종기지가 위치한 바톤반도에 다학제 환경변화-생물반응 집중관측 거점 구축 완료</li> <li>- 생물반응 관측을 포함하는 2세대 관측거점으로 ANTOS 산하 7개 주요 관측거점 중 하나</li> <li>- 남극 생태계 변화 예측의 필수 데이터 장기관측을 위한 기반시설과 노하우 습득</li> </ul> <p>□ 남극 다학제 관측데이터 기반 육상생태 환경변화-생물반응 종합관계도 작성</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 종합관측에 기반한 바톤반도 KGL01 지역 내 지형-수계변화-식생변화의 종합관계 파악</li> <li>- 남극에서 단일지역내 집약적 다학제 관측을 통해 생태계 종합관계 규명을 시도한 선구적 사례</li> </ul> <p>□ 환경변화에 대한 생물반응 모델링 기반기술 확립</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 남극 현화식물 2종의 광합성능 예측 모델 2건(정확도 80% 이상 달성)</li> <li>- 남극 지의류 광합성 시뮬레이션 모델(프로그램 저작권 등록)</li> <li>- 남극 지의류 2종의 공간분포 예측모델(<math>R^2 = 0.351, 0.316</math>)</li> <li>- 관측을 통해 확보한 빅데이터로 생물반응을 예측할 수 있는 모델링 기술 국제수준 달성</li> </ul> <p>□ ANTOS와 LAPES의 DB와 웹사이트 개설</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- SCAR 산하 전문가 그룹인 ANTOS 데이터 운영의 역할을 위한 DB와 웹사이트 구축 완료</li> <li>- 남극반도 연구자 네트워크인 LAPES의 DB와 웹사이트 구축 완료</li> <li>- 국제공동 네트워크에서 데이터 총괄 운영 역할을 지속함으로써 남극 국제공동연구 네트워크 중심에 진입</li> </ul> <p>□ 후속연구에서 고려해야 할 중점사항 도출</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- 기존 관측거점의 운영에 더불어, 비교연구를 위해 남극반도에 추가 관측거점 구축 필요</li> <li>- 모델링 기술은 다른 극지 선진국에 비해 뒤지지 않지만, 지역적, 종 특이적 특성에 따라 무엇을 모델링할지에 대한 스토리텔링 보강을 통한 연구 파급효과 확대 필요</li> <li>- 향후 국제협력에 필수적인 국제공동 네트워크의 웹사이트 운영과 데이터 총괄 역할 지속 필요</li> </ul>					
색인어 (각 5개 이상)	한 글	기후변화, 모델링, 생태계, 안토스, 육상생물, 선태류, 지의류, 환경변화			
	영 어	ANTOS, bryophyte, climate change, ecosystem, environmental change, lichen, modeling, terrestrial organism			

# 요 약 문

## I. 제 목

환경변화에 대한 킥조지섬 주요 육상생물의 생물반응 모델링기술 개발

## II. 연구개발의 목적 및 필요성

서남극 지역은 전지구적 온난화의 영향이 가장 큰 지역 중 하나이다. 세종기지가 위치한 킥조지섬을 대상으로 생태계연구의 핵심 기반기술을 개발하고, 지구 기후변화가 남극의 육상생태계에 미치는 영향을 파악함으로써 환경변화에 대한 킥조지섬 육상생태계 변화 예측모델을 개발하고, 대한민국 주도의 남극반도 육상생태계 국제공동연구 프로그램 개발에 기여하고자 한다.

## III. 연구개발의 내용 및 범위

2025년까지 “기후변화에 의한 킥조지섬 생태계 변화 예측기술 개발”을 목표로 설정하였다. 이를 위한 기반으로 2011년부터 2013년까지 수행된 극지연구소 주요과제를 통해서 육상생태계에 대한 체계적인 연구가 시도되어 바톤반도 전역에 대한 연간 온도변화, 식생분포도 작성, 선대류와 지의류의 다양성, 미생물 다양성에 대한 연구가 수행되었다. 2014년부터 2016년까지 수행된 주요과제를 통해 킥조지섬의 생물다양성 및 생태계 구성요소에 대한 기초연구자료 확보, 생태계 변화 장기모니터링 셋업, 킥조지섬 서식 생물의 진화적 기원 규명, 생태계 연구 기반기술 개발 등이 수행되었다. 본 연구단계에서는 2017년부터 2019년까지 1) 세종과학기지 주변 육상생태계의 환경변화-생물반응 종합 관계도 작성, 2) 생물반응 모델링 기술 개발, 3) 국제공동연구 네트워크 구축을 수행하고자 한다.

## IV. 연구개발결과

### 1. 바톤반도 현존식생도 작성

바톤반도의 현존 식생도를 2014년의 눈분포 지도에 맞춰 작성하였다. 바톤반도 전체 지역 중 식생으로 덮여있지 않은 지역은 66.99%였으며, 식생이 분포하는 지역은 전체 면적의 33.01%였다. 식생이 분포하는 지역은 우점종의 생육형을 기준으로 7개의 아군계(subformation)로 구분되었다. 가장 넓은 지역에 분포하는 아군계는 수지상 지의류 아군계(fruticose lichen subformation)로 23.52%, 고착지의류 아군계(crustose lichen

subformation)는 6.51%, 이끼 카펫 아군계(moss carpet subformation)는 1.78%, 그리고 키작은 이끼층 아군계(short moss turf subformation)는 0.53%를 차지하였다. 바톤반도의 식생도에는 41개의 패치형태가 존재한다. 그 중 가장 넓은 지역을 차지하는 눈 패치는 전체면적의 53.62%였다. 식생이 분포하는 지역 중 가장 넓은 지역을 차지하는 식생형태는 Usnea(Us)로 18.90%를 차지하였으며 고착지의류(Cr)는 5.78%, Usnea-Himantormia 패치(Us-H)는 1.59%, Sanionia(Sa)는 1.27%, H-Us 패치는 1.09%를 각각 차지했다.

## 2. 바톤반도 미기상과 토양 환경 변화 장기 관측

남극 육상생태계의 구성과 작용을 종합적으로 이해하기 위하여 크리티컬 존 관측(Critical Zone Observatory) 방법을 적용해 KGL01 지역의 생태계를 관측하였다. 이 지역에는 지하부의 구조와 지하수의 분포, 지표면의 식생 및 미생물 구성, 미생물에 의한 이산화탄소 대사, 선태류와 지의류의 광합성 등 다양한 관점에서 관측이 이루어졌다. KGL01 지역은 완만한 경사가 형성되어 있는 지역으로서 고도에 따라 수분과 광량에 있어서 점진적인 변화를 보여주었으며, 이러한 특성이 식생분포 특성과 연관되어 있는 것으로 판단된다.

## 3. 식생분포와 활동층에 따른 지구물리자료의 특성

세종과학기지 주변에는 여러 종류의 식생이 분포하고 있다. 남극의 식생들 또한 빛과 수분의 양에 따라 성장하는 속도, 분포량 또는 지역이 결정된다. 식생이 자라는 환경이 결정되는 요인 중 하나인 수분은 대기 중 공기의 응결과 강수로 인해 공급되는데 특히 강수는 토양에 직접적인 영향을 준다. 토양의 수분량을 측정하는 가장 직접적인 방법으로 토양시료를 채취하여 데이터를 얻게 되는데 이는 해당 지점의 값을 나타낼 뿐 넓은 지역의 값을 대표할 수 없으며 많은 지점을 직접 측정한다면 시간이 매우 오래 걸린다. 측정 시간을 줄이고 넓은 범위의 값을 얻기 위해 지구물리학적 방법인 전기비저항탐사, 레이더탐사, 전자탐사법을 사용하였다. 대표적인 식생으로 이끼인 Sanionia, 지의류인 Ochrolechia와 Usnea가 분포하는 연구지역에서 위의 3가지 물리탐사방법으로 수분분포를 측정하였다. Sanionia가 자라는 환경에서는 수분분포가 압도적으로 높았고 Ochrolechia에서 Usnea가 우세한 환경으로 갈수록 토양의 수분량이 줄어드는 것을 확인하였다. 지구물리탐사법의 정확성을 확인하기 위해 총 4곳의 토양을 조사해 본 결과 직접 토양을 채취한 방법과 지구물리탐사 방법이 서로 일치하는 것을 확인할 수 있었다.

#### 4. KGL01 지역 지하수-지표수-눈의 특성과 이동경로

지하수는 극지역 물순환 과정 중 중요한 구성 요소이지만 극지역의 지하수를 연구한 연구는 거의 없었다. 본 연구에서는 남극 킹조지 섬의 바톤반도 지역 두 호수(Lake A, Lake B로 명명)에서 지하수-지표수-눈의 수리지질학적 특성과 이동경로를 파악하였다. 시피지미터로 측정된 지하수의 유출입량은 Lake A의 경우,  $-9.2 \times 10^{-7}$  m/s ~  $5.3 \times 10^{-8}$  m/s로 역동적인 시스템이었고, Lake B의 경우,  $1.1 \times 10^{-8}$  m/s ~  $9.5 \times 10^{-10}$  m/s로 안정적인 시스템을 보여주었다. 현장수질분석의 결과, Lake A의 지하수는 지표수 성분과 비슷하였지만, Lake B의 지하수와 지표수의 수질특성은 구분되어 수량분석의 결과와 일치하였다. 동위원소 분석결과는 지하수, 지표수, 눈이 대체적으로 Global Meteoric Water Line(GMWL)을 따르고 있다는 것을 보여주었다. 이 연구는 남극 호수 시스템에서 지하수의 역할을 이해하는데 유용하게 이용될 수 있다.

#### 5. KGL01 지역 토양 이산화탄소 모니터링

남극에서 온난화의 영향에 따른 동토층의 해빙은 식생 분포와 미생물 군집에 많은 영향을 미칠 것으로 예상된다. 동토층의 해빙 기간이 증가할 경우, 미생물 군집 변화에 따른 토양 이산화탄소 방출량은 증가할 가능성이 매우 높으므로 육상생태계에서의 탄소 순환의 기작을 이해하는 것은 매우 중요하다. 여러 측정 방법을 활용하여 바톤반도의 다양한 지면조건에 대하여 공간적으로 시간적으로 토양에서 대기 방출되는 이산화탄소를 조사하였다. 수분, 식생분포, 지형 등에 따른 유기 토양의 발달 정도에 따라서 토양 이산화탄소량은 조절되었다.

#### 6. KGL01 지역 광합성 반응 모니터링

미기후 변화에 따른 다양한 남극생물의 생리학적 반응은 남극생태계의 변화 예측기술의 필수적 기초데이터이다. 본 연구는 남극생태계의 주요 식생인 선대류와 지의류의 생물반응성 연구를 위해, 바톤반도 KGL01 지역의 대표식생인 *Sanionia uncinata*, *Polystichastrum* sp., *Usnea* sp.와 *Cladonia gracilis*의 광합성능(광합성 효율, 전자전달효율, 클로로필a 형광값, 광량, 온도)과 미소기후 변화(지표면 온도, 광량 및 토양수분양)를 현장측정 하였다. 수분구배에 따라 구분되는 식생은 WET, INT(intermediate site), DRY 지역으로 구분하여 6 개체군에 18개 형광측정 장비와 데이터로거를 설치하였다. 2018년과 2019년의 하계 현장조사를 통해 약 51일간 67,000여개의 광합성능 관련 데이터를 수집하였다. 광량과 온도는 지역에 광범위하게 미치는 환경요인으로서 식생의 일주기성 광합성능에 영향을 주었으며, V형과 U형의 타입으로 구분되었다. 반면 토양수분량은 WET, INT,

DRY지역에서 지엽적인 변화요인이었으며, 개체군 내와 개체군 간의 광합성능 차이를 유도하였다. 2년에 걸친 현장조사결과 미기후변화가 대표식생의 광합성능에 미친 영향력은 개체군간 차이를 보였으며, 광합성능의 감소 혹은 증가가 군집구조의 변화를 유도하는지에 대한 장기적인 연구가 필요하다.

## 7. 빙하후퇴 지역 조류 번식 모니터링

남극 킹조지섬의 포케이드 빙하는 빠르게 후퇴하고 있다. 바톤반도의 포터소만에 인접한 빙하는 2006년까지는 북쪽 방향으로 후퇴하다가 그 이후부터는 빙하사면 방향을 따라 북서쪽으로 후퇴하고 있다. 남방큰재갈매기들은 빙퇴석 지역에 둥지를 지었으며 번식지는 빙하 후퇴방향으로 확장되고 있다. 본 조사지역에서 남방큰재갈매기의 산란 및 포란기간인 10월에서 12월까지 북서풍 계열의 풍향이 우세하였다. 둥지 인근의 빙퇴석들 또한 둥지를 기준으로 북서 방향에 배치되는 빈도가 높았다. 이는 남방큰재갈매기들이 둥지 장소를 선택할 때 체온과 포란온도의 손실을 최소화하기 위해 바위를 둥지벽으로 활용하기 때문인 것으로 추정된다.

## 8. 빙하후퇴지역 식생 변화 모니터링

바톤반도가 위치한 해양성남극역은 기후변화로 인한 빙하 후퇴로 새로운 노출지가 증가하고 있다. 포터소만 포케이드 빙하의 최근 30여 년 간의 후퇴로 형성된 노출지에서 식생 천이에 영향을 미치는 미지형과 천이 과정을 조사하였다. 이 지역에서는 남방큰재갈매기의 둥지재료로 유입된 식물들이 정착하여 식생천이를 유도하고 있어 1차 천이와 구별되는 유사 천이가 진행되고 있다. 2014년과 2018년에 조사된 영구방형구 피도 자료를 비교한 결과, 지의류의 서식 범위가 확대되었으며, 이끼류 및 담수조류는 비슷하게 유지되었다. 2014년에 정착한 현화식물은 둥지 주변에서 감소하여 그 원인 규명을 위한 추가적인 연구가 필요하다.

## 9. 빙하후퇴지역 미소생물 군집 조성 변화

기후변화로 바톤반도의 빙하가 녹으면서 드러나는 노출된 나대지에 새로운 생태계가 형성되는 과정을 기록함으로써 남극 전체 빙하후퇴 지역에서 일어날 육상 천이 과정과 그 생태학적 영향을 예측하는 지표 자료를 확보하고자 하였다. 특히 바톤반도의 빙하가 급격히 후퇴하면서 드러나는 나대지에는 남방큰재갈매기(Kelp gull *Larus dominicanus*)가 둥지를 만들기 시작하면서 타지역에서 둥지 재료로 물고 온 이끼, 지의류, 식물과 미소생물 등이 함께 유입되면서 자연적인 천이와 다른 양상을 보이고 있다. 남극 빙하후퇴와

조류의 번식지 확산이 남극 미소생물의 정착 과정에 미치는 영향을 연구하였다. 조류 등지의 섬모충류 군집이 등지 연차별 차이를 분석한 결과, 1년차 등지는 2, 3, 4년차 등지보다 높은 종다양성을 보였다. 이는 빙하후퇴지역의 종다양성은 Kelp gull에 의한 유입이 주요 요인임을 제시한다.

## 10. 빙하 후퇴에 따른 식생-미생물-토양 간 종합관계 분석

최근 급격한 지구 온난화로 말미암아 남극반도 해안 저지대를 중심으로 육상 빙하의 후퇴와 그로 인한 지면 노출지의 면적이 증가하는 추세이다. 그 동안 빙하 후퇴에 따른 육상생물의 천이 및 토양 발달과정 연구는 주로 북반구를 중심으로 이루어진 반면 남반구 특히 남극에서의 연구는 매우 드물게 이루어졌다. 본 연구에서는 최근 급격하게 후퇴한 포케이드 빙하 후퇴지역을 대상으로 시간에 따른 토양 특성, 미생물 군집 변화과정을 살펴보고 생물 천이 과정에서의 식생-미생물-토양 간의 상대적인 연관성을 알아보았다. 빙하 후퇴에 따른 토양 특성 변화(토양 pH 감소, 유기물 증가 등) 및 시간에 따른 세균 및 진균 군집의 천이 과정이 관찰되었으며, 빙하 후퇴에 기인한 토양 특성 변화는 진균 군집보다 세균 군집 구조의 변화와 더 밀접한 연관성이 있게 나타났는데 이는 기존에 북반구에서 관찰된 패턴들과 유사한 결과이다. 미생물 군집구조 변화를 설명하는 데 있어 사이트 간 거리 및 토양 특성이 큰 설명 변수로 작용한 반면 식생과 미생물 군집 간의 연관성은 크지 않았다. 이는 육상(aboveground)과 땅 속(belowground) 생물 간의 천이 과정이 연결되기에는 조사된 지역의 빙하 후퇴시기가 아직 짧기 때문일 것으로 판단된다.

## 11. 남극좁새풀과 남극개미자리의 광합성량 추정 모델링

남극에 서식하는 현화식물인 남극좁새풀과 남극개미자리가 환경변화에 어떻게 반응하는지를 개체수준에서 연구하였다. 두 식물의 광합성량은 온도, 광량, 수분 등의 측정된 환경변수와 결정계수 67 ~ 78% 수준의 연관성을 보였다. 환경변수 중 MONI에서 측정된 기온이 식물의 광합성량에 가장 큰 영향을 미쳤다. 반면, 토양 수분량은 광합성량과 거의 관계가 없었다. 그리고, 나머지 습도, 잎 표면 온도, 광량은 중간 수준의 영향력을 보였다. 환경변수 관측 데이터를 bootstrap과 jackknife 방식으로 무작위 추출한 결과, 광합성량 추정 모델의 결정계수를 8 ~ 18% 정도 향상시킬 수 있었다. 한편, 환경변화에 따른 식물반응을 장기적이고, 비파괴적인 방식으로 관찰하기 위해 이미지 기반 생체량 예측 가능성을 시험하였다. 그 결과, 실험실 환경에서 시험된 남극개미자리와 남극 킹조지섬 바톤반도 인근에 서식하는 남극좁새풀 모두, 이미지에서 추출된 픽셀 수와 생체량 사이에 강한 선형관계를 얻을 수 있었다(모든 경우 결정계수 > 0.9). 이는 실제 필드에서 사진

촬영만으로도 남극 식물의 성장량 변화를 관찰할 수 있음을 의미한다.

## 12. 바톤반도 식생 중 특이적 분광정보 라이브러리 구축

분광반사율은 지상 타겟에서 반사되어 센서에 기록되는 에너지의 크기를 파장대별로 기록하는 값이다. 광학 원격탐사센서는 이러한 분광반사신호를 센서의 스펙에 맞게 기록하는데, 분광반사율을 잘 이해한다면 원격탐사영상을 분석하고 이해하는데 큰 도움을 준다. 본 연구에서는 바톤반도에 존재하는 주요 이끼 및 지의류 17종에 대해 휴대용 분광반사 측정기를 이용하여 분광반사율을 측정하고 라이브러리화하였으며, 식생간 분광학적 분리도를 비교하였다.

## 13. 원격탐사 기술을 활용한 식생 분포와 눈 피복의 상관관계 규명

남극반도에서 관측되는 기후 변화는 지표 환경에 변화를 가져오며, 이는 식생 분포에도 영향을 미친다. 본 연구에서는 세종과학기지가 위치한 남극 킹조지섬 바톤반도 내 지의류 및 선태류 분포와 기후 변화로부터 영향 받을 수 있는 환경 인자 중 눈 피복과의 상관성을 분석하고자 하였다. 이를 위해 눈 피복과 인접한 지역에서 고해상도 다중분광 영상 자료를 확보한 후 영상 분석을 통해 식생 분포와 눈 피복 사이의 상관관계를 평가하였다. 분석 결과 식생 분포는 눈 피복지와의 거리와 양의 상관관계인 것으로 나타났으며( $R^2=0.76$ ), 향후 눈 피복 변화 발생 시 식생 분포 변화를 예측하는 데에 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

## 14. 바톤반도 선태류의 수분 변화에 따른 생리 변화 분석

최근 남극 반도에서 관측된 온난화 추세가 장기간 지속되면 육상생물이 이용 가능한 물의 주요 공급원으로 작용하는 빙하의 손실로 인해 환경의 건조도가 증가할 것으로 예상된다. 그러나, 미래의 건조 환경에서 발생할 남극 선태류의 생리적 반응에 대해서는 아직 연구된 바 없다. 따라서, 우리는 해양성 남극에서 우점하는 선태류인 낮깃털이끼의 상대적 수분 함량(RWC) 감소에 대한 광화학 반응을 평가하였다. 그 결과, 건조도가 증가함에 따라 엽록소 함량과 여러 광화학 변수의 값이 감소하였으므로, 낮깃털이끼는 가뭄에 민감한 종이며, 남극 환경의 건조도 증가 현상이 낮깃털이끼의 생산성에 부정적인 영향을 미칠 것이라 예측할 수 있다.

## 15. 바톤반도 지의류 *Cladonia borealis*의 온도와 수분 관련 광합성 특성 분석

남극 지의류는 수십 년 동안 기후 변화의 지표로 사용되어 왔지만 소수의 종만이 연

구되어 왔다. 본 연구에서는 자연 환경과 실험실 조건에서 수상 지의류 *Cladonia borealis*의 광합성능을 평가했다. *C. borealis*의 광합성능은 양지형인 *Usnea* sp.와 비교했을 때 음지형의 특징을 보였으며 비가 멈춘 건조한 날에는 광합성이 멈추었다. 건조-재수화 반응과정에서의 변화를 이해하기 위해 새벽과 낮의 평균 광도 및 자연 미기후의 건조 조건에서 *C. borealis*의 PSII 광화학의 변화를 측정했다. 흥미롭게도, 주간 조명 및 빠른 건조 조건에서 샘플은  $F_v'/F_m'$  및 rETR max의 지연이 감소했고, Y(II)와 Y(NPQ) 수준은 증가했다. 이러한 결과는 *C. borealis*의 광보호 메커니즘이 빛 세기 증가에 따라 활성화될 수 있으며 이는 건조 조건에서 더욱 효율적임을 시사한다.

## 16. 바톤반도 지의류 분포와 미환경 데이터 상관관계 규명

지의류의 분포와 환경과의 연관성은 큰 지리적 규모로 서로 다른 기후대 간의 비교를 통해서 이루어져 왔다. 그러나 온도, 습도, 빛, 대기오염 등과 같은 환경조건에 매우 민감한 생물인 지의류의 분포는 미세한 환경에 따라서도 영향을 받을 수 있으므로 미환경과의 연관성을 연구할 필요가 있다. 이를 위해 바톤반도의 지형, 미환경, 그리고 식생조사를 수행하였다. 바톤반도는 작은 지역임에도 불구하고 여러 크고 작은 봉우리들로 인해 지역에 따라 지형적 특징에 차이를 보였다. 이러한 차이로 인해 지역마다 광합성 유효과장, 대기온도, 대기습도의 차이를 보였다. 바톤반도의 식생은 돌 위에 서식하는 지의류가 많이 발견된 건조한 지역과 이끼 매트나 이끼 사멸지 위에 서식하는 지의류가 존재하는 습한 지역으로 크게 구분되었다. 바톤반도에 서식하는 *Cladonia* 속 지의류의 분포 양상을 확인하기 위해 177개의 시료를 확보하여 LSU rRNA 유전자 서열을 확인하였다. 이들은 *C. squamosa*와 *C. gracilis* 두 종으로 확인되었으며, 바톤반도 내에서 서식 위치의 편향성을 보였다. 이들의 분포와 지형특징, 미기후, 식생과의 연관성을 확인해 본 결과, 두 종이 서식하는 서식지는 적설량의 차이를 유발할 수 있는 사면의 방향, 연간 그리고 봄철에 저온에 노출되는 일수에 차이가 있었고, 서식하는 식생의 빈도에도 차이가 있었다. 지의류 형성 조류의 경우, 두 지의류 형성 곰팡이 모두 *Asterochloris erici*와 공생관계를 맺고 있는 것을 확인하였다. 지의류 형성 조류의 유전형질을 확인해 본 결과, 크게 세 가지의 유전형을 가지는 것으로 나타났다. 또한, 이들이 발견된 지역과 미환경 요소와의 연관성을 확인해 본 결과, 지형노출도와 서식하는 식생의 빈도에 차이가 있었다. 이로써 바톤반도 내에서 적설량의 차이를 야기할 수 있는 사면의 방향과 온도는 *C. squamosa*와 *C. gracilis* 지의류 형성 곰팡이와 지의류 형성 조류의 분포에 영향을 미치고, 이들이 서식하는 지역의 식생의 구조에도 영향을 줄 수 있다는 것을 확인하였다.

## 17. 남극 토양 세균의 질소원 변화에 따른 군집과 대사 반응 분석

질소는 생물의 존재와 생장에 필수 요소이며, 질소순환은 생태계 유지에 매우 중요하다. 질소고정, 암모니아 산화 세균과 탈질화 세균은 단일 개체 확보를 위한 배양이 매우 어렵고 남극 토양에서의 연구 사례가 많지 않기 때문에 질소 순환에 관여하는 세균에 대한 생태학적 또는 유전학적 정보가 충분하지 않다. 남극 토양의 질소순환에 관여하는 세균의 특성 연구를 위하여 바톤반도 토양 3지점을 대상으로 질소고정(nitrogen fixation, NF), 암모늄 산화(ammonia oxidation, AO) 그리고 탈질 과정(denitrification, DN)에 대하여 농화 배양을 진행하였다. 배양 14일 마다  $N_2O$  가스, 암모늄, 아질산/질산 농도의 변화를 각각 측정하여 성장 유무를 확인하였다. 또한 각 기능에 해당하는 유전자인, 암모늄 산화 유전자, *amoA*와 탈질 유전자 *nirK*, *nirS*, *nosZ*을 대상으로 유전자 증폭을 통하여 암모늄 산화 세균과 탈질 세균의 성장을 확인하였다. 각 미생물 그룹의 성장을 확인한 후, 16S rRNA 유전자를 증폭하여 세균의 군집의 변화를 분석하였다. 군집 분석 결과, 암모늄 산화 세균 농화 배양에서는 *Micavibrio* (*Alphaproteobacteria*), *Oxalobacteraceae* (*Betaproteobacteria*), *Pseudomonadaceae* (*Gammaproteobacteria*)와 *Parachlamydiaceae* (*Chlamydiae*)가 배양되었고 탈질화 세균 농화 배양에서는 *Oxalobacteraceae* (*Betaproteobacteria*), *Pseudomonadaceae* (*Gammaproteobacteria*)와 *Propionibacteriaceae* (*Actinobacteria*)이 배양되었다. 이 중 암모니아 산화 배양체는 AO\_2C, 탈질 배양체는 DN\_1B와 DN\_3A를 대상으로 환경유전체 분석(metagenome)을 실시하였다. 세 가지 배양체의 환경유전체 데이터에서 질소 관련 pathway를 비교하였을 때 denitrification pathway와 dissimilatory nitrite reductase pathway는 탈질 세균을 농화 배양한 DN\_1B와 DN\_3A에서 많이 나타났으며, ammonia assimilation pathway은 AO\_2C에서 더 많이 확인되었다. 암모늄 산화 세균으로 알려진 *Nitrosomonas*와 *Nitrospira*의 존재를 확인하였고, *Janthinobacterium* sp. AO2C의 genome정보를 획득하였다. 혐기조건에서 탈질작용을 수행하는 *Oxalobacteraceae*와 *Pseudomonas*를 배양하였으며, *Simplicispira* sp. DN1B와 *Pseudomonas* sp. DN3A의 genome 정보를 획득하였다. 두 세균은 탈질 작용을 하는 유전자 *nar*, *nir*와 *nor*를 가지고 있는 것을 확인하였다.

## 18. 남극 토양 세균의 질소원 변화에 따른 군집과 대사 반응 분석

지의류의 종이나 서식처에 관계없이 우점하는 것으로 알려진 세균 *Rhizobiales*-1 (lichen-associated *Rhizobiales*-1, LAR1)은 배양체가 없어서 이들의 생리특성을 근연의 표준균주의 생리특성을 통해 유추할 수밖에 없었다. 하지만, 남극 지의류 *Psoroma antarcticum*의 배양을 통해 확보한 두 개의 균주 PAMC 29128과 PAMC 29148이 16S

rRNA 유전자 및 유전체, 생리특성 분석 등 다상분류학적 분석을 통해 LAR1에 속하는 균주로 확인이 되어 *Lichenihabitantaceae* 과(family)의 *Lichenihabitans psoromatis*로 명명하였다. LAR1에 속하는 균주의 배양체 획득 및 기초적인 생리 특성 분석을 수행한 첫 연구로, 이후 지의류 내에서 이들의 기능을 확인할 수 있는 기반이 마련되었다.

## 19. 토양온도 상승에 따른 세균 군집의 부식질 분해율 변화 분석

부식질(humic substance, HS)는 토양 유기물에서 가장 큰 비중을 차지하는 핵심 구성인자이며, 부식산(humic acid, HA)는 부식질의 주요 구성성분이다. 온도상승에 따른 HA 분해율과 미생물 군집에 대한 영향을 평가하기 위해서, HA가 풍부한 남극 연안 툰드라 토양을 5°C와 8°C에서 배양하는 환경모사실험을 진행한 후, 냉동 상태의 대조군 토양과 상호비교하였다. 대조군과 비교했을 때, HA 함량은 상승한 온도 조건에서 일정하게 감소하였는데, 미생물 군집에 의해 분해된 것으로 추정되었다. HA의 구성과 구조의 변화 역시 온도 상승 조건에서 확인하였는데, 변화의 폭은 5°C 보다는 8°C에서 확연한 차이가 나타났다. 다양한 세균 분류군들 중에서 고영양 요구성 phylum Proteobacteria의 상대빈도는 5°C와 8°C에서 배양시 약간 증가하였으나, 폴리머 분해능이 있는 phylum Actinobacteria의 상대빈도는 약간 감소하였다. 반면, 고세균과 진균 군집의 변화는 미미하였다. 토양 내 세균군집을 HA와 함께 배양한 후 군집구조를 분석한 결과, 5°C와 8°C에서 phylum Proteobacteria의 상대빈도가 빠르게 증가하였는데, class Alphaproteobacteria에 속하는 세균들이 HA 분해과정에서 상당히 많이 증가하였다. 종합적으로, 본 연구는 남극 연안 툰드라 토양 내 세균 군집은 HA를 분해할 수 있으며, 글로벌 기후변화에 따른 이 지역 토양온도 상승은 세균 군집의 변화를 유도하는 동시에 HA 분해율을 증가시킬 수 있음을 의미한다.

## 20. 분리세균 균주와 세균 군집의 부식질 분해경로 연구

극지역 저온환경 내 토양 유기물의 핵심 구성물질인 부식질(humic substances)은 천연 aromatic heteropolymer이며 리그닌과 구조적으로 유사하다. 2011 - 2012년 미국 알래스카 툰드라 지역 토양의 여름철 평균 온도는 5.6°C였으며, 이 곳 토양을 5°C 저온배양하는 환경모사실험 동안에 토양 내 미생물군집은 부식질의 주요 구성성분인 부식산을 미배양 대조군 대비 약 29% 더 분해하였다. 반면, 식물성장에 적합한 25°C 중온 배양시에는 부식산을 거의 분해하지 못했다. 부식산을 유일한 탄소원으로 포함하는 미네랄 최소배지에 토양 시료를 접종하고 15°C 액체배양하였을 때, 부식산-농화배양된 미생물 컨소시엄은 대표적인 토양 유기탄소물질(예, 4-hydroxybenzoic acid and D-cellobiose)에 대한 물질대

사능력이 향상되었으며, 리그닌 미생물 분해대사산물인 2-methoxy phenol류 화합물(예, ferulic acids and vanillic acids)를 완전히 분해할 수 있었다. 이 결과는 미생물군집 수준에서 부식질 분해대사 경로를 연구한 첫 사례로서, 알래스카 툰드라 토양 내 미생물군집은 저온에 잘 적응되어 있고 상호협력하여 부식질을 분해하는데, 이미 알려져 있는 세균의 리그닌 분해경로(vanillic acid가 주요 분해대사산물로 축적)를 통해서 부식질을 분해하리라 추정한다. 남극 연안 툰드라 토양에서 부식질 분해능이 있는 세균 균주 *Pseudomonas* sp. PAMC 29040를 분리하였으며, 부식질 초기 저분자화 효소(예, dye-decolorizing peroxidase)와 부식질 유래의 다양한 저분자 분해산물들을 분해하는 효소들(예, vanillate *O*-demethylase)를 탐색하기 위해 PAMC 29040 게놈 염기서열을 분석하였다. 미국 뉴저지주 중위도 산림토양에서 부식질 분해능이 있는 세균 균주 *Pseudomonas kribbensis* CHA-19를 분리하였으며, 이후 또 다른 토양 유기물인 리그닌과 리그닌 유래의 ferulic acid와 vanillic acid의 분해능을 확인하였다. 부식질 초기 저분자화 효소(예, dye-decolorizing peroxidase와 laccase-like multicopper oxidase)와 부식질 유래의 다양한 저분자 분해산물들을 분해하는 효소(예, vanillate *O*-demethylase와 biphenyl 2,3-dioxygenase)를 탐색하기 위해 CHA-19 게놈 염기서열을 분석하였다. 분리 세균 균주들의 유전체 분석을 통해서 확보한 효소유전자 정보는 토양 세균군집의 부식질 분해경로 제안에 활용될 것이다.

## 21. 온도 및 pH 변화에 따른 토양 원생생물의 분포 경향 분석

남극 대륙은 남극 순환류에 의해 약 2000만년 동안 고립된 환경을 유지해 오고 있고 사막과도 같은 극한 환경을 지니고 있어 생물들은 각각의 독특한 기작을 이용하여 살아 가고 있다. 남극에 서식하는 육상 환경에는 윤형동물, 선형동물, 완보동물 등이 서식하고 있으며 그중 섬모충류는 가장 높은 다양성을 보인다. 섬모충류는 단세포 진핵생물로 15 억년전에 지구상에 출현하였으며 남극의 척박한 환경에서 탄소 순환의 매개자 역할을 한다. 또한, 하나의 세포막을 가지고 있어 환경변화에 민감하게 반응하여 환경 지표종으로 이용되고 있다. 실제 극지환경 배양을 통해 저온에서 특이적으로 자라는 *Pseudonotohyrna antarctica*라는 신종을 발견하였고 해당 종은 배양 온도 4℃에서 최적 생장을 나타내었다. 본 연구를 통해 남극 기후변화 따른 섬모충 군집 변화 예측을 진행 할 예정이다.

## 22. ANTOS DB와 웹사이트 구축

기후변화가 빠른 속도로 진행되고 있는 남극생태계의 변화와 반응을 모니터링하기 위

하여 ANTOS 프로그램이 개발되었다. ANTOS에서 생산되는 생태계 관측 데이터의 통합적인 관리와 연구자 간 데이터 공유를 원활하게 할 수 있도록 데이터베이스 시스템과 홈페이지를 개발하였다. 기후에 관한 연속관측데이터, 토양, 물, 공기 등 일회적 시료의 화학 분석 데이터를 관리할 수 있는 시스템이 구축되었다.

### 23. LAPES DB와 웹사이트 구축

남극반도는 많은 국가에서 다양한 연구자들이 생태계 변화와 반응을 연구하는 지역이다. 남극생태계 연구를 효율적으로 수행하기 위하여 이들 연구자 간 네트워크를 구축하는 것이 중요하다. 이를 돕기 위하여 연구데이터와 남극 연구활동을 공유하기 위한 플랫폼으로서 LAPES (Linking of Antarctic Peninsula Ecosystem Sciences) 데이터베이스 시스템과 홈페이지를 개설하였다.



# S U M M A R Y

## **I. Title**

Modeling responses of terrestrial organisms to environmental changes on King George Island

## **II. Purpose and Necessity of R&D**

West Antarctic area is one of the most affected areas by climate changes in the world. We intended to contribute to understand responses and changes of ecosystems to climate change by developing platform technologies of prediction model for environmental changes of Antarctic terrestrial ecosystem and to develop international collaboration research program led by KOPRI.

## **III. Contents and Extent of R&D**

Long-term research goal of this project until 2025 is to develop technologies to predict what will happen on the Antarctic ecosystems by climate changes. As an initial study, from 2011 to 2013, we attempted a systematic study of the Antarctic terrestrial ecosystem and conducted researches on annual temperature changes, vegetation distributions, mosses and lichens diversity, and microbial diversity throughout the Barton Peninsula. And from 2014 to 2016, we secured basic data on biodiversity and components of ecosystem of King George Island, established long-term monitoring system for ecosystem change, identified evolutionary origins of organisms living in King George Island, and developed ecosystem research-based technology. For this period of studies during 2017 to 2019, we focused on 1) building interaction map between micro-environments and biological responses in terrestrial ecosystem of King George Island, 2) modeling biological responses, 3) contribution to international cooperation.

## **IV. R&D Results**

### **1. Actual vegetation map of Barton Peninsula**

Actual vegetation map of 2014 was completed. The none vegetated area was covered 66.99% of the total area, and the vegetated area was 33.01%. The vegetated area was thematically classified into seven subformations by growth form of dominant species. In the vegetation covered area, the largest distribution of fruticose lichen subformation was 23.52%, crustose lichen subformation was 6.51%, moss carpet subformation was 1.78%, and short moss turf subformation was 0.53%. There were 41 types of patches on the vegetation map of the Barton Peninsula of which the largest area was covered by snow, accounting for 53.62% of the total area. Among the vegetated area Us occupied the largest area with 18.90%, 5.78% with Cr, 1.59 % with Us-H, 1.27% with Sa, 1.09% with H-Us, were distributed, respectively.

### **2. Long-term observation of microclimate and soil environments**

Critical Zone Observatory (CZO) is a approach to understand the terrestrial ecosystem comprehensively. It includes observations for physical, chemical, geological, and biological phenomena in sub-terrestrial, on the ground, and atmospheric area. We observed underground water distribution, vegetation distribution, microbial metabolic activity in the ground, photosynthetic activity of bryophytes and lichens together with environmental conditions along the altitudinal gradient. Temperature differences along the gradient was very small, but water content and PAR were quite different according to the altitude, leading to different vegetation distribution.

### **3. Characteristics of geophysical data according to vegetation and active layer**

Several kinds of vegetation are distributed around King Sejong station. Vegetation in Antarctica also varies in growth rate, distribution, and area by the amount of light and moisture. Moisture, an important environmental factor that causes vegetation to grow, is supplied by the condensation and precipitation from the atmosphere, in particular, precipitation has a direct impact on the soil. The most direct way to measure the moisture content of the soil is to obtain data from the soil samples, which represents the value of the point but cannot represent the vale ov the surrounding area. Geophysical methods such as electric resistivity, GPR, and EM were used to obtain a wide range of values in a short time. Moisture distributions were measured by the above three geophysical methods in the study area where

*Sanionia*, *Ochrolechia* and *Usnea* were distributed. In the environment where *Sanionia* grows, the moisture distribution was overwhelmingly high and the soil water content was decreased from *Ochrolechia* to *Usnea*. In order to confirm the accuracy of the geophysical method, we compared the laboratory results of data sampled directly from four sites and geophysical methods. The results are in good agreement with each other.

#### **4. Characteristics and pathways of groundwater, surface water and snow in KGL01**

Groundwater is an important component of water cycle in the polar region; however, there has been little studies for groundwater in the polar region. This study investigated the hydrogeological characteristics and pathways of groundwater, surface water and snow in two lakes (named lakes A and B) in Barton Peninsula, King George Island, Antarctica. The groundwater flux of Lake A, measured by seepage meters, changed dynamically from  $-9.2 \times 10^{-7}$  m/s to  $5.3 \times 10^{-8}$  m/s, but Lake B showed a stable influx from  $1.1 \times 10^{-8}$  m/s to  $9.5 \times 10^{-10}$  m/s. The results of water quality analysis showed that compositions of Lake A groundwater were similar to those of surface water, but compositions of groundwater and surface in Lake B were distinguishable, which was consistent with the results of water quantity analysis. The isotopic analysis showed that groundwater, surface water and snow generally followed the Global Meteoric Water Line (GMWL). This study can be useful to understand the roles of groundwater in Antarctic lake systems.

#### **5. Monitoring of soil CO<sub>2</sub> efflux in KGL01**

In the Antarctic, thawing permafrost due to global warming effects is expected to have a significant effect on vegetation distribution and microbial community. It is very important to understand the mechanisms of carbon cycles in terrestrial ecosystems, as frozen soil thawing periods is likely to increase soil CO<sub>2</sub> flux with changing microbial community. Various measuring methods were used to investigate carbon dioxide emitted from the soil to the atmosphere spatially and temporally for various ground conditions on the Barton Peninsula. The amount of soil CO<sub>2</sub> flux was controlled by the degree of development of organic soil according to soil moisture, vegetation distribution, and topography.

#### **6. Monitoring of chlorophyll fluorescence in KGL01**

Physiological responses of various Antarctic organisms due to microclimate change

are essential data for prediction of Antarctic ecosystem change. To investigate the bioreactivity of bryophytes and lichens, the representative vegetation of the Antarctic ecosystem, photosynthetic performance (the effective photosynthetic yield, electron transfer rate, chlorophyll a fluorescence, light quantity and temperature) and microclimate changes (surface temperature, light quantity and soil water content) were measured in KGL01 site, Barton Peninsula. The vegetation classified by moisture gradient was divided into WET, INT (intermediate site), and DRY region, and 18 fluorescence measurement equipment and data logger were installed in 6 populations. The summer field surveys of 2018 and 2019 collected 67,000 photosynthetic performance data for 51 days. Light quantity and temperature are environmental factors affecting the region extensively, affecting the diurnal photosynthetic performance, and classified into V type and U type. On the other hand, soil moisture was a local change factor in WET, INT, and DRY regions, leading to differences in photosynthetic performance within and between populations. After two years of field research, the effects of microclimate changes on photosynthetic performance of the representative vegetation showed differences among populations, and long-term studies are needed to determine whether a decrease or increase in photosynthetic performance leads to a change in community structure.

#### **7. Breeding records of kelp gulls near terminal moraine at Potter Cove, King George Island**

Recently, Fourcade glacier on King George Island have been rapidly retreating. The glacier adjacent to Porter Cove on the Barton Peninsula has been retreating northward until 2006 and then northwestward along the glacier slope. Within Potter Cove, kelp gulls have chosen moraine area as nesting sites, and breeding colonies extended toward the glacier retreat. Northwestern winds prevailed during the egg laying and incubating periods (October–December) of kelp gulls in the survey area. In the breeding sites, moraines also tended to be placed mainly in the northwest direction of the nest. It seems that kelp gulls consider using moraine as their nest wall to minimize loss of body and incubating temperatures when they select nesting site.

#### **8. Monitoring on vegetation changes near glacial retreat area**

Maritime Antarctica, where the Barton Peninsula is located, is severely affected by climate change and accelerating glacier retreat forming new ice-free area. We

investigated the micro-topography related with vegetational succession and the succession process at the newly exposed area by Fourcade Glacier retreat in almost three decades in Potter Cove. Since the nest materials of kelp gull (*Larus dominicus*) settled down and led vegetational succession in this exposed area, psuedo-succession has been progressing rather than primary succession. As a result of comparing coverage data of vegetation between 2014 and 2018 with a permanent quadrat, lichens extend their occupation and coverages of moss and freshwater algae are similar. The flowering plants settled down in 2014 decreased around the nests, therefore, further research will be required to clarify the cause.

#### **9. Changes in the community structure of Microorganisms in the Glacier Retreat, Barton Peninsula**

By documenting the formation of new ecosystems in exposed lagoons by the melting of the glacier, Barton Peninsula due to climate change, we tried to secure data on land reclamation processes and their ecological impact in the entire Antarctic glacier region. In particular, the land exposed by the rapid retreat of the glacier on the Barton Peninsula shows a different aspect from natural cloth as the Kelp gull *Larus dominicanus* began to build nests, bringing in moss, earthworms, plants and microbials from other regions. The effects of glacier retreats in Antarctica and the spread of bird breeding sites on the settlement process of the Antarctic microbial life were studied. Each year old bird nests were analyzed and the first-year nests showed higher species diversity than second-, third- and fourth-year nests. This suggests that Biodiversity of glacial retreat areas suggests that nesting by kelp gull is the main factor.

#### **10. Changes in vegetation-microbes-soil relationship along the deglaciation chronosequence**

Ice-free areas on the coastal regions in the Antarctic Peninsula expand due to accelerated deglaciation driven by rapid climate warming. Studies on ecosystem and soil development in glacier forelands have primarily made on the northern hemisphere, whereas few studies have been conducted in the southern hemisphere, in particular very rare in the Antarctic. We examined how microbial community composition and soil properties change along the deglaciation chronosequence on the foreland of Forcade glacier, and the extent of association between vegetation, microbial communities, and soil geochemistry was also investigated. There were significant and directional changes in soil properties (soil pH decrease, increase in

total organic carbon content, etc.) and microbial community structure following the chronosequence. Deglaciation-induced soil geochemistry changes were more strongly related to shifts in bacterial community structure than those in fungal community structure. Similar results are also observed in many former studies in the northern hemisphere. Microbial community variability was explained more by spatial distance and soil property changes, but the influence of vegetation was relatively small, suggesting that linkage between aboveground and belowground ecosystem development may not be tightened during the short-term chronosequence.

#### 11. Modeling on the estimation of electron transfer rates of *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis*

We study how two flowering plants *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis* respond to environmental conditions at the individual level. The electron transfer rate (ETR) that corresponds to the photosynthesis amount was well correlated with environmental parameters including air temperature, light intensity, humidity and etc, where the coefficient of determination ranged from 67 to 78%. The air temperature measured by MONI was among the most decisive environmental parameters that influence ETR. While soil moisture was not associated with ETR, the other parameters exhibit moderate effects on ETR. In addition, the determination coefficient was improved about 8 to 18% by applying bootstrap and jackknife methods. As another story, we adopted image-based estimation of body weight in eco-friendly, nondestructive ways. Taking photos of two flowering plants followed by counting green pixels was strongly correlated with body weight (in all cases,  $R^2 > 0.9$ ). Updating the correlation by adding more samples will enable us to accomplish the real-time, long-term monitoring during field work that gives rise to estimating body weight and tracing biomass change of Antarctic flowering plants.

#### 12. Spectral characteristics of the Antarctic vegetation: A case study of the Barton peninsula

Spectroscopy is the study of light as a function of wavelength that has been emitted, reflected or scattered from a target. As photons enter a target, some are reflected from the target, some pass through the target, and some are absorbed. All natural surfaces including solid, liquid, or gas have their own physical characteristics of reflection, refraction and absorption. Monitoring of vegetation changes in the Antarctic Peninsula plays an important role in global climate change. Changes in vegetation can be obtained from optical remote sensing sensors, also known as

imaging spectroscopy. Therefore, obtaining spectral characteristics of various vegetation species in the Antarctic Peninsula is important to understand remote sensing images quantitatively. In this study, we obtain spectral reflectance of 17 vegetation species which can be easily found in the Barton Peninsula, and analyze spectral discriminant between species using spectral statistics.

**13. Impacts of snow cover on distribution of vegetation using remote sensing techniques**

Climate change in Antarctic Peninsula has brought environmental change on land cover, affecting to distribution of vegetation. In this study, we investigated relationship between distribution of vegetation including lichen and moss and snow cover, one of the environmental factors can be affected by climate change, in Barton Peninsula, King George Island, Antarctica. High-resolution multispectral images were acquired in the study area located in the vicinity of snow cover, and then used to assess the correlation between distribution of vegetation and snow cover using image processing techniques. The results showed positive correlation ( $R^2 = 0.76$ ) between distribution of vegetation and snow cover, and this can be used to predict transition of vegetation in further environmental changes.

**14. Physiological analysis of the moss *Sanionia uncinata* under reduced relative water content in Antarctic habitat**

If the recent global warming trend observed on the Antarctic Peninsula persists over the long term, increasing aridity is expected, due to the loss of glaciers that act as the main source of available water. However, the physiological responses of Antarctic mosses to this possible future decrease in water availability have not yet been investigated. Thus, we evaluated the photochemical response to a decreasing relative water content (RWC) in *Sanionia uncinata*, the dominant moss species in the maritime Antarctic. As aridity increased, chlorophyll contents and the values of several photochemical parameters decreased, indicating that *S. uncinata* is sensitive to drought and that their productivity will be negatively affected by increased aridity.

**15. Assessment of Photosynthetic performance of the Antarctic fruticose lichen *Cladonia borealis* in response to microclimate changes**

Antarctic lichens have been used as indicators of climate changes for decades, but only a few species have been studied. We assessed the photosynthetic performance

of the fruticose lichen *Cladonia borealis* under natural and laboratory conditions. Compared to that of sun-adapted *Usnea* sp., the photosynthetic performance of *C. borealis* exhibited a shade-adapted feature, and photosynthesis did not occur in dry-days when the rain was stopped. To understand its desiccation-rehydration responses, we measured changes in PSII photochemistry in *C. borealis* under the average light intensity of dawn and day times and desiccated conditions of their natural microclimate. Interestingly, samples under daytime-light and rapid-desiccation condition showed a delayed reduction of  $Fv' / Fm'$  and rETR<sub>max</sub>, and an increase of Y(II) and Y(NPQ) levels. Such results suggest that the photoprotective mechanism of *C. borealis* depends on sunlight and becomes more efficient with improved desiccation tolerance.

#### 16. Relationship between Lichen distribution and microenvironmental factors on Barton Peninsula

Lichens are known to be very sensitive to environmental conditions such as temperature, humidity, light, air pollution, and so on. The effect of environments on lichen viability have been conducted on a large geographical scale and different climate zone. However, it is also known that specific microenvironments affect lichen survival. Barton Peninsula of King George Island, Antarctica, is a small area but diverse topographical features including a variety of slopes, aspect, and altitude can lead to various microclimate and diverse vegetation such as lichens, mosses, liverworts, and vascular plants. To investigate the distribution pattern of lichens *Cladonia squamosa* and *C. gracilis* complex that are widely distributed on Barton Peninsula, a total of 177 *Cladonia* samples were collected from 11 different sites. There were several sites that were inhabited exclusively by *C. squamosa* or by *C. gracilis*. The effect of microenvironments formed by geographical topography and microclimate on the distribution of two *Cladonia* species was studied. Analysis of variance of microenvironmental factors has revealed that eastness, topographic exposure, the period of below zero temperature, distribution of moss *Sanionia uncinata*, and the genus *Andreaea*, were closely related to the distribution of *C. squamosa* and *C. gracilis*. Both lichen-forming fungi had a symbiotic relationship with *Asterochloris erici*. *A. erici* was majorly divided into three haplotypes. Distribution of three haplotypes of *A. erici* was significantly different depending on the topographic exposure and the vegetation frequency of *S. uncinata* and *Psoroma* species. It was suggested that the low temperature and direction of the slopes which can cause snow cover differences can affect the distribution of mycobiont

and photobiont, and also vegetation structures.

#### 17. Analysis of bacterial response and nitrogen metabolism related to nitrogen source

Nitrogen is essential for the existence and growth of organisms, and ecologically, nitrogen cycle is very important for ecosystem maintenance. Nitrogen fixing, ammonia oxidizing and denitrifying bacteria are difficult to cultivate to obtain a single individual, and there are not many studies in Antarctic soils, so there is not enough physiological or genetic information on bacteria involved in the nitrogen cycle. Three soil samples were enriched for nitrogen fixation (NF), ammonium oxidation (AO) and denitrification (DN) to study the characteristics of bacteria involved in the nitrogen cycle. After confirming the culture of nitrogen fixation, ammonium oxidation and denitrification by measuring nitrogen concentration, 16S rRNA gene was amplified and analyzed for bacterial communities. Bacterial community analysis showed that *Micavibrio* (*Alphaproteobacteria*), *Oxalobacteraceae* (*Betaproteobacteria*), *Pseudomonadaceae* (*Gammaproteobacteria*) and *Parachlamydiaceae* (*Chlamydiae*) were cultured in ammonium oxidizing bacterial enrichment cultures, and *Oxalobacteraceae* (*Betaproteobacteria*), *Pseudomonadaceae* (*Gammaproteobacteria*) and *Propionibacteriaceae* (*Actinobacteria*) in denitrification bacterial enrichment cultures. AO\_2C for ammonia oxidation culture and DN\_1B and DN\_3A for denitrification culture were subjected to metagenome analysis. Denitrification pathways and dissimilatory nitrite reductase pathways were found in DN\_1B and DN\_3A enriched in denitrifying bacteria, and ammonia assimilation pathway was found in AO\_2C. *Nitrosomonas* and *Nitrospira*, known as ammonium oxidizing bacteria, were cultured and genome information of a new bacterium, *Janthinobacterium* sp. AO2C, was obtained. *Oxalobacteraceae* and *Pseudomonas* were cultured and genome information of *Simplicispira* sp. DN1B and *Pseudomonas* sp. DN3A were obtained. Both bacteria were identified to have denitrification genes such as *nar*, *nir* and *nor*.

#### 18. Analysis of bacterial response and nitrogen metabolism related to nitrogen source

Lichen-associated *Rhizobiales*-1 (LAR1) lineage of the order *Rhizobiales* is known to be one of the most predominant bacterial groups in lichens that grow through the symbiotic relationship among lichenized fungi, green algae and/or cyanobacteria, and bacteria. However, due to the lack of representatives of LAR1 lineage, the function of strains of LAR1 has been inferred from the closely related cultured strains. In this study, two strains, PAMC 29128 and PAMC 29148 belong to the LAR1 lineage

were successfully cultivated from Antarctic lichen *Lichenihabitans psoromatis*. As the first study to determine physiological characteristics of LAR1 strains with appropriate nomenclature, these strains are considered to be noteworthy sources for revealing the function of LAR1 strains in the lichens.

#### **19. Temperature effects on humic substance-degradation by soil bacterial communities**

Humic acid (HA) is a major extractable component of humic substance (HS), the largest constituent of organic soil matter. To assess the effects of increased temperature on HA degradation and the microbial community, HA-rich maritime Antarctic soils were incubated at elevated temperatures (5°C and 8°C) and then compared to the frozen soil. In a microcosm system, when compared with the untreated control, the HA content steadily decreased in samples incubated at elevated temperatures and HA was presumably degraded by microbes. Compositional and structural HA changes were detected at each temperature, with the changes being more significant at 8°C than 5°C. The relative abundances of bacterial phyla Proteobacteria (copiotrophic) and Actinobacteria (polymer-degrading) slightly increased and decreased, respectively, in samples incubated at 5°C and 8°C. Archaeal and fungal community responses were not meaningful. Culture-dependent analyses of indigenous bacteria confirmed that HA addition resulted in a rapid increase of Proteobacteria dominance at both 5°C and 8°C with Alphaproteobacteria-related bacteria being highly increased during the HA-degradation process. Collectively, our results indicate that bacteria in maritime Antarctic soil degrade HA and that an increase in soil temperature due to global climate change can change the bacterial community and HA-degradation rate.

#### **20. Study on the humic substances-degradation pathways by soil bacterial isolates and communities**

The largest constituent of soil organic matter, humic substances (HS), are natural aromatic heteropolymers, with a composition similar to lignin. The microbes in a sample of subarctic tundra soil from Alaska, USA, were able to degrade humic acids (HA, a major component of HS) during microcosm experiments at a low temperature of 5°C, which is similar to natural soil temperature during the thawing period (average temperature of 5.6°C at a depth of 20 cm). The relative abundance of HA decreased to approximately 71% compared with the non-incubated soil control (100%). The microbes, however, were unable to degrade HA at 25°C, which is in the ideal soil temperature range for growing most plants. When enriched at 15°C in

liquid mineral medium provided with HA as a sole carbon source, the HA-enriched microbial consortium was metabolically activated to degrade abundant soil carbons (e.g., 4-hydroxybenzoic acid and D-cellobiose) and completely degraded 2-methoxy phenols (ferulic and vanillic acids), which are lignin-derived mono-aromatics. Our data indicate that the microbial consortium of Alaska tundra soil is cold-adapted and symbiotically degrades HS, possibly via a bacterial lignin-catabolic pathway in which vanillic acid is a primary metabolite. To our knowledge, this is the first report describing a HS-degradative pathway at the microbial consortium level. *Pseudomonas* sp. PAMC 29040 was isolated from a maritime tundra soil in Antarctica for its ability to degrade HS. The draft genome sequences of PAMC 29040 were analyzed to discover the putative genes for depolymerization of polymeric HS (e.g., dye-decolorizing peroxidase) and catabolic degradation of HS-derived small aromatics (e.g., vanillate *O*-demethylase). The information on degradative genes will be used to finally propose the HS degradation pathway(s) of soil bacteria inhabiting cold environments. *Pseudomonas kribbensis* CHA-19 was isolated from a temperate forest soil (mid latitude) in New Jersey, USA, for its ability to degrade HS, and subsequently confirmed to be able to decolorize lignin (a surrogate for HS) and catabolize lignin-derived ferulic and vanillic acids. The draft genome sequence of CHA-19 was analyzed to discover the putative genes for depolymerization of polymeric HS (e.g., dye-decolorizing peroxidases and laccase-like multicopper oxidases) and catabolic degradation of HS-derived small aromatics (e.g., vanillate *O*-demethylase and biphenyl 2,3-dioxygenase). The bacterial genes for HS degradative activity would be used to propose a HS degradation pathway of soil bacterial communities.

## 21. Analysis of distribution of soil protozoa with temperature and PH variation

Antarctica has maintained an isolated environment for about 20 million years by Antarctic cyclists and has an extreme environment like a desert, making life possible using each unique mechanisms. The land environment in Antarctica is home to rotifers, nematodes, and tardigrades, among them ciliates have the highest diversity. Ciliates are single-celled eukaryotes that appeared on Earth 1.5 billion years ago and serve as a carrier of carbon circulation in the barren Antarctic environment. In addition, it has a single cell membrane, which is used as an environmental indicator in response to environmental changes. A new species *Pseudontohymena antarctica*, which is uniquely grown at low temperature through actual polar environment cultivation, was discovered and the species represented optimal growth at 4°C of

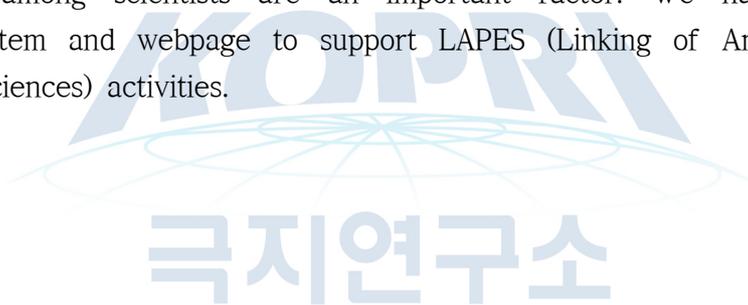
incubation temperature. Through this study, we are planning to predict the change of colony of island caterpillars due to climate change in Antarctica.

## **22. Development of ANTOS database and website**

ANTOS(Antarctic Near-Shore and Terrestrial Observation System) was developed to monitor changes and responses of Antarctic ecosystems. We developed database system and website to manage data and to make it easy to share data between scientists. Tools and systems are established to handle continuous data from weather sensors and chemical data from soil, water, and air samples.

## **23. Development of LAPES database and website**

Antarctic Peninsula is a hotspot for ecosystem researches because this area is suffering fast climate change and many scientists from many countries have research activity in this area. To enhance research activity and efficiency, cooperation among scientists are an important factor. We have developed a database system and webpage to support LAPES (Linking of Antarctic Peninsula Ecosystem Sciences) activities.



# C O N T E N T S

Chapter 1 Introduction	28
Chapter 2 Current R&D Status in Korea and Other Nations	31
Chapter 3 R&D Implementation Results; Building Interaction Map between Micro-Environments and Biological Responses in Terrestrial Ecosystem of King George Island	38
Chapter 4 R&D Implementation Results; Modeling Biological Responses	102
Chapter 5 R&D Implementation Results; Contribution to International Cooperation	221
Chapter 6 Application Plans of R&D Results	233
Chapter 7 References	236

# 목 차

제 1 장 서론	28
제 2 장 국내외 기술개발 현황	31
제 3 장 연구개발 결과 - 환경변화-생물반응 종합관계도 작성	38
제 4 장 연구개발 결과 - 생물반응 모델링 기술 개발	102
제 5 장 연구개발 결과 - 국제공동연구 네트워크 구축	221
제 6 장 연구개발결과의 활용계획	233
제 7 장 참고문헌	236

제 1 장  
서 론

Chapter 1  
Introduction



## 제 1 절 연구개발의 목적

### 1. 최종목표

#### 가. 최종목표

- Kingo지점 육상생태계 변화 예측기술 개발을 통한 남극 환경변화 연구 국제적 선도

#### 나. 최종성과물

- 환경변화에 의한 Kingo지점 육상생태계 변화 예측모델
- 대한민국 주도 남극반도 육상생태계 국제공동연구 프로그램

### 2. 단계목표

#### 가. 남극세종과학기지 주변 육상생태계의 환경변화-생물반응 종합 관계도 작성

#### 나. 환경변화에 대한 생물반응 모델링 기술 개발

#### 다. ANTOS 및 LAPES 데이터베이스 시스템 운영을 통해 남극 국제공동연구 네트워크 중심 진입

## 제 2 절 연구개발의 필요성

### 1. 2025 극지연구소 비전 및 발전전략

극지연구소는 극지연구의 글로벌 선도기관으로 발전하기 위하여 도전과 열정, 개방과 협력, 수월성 등을 연구소 핵심가치로 선정하였으며, 글로벌 이슈대응을 위해 생명현상 및 생태계 연구분야에서 극지육상생태계 장기모니터링, 생물다양성, 생물지리 변화양상 연구, 극지연안 해양생태계 기후변화 적응·평가 등을 중요 연구주제로 선정하였다. 또한 극지인프라 구축-운영 부분에서 극지과학 정보 및 자료 공유체제 구축이 중요업무로 선정되었다. 본 연구에서는 Kingo지점을 연구대상으로 기후변화에 의한 육상생태계의 반응 및 변화 규명을 주요 연구주제로 설정하였으며, 생태연구자료 DB 등 생태연구자료 공유 및 확산을 위한 연구인프라 구축을 주요 연구목표로 설정하였다.

### 2. 남극연구활동진흥기본계획(2012~2016)

남극연구활동의 중장기 추진 방향으로 '남극연구활동 확대·강화로 국제사회 선도'가 선정되었다. 또한, 남극연구활동의 글로벌 수준 도약을 위해서 글로벌 이슈 대응을 위한 남극 기후변화 연구가 주요미션으로 포함되어 있으며, 기후 변화에 따른 극지 생태계 영

향 과학 연구가 주요 연구주제로 선정되었다. 본 연구에서는 기후변화 대응기술 개발을 위한 선결 과제인 생태계변화 예측기술 개발을 장기목표로 설정하였으며, 글로벌 수준의 연구수행을 위하여 생태계 연구를 위한 첨단 기반기술 개발을 주요 연구목표로 설정하였다. 이를 활용하여 국내·외 생태계연구 네트워크 구축 및 선도를 목표로 하였다.

### 3. 정부 140대 국정과제

‘해양 신성장동력 창출 및 체계적 해양관리(과제 13)’ 과제에서 ‘남극 장보고기지 건설, 북극 항로개척 및 극지에서의 기초·응용 연구확대 등 극지에 대한 전략적 개발·활용 추진’이 중요 미션으로 선정되었다. 또한, ‘기상이변 등 기후변화 적응(과제 99)’ 과제의 세부과제로서 ‘기후·생태변화 모니터링 시스템 구축·운영 및 생물자원 조사 발굴, 위해 외래종 등 관리 강화’가 중요 미션으로 선정되었다. 본 연구에서는 기후변화에 의한 생태계 변화 예측기술 개발을 장기연구목표로 설정하였으며, 기후변화가 빠른 속도로 진행되고 있는 남극생태계를 대상으로 선제적인 연구를 수행함으로써 한반도 기후변화 대응 기술 개발에 기여할 수 있을 것이다.

### 제 3 절 연구개발의 범위

2025년까지 “기후변화에 의한 킥조지섬 생태계 변화 예측기술 개발”을 목표로 1) 세종과학기지 주변 육상생태계의 환경변화-생물반응 종합 관계도 작성, 2) 생물반응 모델링 기술 개발, 3) 국제공동연구 네트워크 구축을 수행하고자 한다. 이를 위한 기반으로 바톤반도 정밀지도, 생태계 장기관측 DB를 구축하고자 한다.



제 2 장  
국내외 기술개발 현황

Chapter 2  
Current R&D Status in Korea and Other Nations



# 제 1 절 국내 기술개발 현황

## 1. 킹조지섬 장기생태 연구 현황

우리나라의 남극 육상생태계에 대한 연구는 1988년 세종기지 완공과 더불어 기지 주변 환경조사의 일환으로 처음 실시되었으며, 주로 우점종의 분포상이 조사되었다. 1992년에는 바톤반도 전 지역에 걸쳐 방형구 조사를 실시하여 지의류 34속 42종 선태류 4속 6종이 보고되었다. 이후 육상생태계 연구는 기지 주변 생태계 변화 모니터링의 일환으로 수행되었다. 1998년에는 기지주변에 생육하는 Usnea속 지의류를 대상으로 중금속 농도 측정이 이루어졌으며, 2002년부터 3년간 기지주변의 식생도 작성을 하였다. 2011년부터 2013년까지 수행된 극지연구소 주요과제를 통해서 육상생태계에 대한 체계적인 연구가 시도되어 바톤반도 전역에 대한 연간 온도변화, 식생분포도 작성, 선태류와 지의류의 다양성, 미생물 다양성에 대한 연구가 수행되었다. 2014년부터 2016년까지 수행된 주요과제를 통해 킹조지섬의 생물다양성 및 생태계 구성요소에 대한 기초연구자료 확보, 생태계 변화 장기모니터링 셋업, 킹조지섬 서식 생물의 진화적 기원 규명, 생태계 연구 기반기술 개발 등이 수행되었다. 세부적인 연구내용은 다음과 같다.

### 가. 지형특성

지형적 특성과 기후가 동시에 작용하여 형성되는 미기후는 선태류, 지의류, 무척추동물, 미생물 등 육상생태계를 구성하고 있는 생물 분포를 결정하는 데 중요한 작용을 한다. 먼저 미세지형이 선태류, 지의류를 포함한 생물분포에 미치는 영향을 파악하기 위하여 Digital elevation model을 이용하여 고도, 경사, 사면 등의 기본정보 분석하고 고해상도의 지형자료 및 식생분포를 분석하기 위하여 드론을 이용한 이미지 자료 확보에 집중하였다.

### 나. 기온 및 지온 특성

바톤반도 전역에 걸쳐 지표 기온과 동토 활동층에 대한 연중 온도변화 관측을 수행하였다. 지표 기온의 경우 지형의 영향을 많이 받으며, 계곡과 능선, 사면과 식생분포에 의해 크기는 15도까지 동시간대 온도 차이가 있음을 확인하였다. 이로서 작은 지역적 범위 내에서도 미기후의 차이가 매우 크게 형성될 수 있음을 보여주었으며, 동시에 이 결과는 작은 지역 내에서도 다양한 생태계가 구성될 수 있음을 시사한다. 지온 데이터 분석결과 고도에 의한 영향을 크게 받으며 위치에 따라 활동층의 깊이가 서로 달랐다. 토양에서 발생하는 유기물의 전환이나 각종 미생물의 활성 연구에 기초자료로 활용될 것이다.

#### 다. 식생분포도 및 식생밀도

킹조지섬 육상생태계는 대부분의 경우 선대류와 지의류가 서식하고 있으며, 미기후 차이에 의해 매우 다양한 종류의 식생이 차별적으로 분포한다. 생태계 변화 연구의 기초자료인 식생분포도를 5년에 걸쳐 완성하였다. 바톤반도의 식생은 주로 암석으로 지표가 구성되어 있고, 경사가 크고 토양형성이 빈약하여 수분이 적은 내륙부에는 *Usnea*, *Himantormia* 등이 주요 식생을 구성하고 있으며, 경사가 완만하여 토양형성이 비교적 잘 발달하여 수분보유가 많은 연안지역에는 선대류와 *Cladonia*, *Psoroma* 등 이끼 위에 주로 서식하는 지의류의 밀도가 높고 다양하게 발달하였다.

#### 라. 미생물군집 구조 및 토양지화학 성분

바톤반도 전역에 걸쳐 표층 토양 시료에 대하여 미량원소를 포함한 지화학적 특성 분석 및 세균, 고세균, 균류를 포함한 진핵미생물 다양성 및 군집구조를 분석하였다. 토양의 생물활성, 기후변화에 의한 토양생태계의 변화 연구를 위한 기초자료로 활용될 것이다.

#### 마. 생물다양성 자료

기후변화에 의한 생태계 반응 및 변화 예측기술을 개발하기 위하여 생태계를 구성하고 있는 생물다양성 자료는 필수적이다. 선대류, 지의류, 해조류, 무척추동물, 원생동물 및 미세조류에 대하여 킹조지섬 및 남췌틀랜드군도와 남아메리카 남부 지역의 생물다양성 자료 확보했고 이들을 웹이미지 도감, 현장가이드북 등의 형태로 자료를 발간했다.

#### 바. 장기모니터링

지형, 온도, 식생분포, 미생물군집 등의 데이터를 바탕으로 서로 다른 특성을 가진 지점을 선정하여 장기모니터링 거점을 구축했다. 기온, 상대습도, 광량, 지온, 토양함수율 등의 기후자료를 연속관측하고, 매년 정기적으로 미생물군집의 변화 모니터링하고 있다. 식생밀도와 분포 변화는 3-5년 간격으로 조사할 계획이며, 원격탐사 방법을 이용하여 생물 반응 관측이 진행될 예정이다.

#### 사. 생물정보 분석기술

차세대염기서열분석기의 출현으로 미생물생태학 분야는 혁명기를 겪고 있다. 향후 이 분야를 선도하기 위해서 생물정보 분석기술의 확보는 필수적이다. 극지에서의 미생물다양성 정보 분석을 위한 필수 처리단계인 염기서열 전처리, 오류염기서열 구분, 클러스터링, 동정용 표준 염기서열 데이터베이스, 통계분석 등 전 단계에 걸쳐 최고수준의 정확성을

가진 생물정보 처리기술 개발해 왔고, 환경유전체, 환경발현유전체 데이터 분석을 위한 정보기술을 개발 중이다.

#### 아. 연구자료 관리 데이터베이스

연구자료의 안정적인 관리 및 원활한 자료공유를 위하여 생태연구자료 데이터베이스 시스템 개발하고 있다. 지리정보, 기상 자료, 생물다양성 자료, 화학분석 자료, 연구시료 자료 등 각종 연구자료의 통합관리가 필요하다. 2015년 출범한 ANTOS (Antarctic Near-shore and Terrestrial Observation System)의 데이터베이스 개발 및 데이터관리 책임을 본 연구팀이 맡게 됨에 따라, 본 연구팀의 연구자료 데이터베이스 시스템을 개선하여 세계 모든 남극생태연구자들이 공유할 수 있는 데이터베이스 시스템으로 업그레이드 중이다.

## 2. 기타 남극생태 연구 현황

킹조지섬 뿐 아니라 다른 남극 지역에서도 다양한 생태 연구활동이 진행되고 있다. “남극과학기지 포괄적 환경모니터링 및 장기환경자료 DB구축” 사업을 통해 인간활동이 기지주변의 환경에 미치는 영향 조사 중. 마리안소만 연안생태계 정점조사 수행을 통해 해양환경 변화 모니터링, pCO<sub>2</sub> 연속관측, 연안의 미세조류 장기모니터링 수행 중이다. “남극특별보호구역 모니터링 및 남극기지 환경관리에 관한 연구” 사업에서는 펭귄의 개체군 변화와 환경변화와 행동양식 변화를 모니터링하고 있다. “CCAMLR 생태계 모니터링 수행을 위한 장기 연구기반 구축” 사업을 통해 북빅토리아랜드 지역의 생태계 연구기반을 구축 중이다.

## 제 2 절 국외 기술개발 현황

### 1. SCAR 주도의 남극 생태계 관측 프로그램 운영

남극과학위원회(SCAR)에서는 다양한 남극 생태계 관측 프로그램을 운영하고 있다. AntEco(State of the Antarctic Ecosystem)는 남극, 아남극 및 남극해의 다양한 환경에 서식하는 과거와 현재의 생물다양성을 유전자에서 생태계까지 다양한 수준에서 이해도를 높이고, 이를 바탕으로 남극생태계 보전에 활용하고자 하는 프로그램이다. Ant-ERA(Antarctic Thresholds - Ecosystem Resilience and Adaptation)는 생태계의 작동기작을 유전자, 군집 및 생태계 3가지 단계에서 이해하고 이를 바탕으로 기후변화에 의한 남극생태계의 안정성과 기능변화를 예측하는 것을 목표로 한다. ANTOS(Antarctic Near-shore and Terrestrial Observing System)는 남극 대륙 전지역의 육상과 연안생태계를 대상으로 환경요인과 생물반응의 동시 종합 관측시스템을 구축하고 이를 활용한 미래변화를 예측하는 것을 목표로 하는 전문가 그룹이다. Remote Sensing은 2012년 동물 모니터링으로 시작해서, 최근 남극의 주요 식생, 암석에 대한 분광라이브러리 구축에 대한 논의를 시작한 활동가 그룹이다.

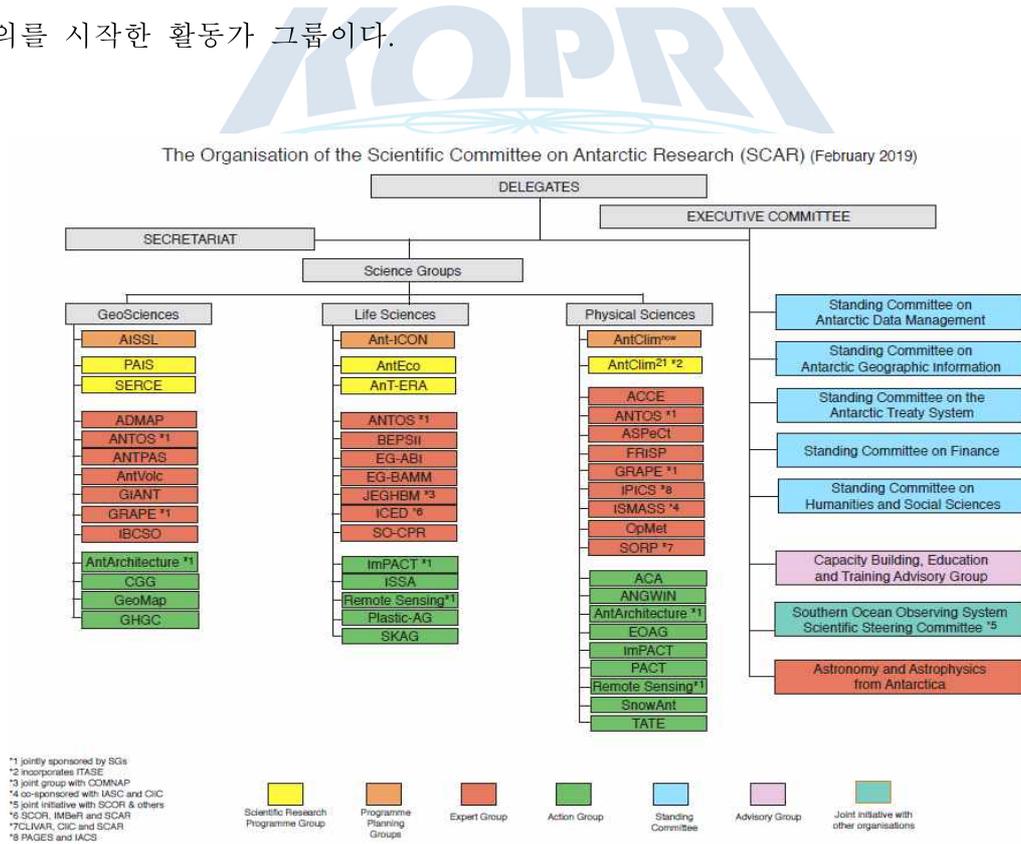


Figure 1. SCAR 과학연구 프로그램 조직도

## 2. 미국 주도의 장기 생태연구 프로그램, LTER

생태계의 변화는 오랜 기간에 걸쳐서 진행되는 특성을 가지고 있어서, 지구 환경변화가 생태계에 미치는 영향을 파악하려면 장기간의 관측과 생물 반응에 대한 생리적 작용 기작 연구가 필수적이다. 대표적인 장기 생태연구 프로그램은 미국 NSF가 1980년에 설립한 The Long Term Ecological Research(LTER) Network로서, LTER DATA portal인 DEIMS (<http://deims.org>)를 통해 전세계에서 진행 중인 LTER 관련 데이터를 공개하고 있다. LTER 프로그램 내 장기관측지역들 중 극지는 북극 LTER, 남극 맥머도 LTER, 팔머기지 LTER이 등록되어 있으나, 팔머기지 LTER은 해양생태계 관측 그룹이며, 남극반도 지역의 육상생태 장기관측 프로그램은 등록되어 있지 않다.

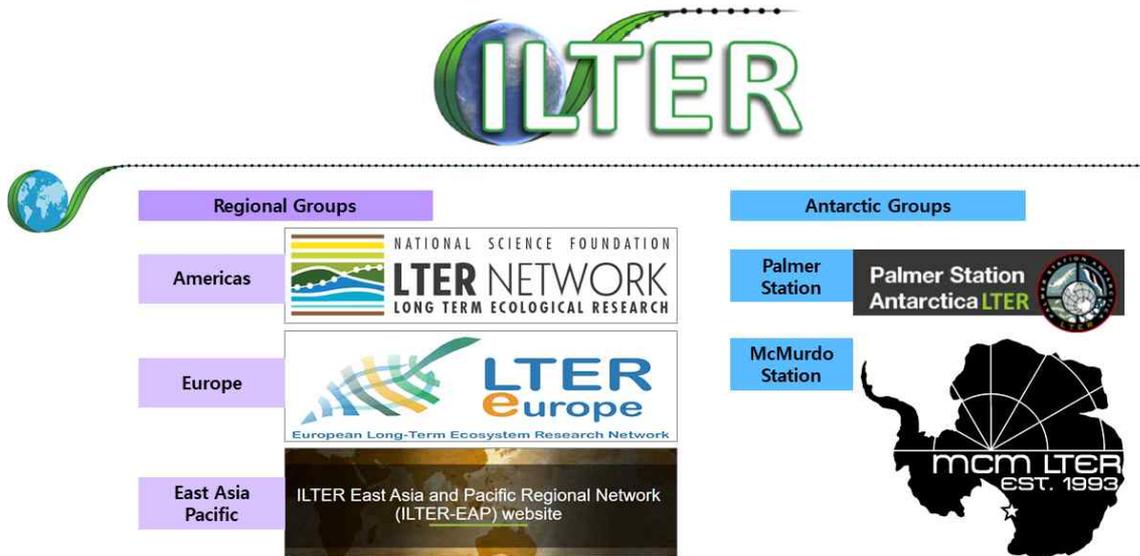


Figure 2. 국제 LTER 프로그램 구성

## 3. 크리티컬 존 관측(Critical Zone Observatory, CZO)

크리티컬 존 관측(Critical Zone Observatory, CZO)은 미국 NSF에서 진행 중인 생태 관측 프로그램으로, 현재 지표의 형태를 이루고 있는 화학적, 물리적, 지질학적, 생물학적 과정에 대하여 공간적 및 시간적 작용과 변화를 종합적으로 이해하고자 하는 다학제 연구이다. 지하 깊이 존재하는 물부터 최상부의 나무까지 지표근처에서 일어나고 있는 현상에 대한 연구로서, 생물, 바위, 공기, 물, 토양의 상호작용과 향후 식량 이용가능성과 수질 등을 고려하여 자연 서식지를 깊이 이해하고자 한다.

생태계 내 복잡한 반응을 이해하기 위하여 특히 지구 온난화의 관점에서 연구자들은

지구과학, 수문학, 미생물학, 생태학, 토양학, 그리고 공학을 포함한 다양한 연구영역의 연구자들이 critical zone을 연구하도록 권유하고 있다. 현재 미국에서만 10개의 CZO 연구 지점이 NSF 지원으로 운영되고 있으며, 남극에서는 팔머와 드라이밸리가 CZO 연구지역으로 선정되었고 현재는 Earth's Critical Zone으로 전 세계로 확대(총 46개의 지점)하는 추세이다.

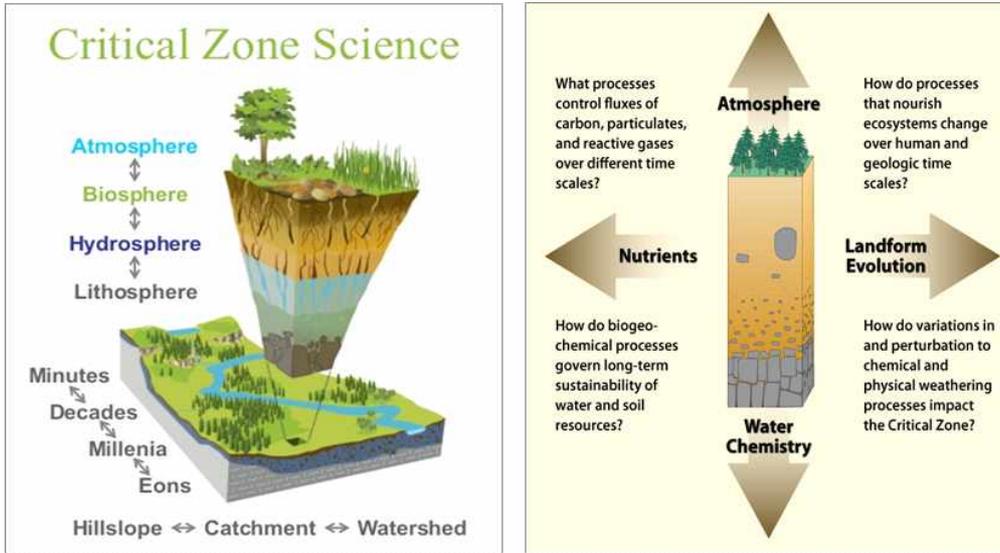


Figure 3. Critical Zone Observatory(CZO)의 개념과 파생 질문들

제 3 장  
연구개발 결과  
환경변화-생물반응 종합관계도 작성

Chapter 3  
R&D Implementation Results;  
Building Interaction Map between Micro-Environments and  
Biological Responses in Terrestrial Ecosystem of King  
George Island

# 제 1 절 바톤반도 현존식생도 작성

## Actual vegetation map of Barton Peninsula

### 1. 서론

남극세종과학기지가 위치한 킹조지섬 바톤반도에서 식생과 경관의 공간분포를 파악하는 것은 생태학적 연구 뿐 아니라, 지리학적 연구에서도 중요한 기초자료로 활용될 수 있다(Shin et al. 2014, Vieira et al. 2014). 자연경관을 구분할 때는 상관(physiognomy)을 이용한 전통적 분류가 보편적으로 사용되고 있다. 상관에 의한 식생 경관을 도면화한 것을 현존식생도라 한다. 해양성 남극역을 포함한 남극지역에서 상관을 이용하여 이루어진 Longton(1967)의 연구는 후대의 연구자들에 의해 자주 인용되고 있다(Lewis Smith 1972, Lewis Smith and Gimingham 1976, Kim et al. 2007). 1970년대부터 1980년대 초반까지 해양성 남극역에 위치한 Elephant 섬과 킹조지섬의 Admiralty 만 등에서 식생의 유형을 구분하는 연구가 활발히 진행되었다. Lindsay(1971)은 남쉐틀랜드 군도의 Livingston 섬에서 식생의 대상 분포에 관한 연구를 진행하였는데, 해안으로부터 유입되는 무기염류가 식생의 분포에 영향을 미친다고 보고한 바 있다. 2000년대 이후 항공사진이나 인공위성 영상들을 활용한 식생 분포 연구가 활발하게 진행되고 있다(Michel et al. 2006, Francelinno et al. 2011). 이러한 방법은 직접조사에 비해서 객관적인 자료를 제공할 수 있으며, 보다 넓은 지역에서 식생 분포와 변화를 주기적으로 관찰하는 데 유용하다. 그러나 아직까지 직접조사 없이 영상자료로부터 획득된 자료를 판독하는 데는 한계가 있다. 2007년 이후에는 차등 범지구 위치결정 시스템(differential global positioning system, DGPS) 등을 이용하여 정밀하게 측정된 자료를 지리 분석시스템(geological information system, GIS)기법을 활용하여 분석함으로써 수집된 자료의 객관성과 정보의 해상력을 높이고 있다. 하지만, 이러한 방법 역시 넓은 면적을 조사하는 데 한계가 있다(Kim et al. 2007, Preira et al. 2007).

바톤반도에서는 2007년에 Kim 등(2007)이 세종과학기지 주변의 식생분포와 군집의 유형에 관한 연구를 진행한 바 있으며, 그 이후에 환경부가 주관하여 바톤반도에 위치한 남극특별보호구역 171과 주변지역의 식생분포에 관한 모니터링을 실시하였다(환경부 2013). 또한 2014년에는 Shin 등(2014)이 고해상력의 인공위성 사진을 활용하여 바톤반도 식생의 활력을 이용한 지도를 제작하여 연간 기상변화가 이 지역에서 식생의 활력도에 영향을 미치는 밝힌 바 있다.

본 연구에서는 바톤반도에서 기후변화에 따른 생태계의 변화를 연구하기 위한 기초

자료로 활용하기 위하여 그리고 장기 모니터링을 위한 기준자료로 활용하기 위하여 바톤반도 전체에 대한 정밀 현존식생도를 직접조사법에 의해서 제작하였다. 또한 각 식생유형의 분포에 미치는 환경요인의 영향을 경관 규모(바톤반도 전체)에서 파악하였다.

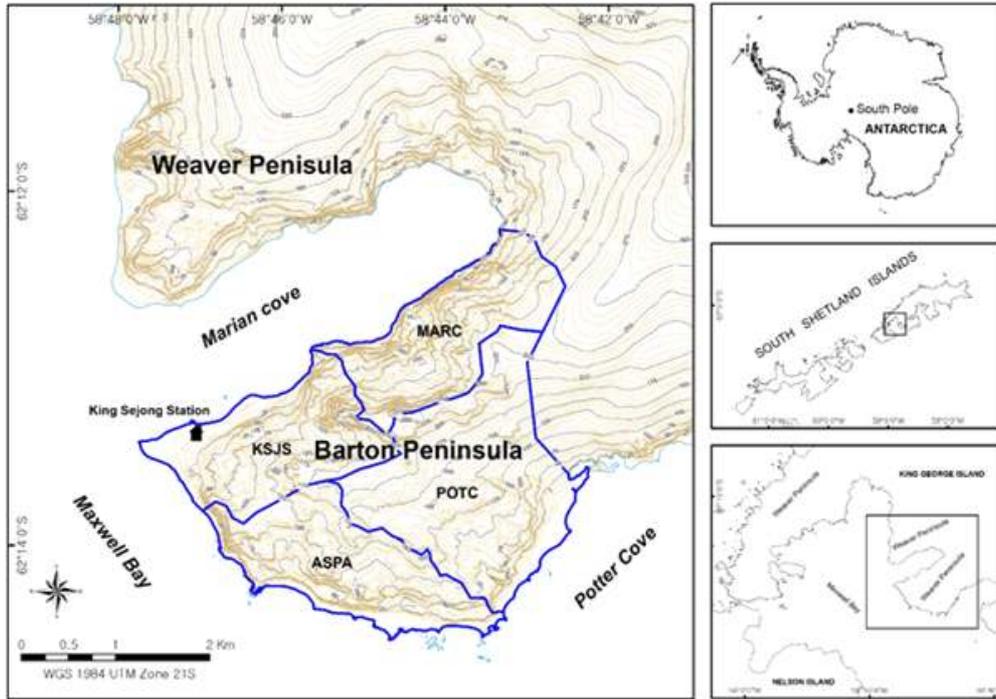
## 2. 재료 및 방법

### 가. 조사 지역

킹조지섬의 남서쪽에 위치한 바톤반도를 대상으로 식생분포 지도를 작성하였다. 바톤반도는 여름철 용설로 인하여 약 4 x 3 km의 면적이 노출되며, 반도의 중심부는 해발 90 - 290 m 정도이다. 가장 높은 봉우리는 295 m(Noel Hill)이며 주변의 봉우리들의 고도는 약 200 m이다. 바톤반도의 기질은 4 종류의 기저암(granodiorite, basaltic andesite, lapilli tuff, and Sejong formation)으로 구성되어 있다(Figure 1)(Lee et al. 2004).

### 나. 식생분포 지도 작성

현존식생도는 조사구역 전반을 도보로 이동하면서 식생의 균질성과 우점종을 확인해가면서 우점종 혹은 우점종과 차우점종의 혼합정도로서 식생유형을 구분하여 경계선을 지도에 작성하였다. 지도를 작성할 때 현장에서 작성한 식생유형의 최소면적은 25 m<sup>2</sup>로 하여 작도하였다. 바톤반도에서 출현이 확인된 식생의 유형 구분은 해양성 남극권의 식생을 식물사회학적 방법에 의해서 분류한 Longton(1967)과, 킹조지섬의 바톤 반도에 위치한 남극세종과학기지 인근의 식생을 분류한 Kim 등(2007)의 분류 체계를 인용하였다. Longton(1967)은 해양성 남극권에 분포하는 식생을 상관에 의하여 남극현화식물 군계(Antarctic phanerogam formation)와 남극은화식물 군계(Antarctic cryptogam formation)로 구분하였다. 해양성 남극역을 포함한 남극지역에서 현화식물은 남극좁새풀(*Deschampsia antarctica*)과 남극개미자리(*Colobanthus quitensis*)의 2종이 분포하며, 바톤 반도에서도 이 두 종이 분포하고 있다(환경부 2013). 그러나 두 종의 현화식물이 해안가에 인접하여 적은 수도로 출현하고 있고, 해안가에 생육하는 군집 내에서 차지하는 피도도 높지 않아서 대분류의 수준인 군계(formation) 수준으로 구분하기에는 무리가 있다. 따라서 현존식생도 작성을 위한 조사지역의 식생은 우점종의 생육형태로 구분한 중분류의 수준인 아군계(subformation) 수준에서 유형화하였다. 또한 아군계 이하의 군락(association)은 우점종과 차우점종의 혼합정도에 의해서 '우점종의 속명-차우점종의 속명'으로 명명하였다(Table 1).



**Figure 1.** Map showing the location of Barton Peninsula, King George Island, Antarctica. KSJS: Around King Sejong Station, MARC: Adjacent to Marian cove, POTC: Adjacent to Potter cove, ASPA: Including ASPA (Antarctic Specially Protected Area) No. 171.

극지연구소

**Table 1.** Classification of thematic classes and vegetation types by physiognomy for the mapping of actual vegetation map

Category	Thematic classes (subformation)	Community (association)	Dominant species	Remark
Vegetation	Crustose lichen subformation	Ca	<i>Caloplaca</i> spp.	Halophilous
		Cah	<i>Caloplaca holocarpa</i>	Halophilous
		Cr	Crustose lichens	
		Cr–An	Crustose lichens– <i>Andreaea</i> spp.	
		Cr–H	Crustose lichens – <i>Himantormialugubris</i>	
		Cr–S	Crustose lichens – <i>Sanionia</i> spp.	
		Cr–Us	Crustose lichens – <i>Usnea</i> spp.	
		Hae	<i>Haematoma erythroma</i>	Halophilous
	Fruticose lichen subformation	H	<i>Himantormia lugubris</i>	
		H–Cr	<i>Himantormia lugubris</i> – Crustose lichens	
		H–Us	<i>Himantormia lugubris</i> – <i>Usnea</i> spp.	
		R	<i>Ramalina terebrata</i>	Halophilous
		Us	<i>Usnea</i> spp.	
		Us–An	<i>Usnea</i> spp.– <i>Andreaea</i> spp.	
		Usan–Cr	<i>Usnea antarctica</i> – crustose lichens	
		Us–Cr	<i>Usnea</i> spp.– crustose lichens	
		Us–H	<i>Usnea</i> spp.– <i>Himantormia lugubris</i>	
		Us–S	<i>Usnea</i> spp.– <i>Sanionia</i> spp.	
	Squamulose lichen subformation	Oc–Sa	<i>Ochrolechia frigida</i> – <i>Sanionia</i> spp.	
Ps		<i>Psoroma</i> spp.		
Short moss turf subformation	An	<i>Andreaea</i> spp.		
	An–Cr	<i>Andreaea</i> spp.– crustose lichens		
	An–S	<i>Andreaea</i> spp.– <i>Sanionia</i> spp.		
	An–Us	<i>Andreaea</i> spp.– <i>Usnea</i> spp.		
	Bry	<i>Bryum</i> spp.		
Tall moss turf subformation	Chr	<i>Chorisodontium aciphyllum</i>		
	Chr–S	<i>Chorisodontium aciphyllum</i> – <i>Sanionia</i> spp.		
	Chr–Us	<i>Chorisodontium aciphyllum</i> – <i>Usnea</i> spp.		
Moss carpet subformation	Sa	<i>Sanionia</i> spp.		
	S–A	<i>Sanionia</i> spp. – <i>Andreaea</i> spp.		
	S–Cr	<i>Sanionia</i> spp. – Crustose lichens		
	S–Us	<i>Sanionia</i> spp. – <i>Usnea</i> spp.		
	War	<i>Warnstorfia</i> spp.		
Macroscopic alga subformation	Pr	<i>Prasiola crispa</i>		
	Pr–Chr	<i>Prasiola crispa</i> – <i>Chorisodontium aciphyllum</i>		
None vegetation	Beach		–	
	Naked field		Non–vegetation area	
	Nest		Penguin's nest	
	Path		Penguin's movement path	
	Water		–	
	Snow	Snow	–	

#### 다. 현존식생도의 작성 및 디지털이징

현존식생도는 2007년과 2012년부터 2018년 사이에 이루어진 7회의 현장조사를 통해 작성되었다. 바톤반도에 대한 기본 도면은 2007년과 2013년도에 바톤 반도 일부지역에 대한 기본 도면을 완성한 후에 비교적 관찰이 쉬운 눈으로 덮인 경계의 변화를 2013년부터 해마다 변화를 파악하였다. 전체지역에서 군락의 경계를 표시하는 상세한 조사는 연도별로 단계적으로 작성하였다. 2007년 촬영한 항공사진을 활용하여 전체 식생의 경계를 보완하였고, 2014년 구글 지도를 활용하여 눈이 덮인 지역의 경계를 완성하였다. 현장에서 작성한 도면을 분석하기 위해서 Arc GIS 10.2 소프트웨어를 이용하여 디지털화 작업을 하였다(ESRI 2011). 현존식생도 상에서 각 식생유형별로 면적을 구한 후 각 식생유형별 단위면적당 건중량 자료를 이용하여 전체조사지역의 현존 식물량을 구하였다(환경부 2007, Choi 2015). 현존식생도상에 표기한 식생유형 중 건중량 자료가 없는 것은 Table 2의 자료를 이용하여 가장 유사한 식생유형의 값을 이용하거나 두 종류 식생의 평균값을 이용하였다.

#### 라. 경관 패턴 분석

경관 패턴 분석은 지역적 식생 패턴과 비교하고 장기 모니터링을 위한 자료를 제공하기 위해서 진행하였다. 식생 패치의 구성은 직접조사 방법을 통해 얻었다. 본 연구에서는 수작업으로 작성한 경계와 프랙탈 지수 (면적/둘레)에서 나타나는 차이를 보정하기 위하여 수작업으로 작성한 다각형들을 1-m 공간해상도의 주사 이미지(raster image)로 전환하여 분석하였다. 경관 패턴 구성은 전체 면적, 패치의 수, 패치의 형태 다양성지수, 패치의 비율로 계산하였다. 경관의 공간 배치를 위하여 프랙탈 지수, 패치 형상 지수, 근접지수 등을 계산하였다.

**Table 2.** Proportion of each vegetation types (communities)

Category	Thematic classes (subformation)	No.	community	Area(m <sup>2</sup> )	Ratio(%)
Vegetation (33.01%)	Crustose lichen subformation	1	Ca	1,150	0.01
		2	Cah	441	0.00
		3	Cr	636,554	5.78
		4	Cr-An	3,528	0.03
		5	Cr-H	6,121	0.06
		6	Cr-S	23,939	0.22
		7	Cr-Us	41,605	0.38
		8	Hae	3,136	0.03
	Fruticose lichen subformation	9	H	34,465	0.31
		10	H-Cr	37,255	0.34
		11	H-Us	120,286	1.09
		12	R	222	0.00
		13	Us	2,079,445	18.90
		14	Us-An	10,497	0.10
		15	Usan-Cr	8,072	0.07
		16	Us-Cr	71,252	0.65
		17	Us-H	174,827	1.59
		18	Us-S	51,725	0.47
Squamulose lichen subformation	19	Oc-Sa	1,241	0.01	
	20	Ps	1,034	0.01	
Short moss turf subformation	21	An	36,771	0.33	
	22	An-Cr	9,390	0.09	
	23	An-S	3,714	0.03	
	24	An-Us	7,666	0.07	
	25	Bry	1,207	0.01	
Tall moss turf subformation	26	Chr	1,075	0.01	
	27	Chr-S	3,177	0.03	
	28	Chr-Us	2,793	0.03	
Moss carpet subformation	29	Sa	139,442	1.27	
	30	S-A	3,884	0.04	
	31	S-Cr	813	0.01	
	32	S-Us	51,401	0.47	
	33	War	197	0.00	
Macroscopic alga subformation	34	Pr	63,354	0.58	
	35	Pr-Chr	172	0.00	
None Vegetation (66.99%)	Naked field	36	Beach	5,797	0.05
		37	NA	1,411,321	12.83
		38	Nest	12,578	0.11
		39	Path	3,879	0.04
	Water	40	Pond	37,855	0.34
	Snow	41	Snow	5,900,530	53.62
Total				11,003,811	100.00

### 3. 결과 및 토의

현존식생도(Figure 2)는 2014년의 바톤반도의 현존식생도이다. 식생도의 많은 부분은 눈으로 덮여 있으며, 특히 빙하주변이나 산등성이의 남사면에 분포하고 있음을 알 수 있다. 식생이 없는 지역인 회색지역은 빙하 인근과 해안지역에 분포하고 있다. 바톤반도의 구릉 지역은 *Usnea* spp. 우점 식생(Us-)이 넓게 분포하고 있는 반면, 갈색으로 표시된 *Himantormia lugubris* 우점 식생(H-)은 산등성이 지역에 분포하고 있다. 산지의 중간고도에서 우점하는 식생은 옅은 녹색으로 표시된 *Chorisodontium aciphyllum* 식생(Chr-)이며, 옅은 파란색으로 표시한 부분은 *Prasiola crispa* 우점식생(Pr-)이다. *Sanionia* spp. 우점식생은 (Sa-) 해안지역에서 우점하였다.

바톤반도 전체 지역 중 식생으로 덮여있지 않은 지역은 66.99% 이었으며, 식생이 분포하는 지역은 전체 면적의 33.01% 이었다(Table 2). 식생이 분포하는 지역은 우점종의 생육형을 기준으로 7개의 아군계(subformation)로 구분되었다. 가장 넓은 지역에 분포하는 아군계는 수지상 지의류 아군계(fruticose lichen subformation)로 23.52%, 고착지의류 아군계(crustose lichen subformation)는 6.51%, 이끼 카펫 아군계(moss carpet subformation)는 1.78%, 그리고 키작은 이끼층 아군계(short moss turf subformation)는 0.53%를 차지하였다. 바톤반도의 식생도에는 41개의 패치형태가 존재한다. 그 중 가장 넓은 지역을 차지하는 눈 패치는 전체면적의 53.62% 이었다. 식생이 분포하는 지역 중 가장 넓은 지역을 차지하는 식생형태는 *Usnea*(Us)로 18.90%를 차지하였으며 고착지의류(Cr)는 5.78%, *Usnea-Himantormia* 패치(Us-H)는 1.59 %, *Sanionia*(Sa)는 1.27%, H-Us 패치는 1.09%를 각각 차지하였다(Figure 2, Table 2).

바톤반도의 경관 모자이크를 현존 식생도에 의해 설명하기 위해서 자연경계인 집수역에 의해서 4개 권역으로 나누었다(Figure 1). 맥스웰 만과 인접하고 있는 ASPA 권역과 POTC 권역은 경사가 완만하고 유역의 면적이 넓은 편인데 넓게 발달한 해안에는 이끼류가 넓은 면적을 차지하고 있으며, 산지에는 지의류가 우점하고 있다. 하지만 마리안 소만과 인접하고 있는 MARC 권역은 경사가 급하고 지의류가 대부분의 면적을 차지하고 있다. 각 권역별로 눈 녹음에 따른 식생유형의 면적변화가 큰 곳은 ASPA 권역과 POTC 권역이었는데, 증가하는 유형은 Snow 패치이었다. ASPA 권역에서 면적이 크게 감소하는 유형은 전체조사지역에서와 마찬가지로 Cr 유형, Cr-Us 유형, NA 유형이었으며, POTC 권역에서는 *Himantormia lugubris*우점식생(H)의 면적이 크게 감소하였다.

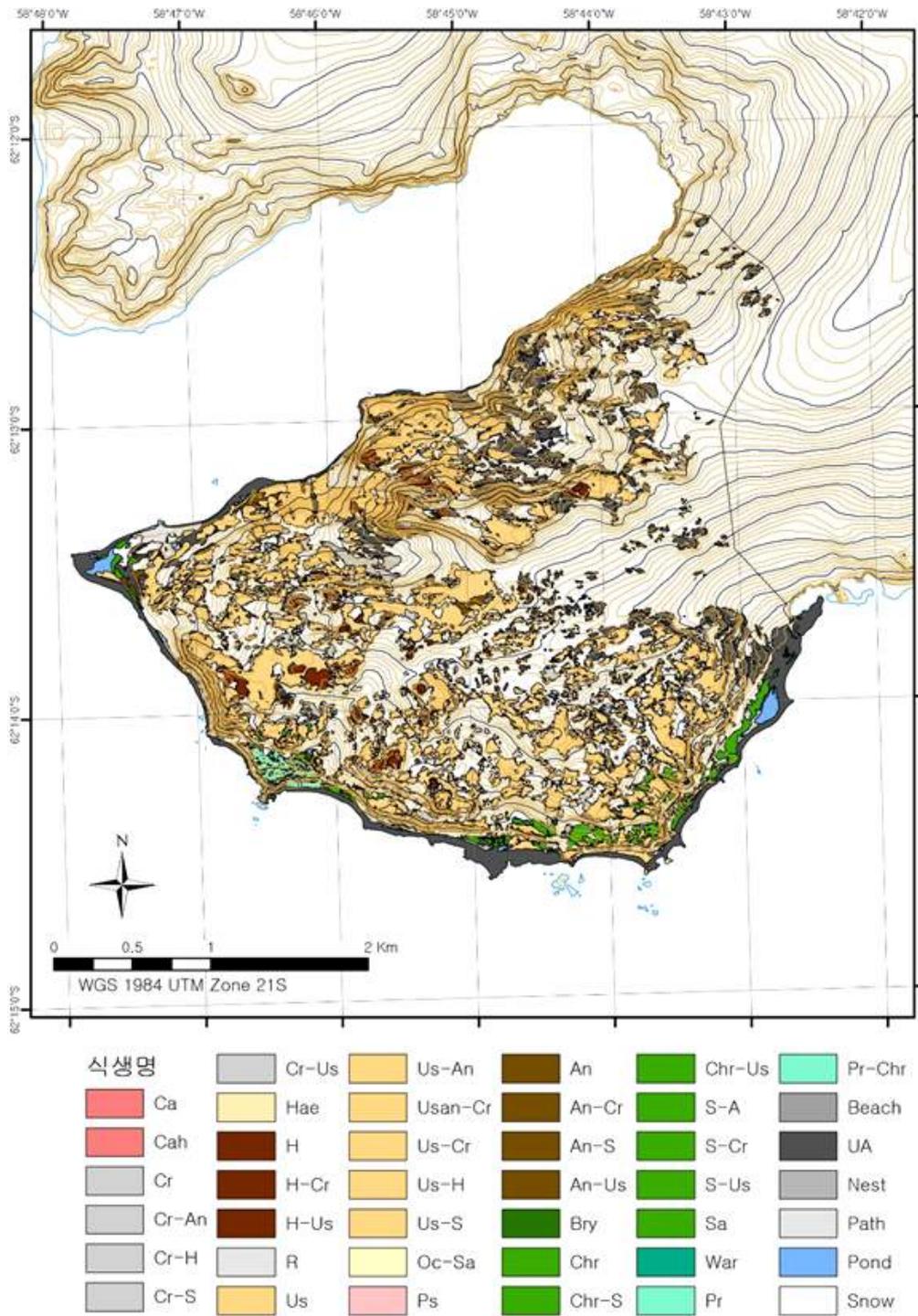


Figure 2. Actual vegetation map of Barton Peninsula. (for abbreviations explanation see Table 1)

## 제 2 절 바톤반도 미기상과 토양 환경 변화 장기 관측

### Long-term observation of microclimate and soil environments

#### 1. 서론

남극 육상생태계를 구성하는 선대류, 지의류, 균류, 세균 등의 다양한 생물들은 온도, 습도, 광량 등 여러 환경요인의 영향을 받는다. 또한 생물간 상호작용에 의해서 생태계 구성에 영향을 주기도 한다. 남극의 환경은 계절에 따라 끊임없이 변화하며 생태계를 구성하는 생물들은 이에 대해 반응하며 안정적인 생태계를 구성하고 있다. 끊임없이 변화하는 환경 속에서 남극 육상생태계의 생물들의 대응법과, 생태계 구성의 변화를 이해하려면 다양한 구성요소를 동시에 관측하고 상호작용을 이해할 필요가 있다.

생태계를 종합적으로 이해하기 위한 연구방법인 크리티컬 존 관측(Critical Zone Observatory)은 미국 NSF에서 추진 중인 프로그램으로, 현재 지표면의 형태를 이루고 있는 화학적, 물리적, 지질학적, 생물학적 과정에 대하여 시공간적 작용과 변화를 종합적으로 이해하기 위한 다학제 연구 프로젝트이다. 지구온난화의 관점에서 복잡한 환경반응을 이해하기 위하여 연구자들은 지구과학, 수문학, 미생물학, 생태학, 토양학, 그리고 공학을 포함한 다양한 연구영역의 연구자들이 크리티컬 존을 연구하도록 권유하고 있다. 본 과제에서는 수분과 눈의 분포를 중심으로 식생 구분이 뚜렷한 포터소만 쪽 사면 중간의 호수와 주변 식생지 KGL01(62°14'24.140"S, 58°44'36.571"W)를 크리티컬 존 관측 지역으로 선정하였고, 두 번째 집중조사지역으로 최근 급격한 빙하 감소로 노출지역이 꾸준히 증가하고 있는 포터소만 포케이드 빙하후퇴지역을 선정하였다(Figure 1).

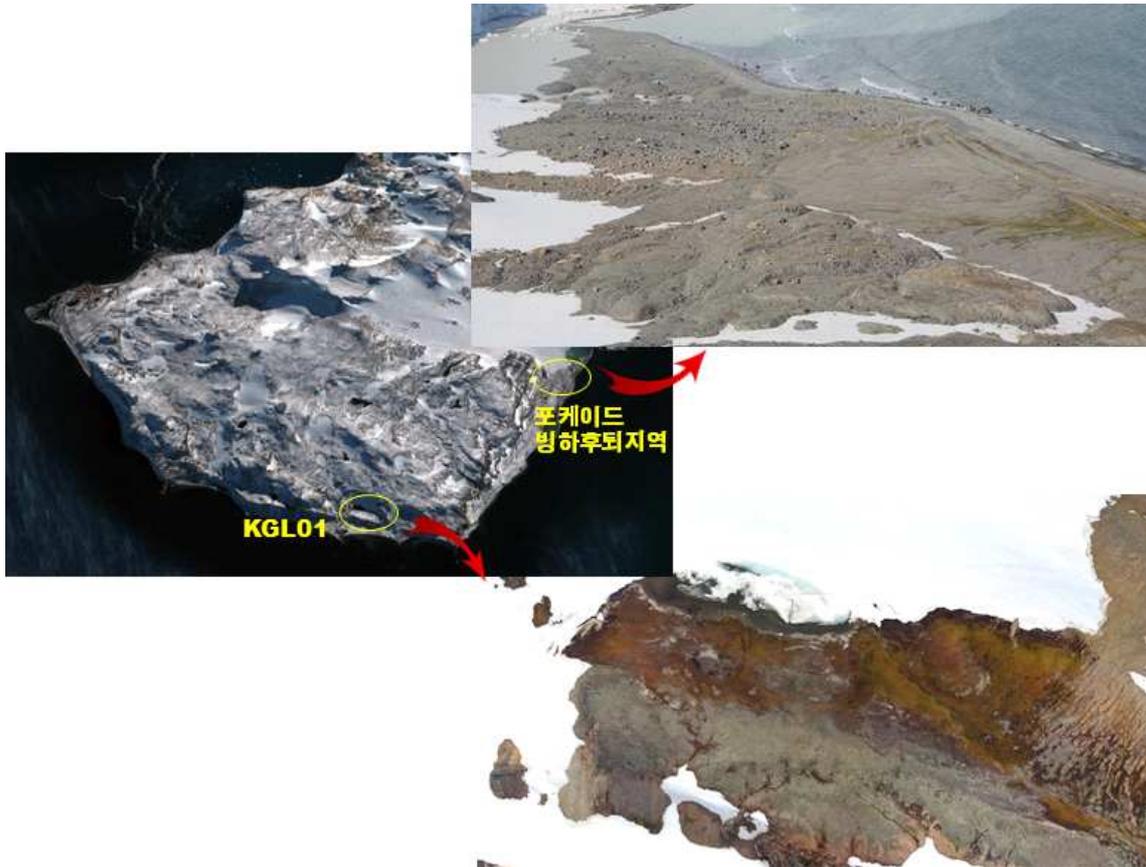


Figure 1. 바톤반도 집중조사지역으로 선정한 KGL01과 포케이드 빙하후퇴지역의 바톤반도 내 위치와 전경

## 2. 재료 및 방법

### 가. 토양 및 지표환경 변화 관측

토양과 지표환경 변화를 관측하기 위하여 HOBO 사의 로거와 센서를 이용하였다. 토양환경 변화를 관측하기 위하여 온도센서와 토양함수율 센서를 지중 5 cm 깊이에 설치하여 연중 관측하였다. 지표환경의 변화를 관측하기 위하여 광량 센서(PAR)와 기온-상대습도 센서를 지표로부터 10 cm 높이에 설치하여 연중 관측하였다.

## 3. 결과 및 토의

바톤반도 전역을 대상으로 15지역에 대하여 센서와 로거를 설치하여 2014년 1월부터 2016년 12월까지 3년간 환경변화를 관찰한 결과 3년간 기온은 상승하는 경향을 보이며 지역별 편차가 점점 커지는 경향을 나타냈다(Figure 2). 상대습도는 전반적으로 감소하는

경향을 보이며, 지역별 편차는 반대로 커지는 경향을 보였다. 50cm 높이의 기온과 상대 습도는 지표면의 기온이나 상대습도와 큰 차이를 보였다. 이는 지의류와 선대류의 서식환경은 상층의 공기뿐 아니라 지표에서 생성되는 조건에 따라 변화하는 온도와 수분의 활용성에 영향을 받는다는 점을 시사한다. *Psoroma* 서식지와 *Stereocaulon* 서식지는 상대적으로 높은 온도와 상대습도를 유지하였으며, *Usnea* 서식지는 해안가와 고산지대 간 매우 큰 편차를 보이며 이는 각 지역에 서식하는 *Usnea* 종의 형태적 차이와 연관성이 있었다.

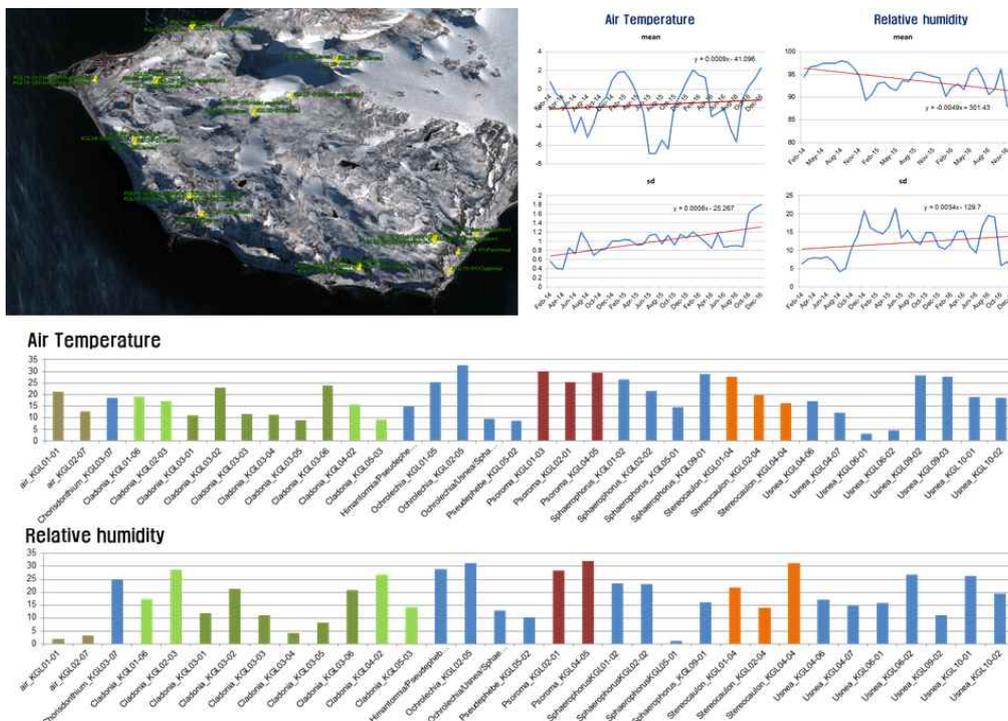


Figure 2. 바튼반도의 미환경 변화 및 식생별 온도와 습도 차이

환경요소와 생태계 구성간의 관계를 파악하기 위하여 KGL01 지역에 대하여 지중 구조, 지표환경 특성, 토양미생물 활성, 선대류와 지의류의 구성, 광합성생물의 광합성 특성 등을 종합적으로 관찰하였다(Figure 3). 환경특성을 관찰하기 위하여 다양한 센서를 활용하였으며, 2018년 1월부터 2019년 1월까지 1년간의 데이터를 분석하였다. KGL01 지역은 완만한 경사지로서 고도가 낮은 지역은 수분이 많은 지역으로서 *Sanionia uncinata*가 초록색으로 매우 건강하게 성장하는 지역이다(CZO1). 이곳으로부터 조금 고도가 높아지는 지역은 *S. uncinata*가 주로 서식하는데 노란색을 가지고 있어서 건강성이 조금 낮은 지역으로 보인다(CZO2). 고도가 조금 더 높아지는 지역은 여전히 *S. uncinata*가 존재하지만

매우 건조한 지역이다(CZO3). 그 이후에는 차례로 *Polytrichastrum* sp. 서식지 (CZO4), *Cladonia* sp. 서식지(CZO5), *Usnea antarctica* 서식지(CZO6)로 구성되어 있다. 토양수분의 경우 하계기간에는 고도에 따른 구배가 명확히 나타났으며, 4월-11월 동안은 경향성이 역전되는 것으로 나타났다. 겨울기간 동안 토양수분 관측치에 대한 이러한 경향은 토양의 동결에 의한 결과라고 판단된다. 위치별 온도 차이는 크게 나타나지 않았다. 하계와 동계기간동안 PAR 수치의 위치별 차이는 거의 보이지 않았다. 반면 8월 이후 일조량이 늘어나는 기간 동안 *Usnea* 서식지와 이외의 지역간 PAR 차이가 크게 나타나며 이러한 차이는 11월 초 전체적으로 눈이 녹는 기간에 없어졌다. 이 결과는 *Usnea* 서식지 이외 CZO1~CZO5 지역은 겨울동안 눈에 덮여 있다는 것을 의미한다. 11월이 되어 전체적으로 눈이 녹으면서 PAR 값을 회복하는 것으로 판단된다.



**Figure 3.** KGL01 지역 미기상 요소 연속 관측 자료. 토양 수분(위), 토양 온도(가운데), 광량(아래). CZO1, 물이 많은 지역, 초록색 *Sanionia uncinata* 서식지; CZO2, 노란색 *S. uncinata* 서식지; CZO3, 마른 지역, *S. uncinata* 서식지; CZO4, *Polytrichastrum* sp. 서식지; CZO6, *Usnea antarctica* 서식지.

### 제 3 절 식생분포와 활동층에 따른 지구물리자료의 특성

## Characteristics of geophysical data according to vegetation and active layer

### 1. 서론

세종과학기지가 위치한 킹조지섬에는 다양한 식생이 분포한다. 이 식생들의 종류는 대부분 이끼와 지의류이다. 최근 지구온난화가 지속되면서 킹조지섬 주변 온도가 상승하는 추세이다. 온도가 상승함에 따라 비가 오는 날이 많아지고 주변 빙하도 빠르게 녹고 있으며 많은 눈으로 연중 내내 피복 되어있던 지형이 점차 드러나 그 곳에도 이끼와 지의류가 자라는 면적이 늘고 있다. 육지 위에 존재하는 빙하와 연중 내내 쌓여있던 눈이 녹아 물이 되고 그 물을 이용해 이끼와 지의류가 자라는 것으로 판단된다. 식생이 자라는데 중요한 요소 중 하나인 물이 땅 속으로 들어가거나 수로를 형성하여 주변에 풍부한 식생의 성장을 돕는데 지구물리 자료를 취득하여 지하수분 분포에 따른 식생분포의 연관성을 연구하였고 추가로 활동층과 동토층에 대해서도 알아보았다.

### 2. 연구 방법

토양은 수분함량에 따라 다른 물리적 특성이 나타난다. 수분함량이 높은 토양은 전기적 저항이 낮아 전류를 흘리게 되면 손실이 적어 전류를 잘 흐르게 한다. 그리고 물은 유전율이 가장 높아 레이더 신호를 감쇠시킨다. 반대로 수분함량이 낮은 토양은 전기적 저항이 높아 전류를 흘리게 되면 손실이 커 전류가 잘 흐르지 않고 유전율이 낮아 레이더 신호를 감쇠시킨다. 물이 갖는 물리적 특성을 이용해 이번 연구에서 전기비저항탐사(ERT), 레이더탐사(GPR), 전자탐사(EM)를 실시하여 토양의 물리적인 특성을 파악하고 그에 따른 식생의 분포와 연관지었다. 그리고 위의 연구방법과 탄성파탐사를 추가로 실시하여 연구시기 활동층과 동토층의 경계를 알아보았다.

### 3. 결과

측선의 좌측(0m 지점 방향)으로는 산이 있고 측선의 우측으로(40m 지점 방향)는 바다가 있는 현장은 크게 3가지의 식생이 분포한다. 0~21m 지점은 이끼인 Sanionia가 우세하고 21~30m 지점과 30~40m 지점은 지의류인 Ochrolechia와 Usnea가 각각 우세하게 존재한다 (Figure 1). 측선의 11m 지점에는 수로가 있어 물이 흐르는 환경이고 조사

시기는 1~2월로 산 비탈면에서 쌓여있던 눈이 녹는 시기였다. 온도는 0~5도 사이에서 변화였다.

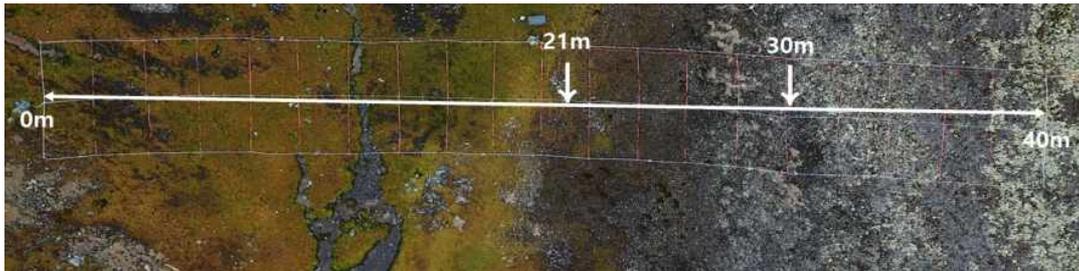


Figure 1. Survey site

전기비저항탐사 자료를 얻기 위해 전극개수 40개, 전극간격 1m, 배열법은 웨너 배열을 사용하였고 레이더탐사 자료는 주파수 500MHz 안테나를 이용해 Step mode 10cm 간격으로 얻었다. 전자탐사 자료는 Step mode로 1m 간격 수평배열과 수직배열로 자료를 취득하였다.

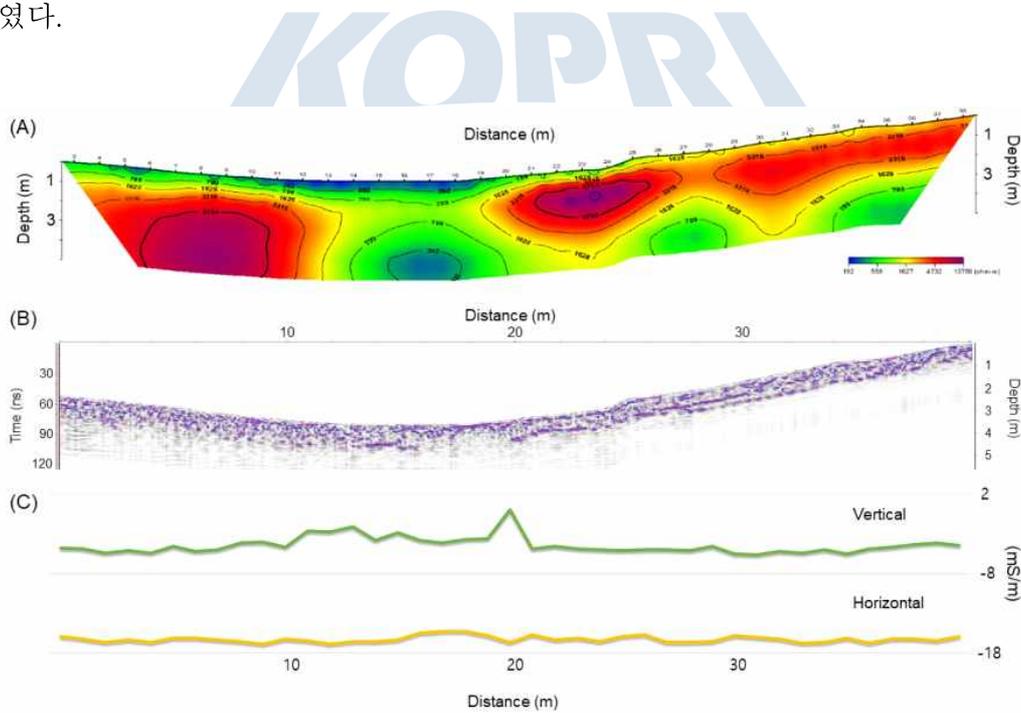


Figure 2. (A) ERT, (B) GPR and (C) EM result

전기비저항탐사 결과는 Sanionia가 우세한 0~21m 구간에서 깊이 약 1m 까지 저비저항대가 나타났다. Ochrolechia가 우세한 21~30m 구간과 Usnea가 우세한 30~40m 구간으로 갈수록 표면의 전기비저항값은 높아졌다. 전 구간 깊이 1m 부근에서 저항값은 급격

히 올라가는 경향을 보였으며 17m 부근과 28m 부근에서는 고비저항대가 끊기는 결과를 보였다(Figure 2A). 레이다탐사 결과에서는 0~20m 까지의 레이더 신호가 좋지 않았고 20m 이후 측선의 레이더 신호는 좋아 천부 지질의 연속성이 잘 나타났다. 약 20m 전 후를 기준으로 레이더 신호의 감쇠가 각각 크고 작게 나타났는데 감쇠가 크게 나타난 곳에 토양의 수분량이 많을 것으로 해석한다(Figure 2B). 전자탐사 결과에서 깊이 약 1.5m 까지 보여주는 수직배열법으로 측정된 결과에서도 전기비저항탐사 결과와 마찬가지로 구간 10~20m 에서 전기전도도도 값이 다른 구간보다 더 높은 결과를 확인하였다(Figure 2C).

ERT와 GPR 결과에서 활동층과 동토층의 경계는 약 1m 깊이에서 확인되었다(Figure 3). 수분량이 더 많은 구간에서는 수분량이 적은 구간보다 활동층의 두께가 더 두꺼운 것으로 해석된다. 28m 부근에서 ERT 결과는 깊이 1m 부근의 고비저항대가 얇게 나타났고 GPR 결과에서도 강한 반사신호가 측정됨에 따라 이상대가 있는 것으로 추정하였다.

활동층과 동토층의 물리적 특성을 이용하여 추가로 탄성과 굴절법 탐사 및 주파수 분석을 하였다. 수분이 많은 0~17m 지점 까지 깊이 4m 지점은 상대적으로 다른 지점보다 속도가 낮은 것으로 보아 다량의 수분이 동토층 상부에 영향을 준 것으로 판단된다(Figure 3). 주파수 분석에서 깊이 40m 까지 크게 4개의 층으로 구분을 할 수 있는데 연구지역의 평균심도 0~1.7m 의 S파 평균속도는 약 800m/s 로 활동층, 1.7~4.5m 의 평균 S파 속도는 약 2,200m/s 로 얼음이 많은 동토층, 4.5~30m 의 평균 S파 속도는 약 1,400m/s 로 얼음이 적은 동토층, 30m 이하의 평균 S파 속도는 약 3,100m/s 이며 기반암으로 해석된다(Figure 4).

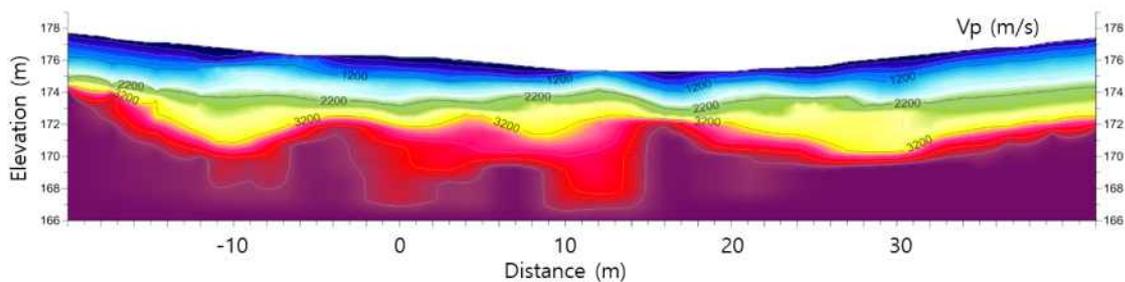


Figure 3. Refraction survey result.

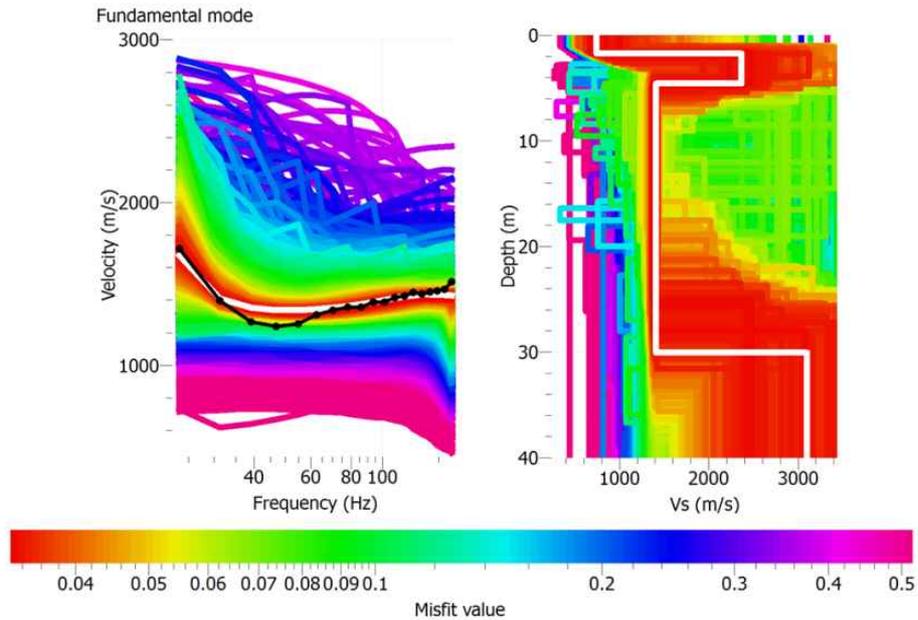


Figure 4. Microtremor result.

5가지의 지구물리탐사 방법을 이용한 결과를 해석한 후 4개 지점의 땅파기를 통해 확인하였다(Figure 5). Sanionia가 우세한 5m 와 17m 지점은 포화상태였으며 전기비저항자료 결과와 일치하게 17m 지점에 더 많은 물이 모이는 것을 확인하였다. 5m 지점의 지하수위는 25cm 이다. 지구물리탐사 자료에서 이상대가 나타난 28m 부근에선 깊이 약 55cm에서 검정색 퇴적층이 5~7cm 두께로 발견되었다. 이 검정색 퇴적층은 과거 이 위치까지 물이 흘렀다는 증거이다. 35m 지점에서는 해당 검정색 퇴적층이 발견되지 않았으며 동토층의 깊이는 약 80cm 로 나타났다.

땅파기를 한 후 10cm 간격으로 수분 함유량(VWC)과 전기전도도(EC) 값을 각각 3회씩 측정하여 평균치를 계산하였다(Figure 6). 표층에서 동토층 상부로 내려갈수록 VWC 값과 EC값 모두 감소하는 경향을 보였다. 28m 지점에서 검정색 점토층이 있는 깊이 55cm 지점에서 VWC값과 EC값이 상승하는 것을 확인하였는데 이 검정색 층이 전기비저항탐사 자료의 이상대 라는 것을 최종 확인하였다.

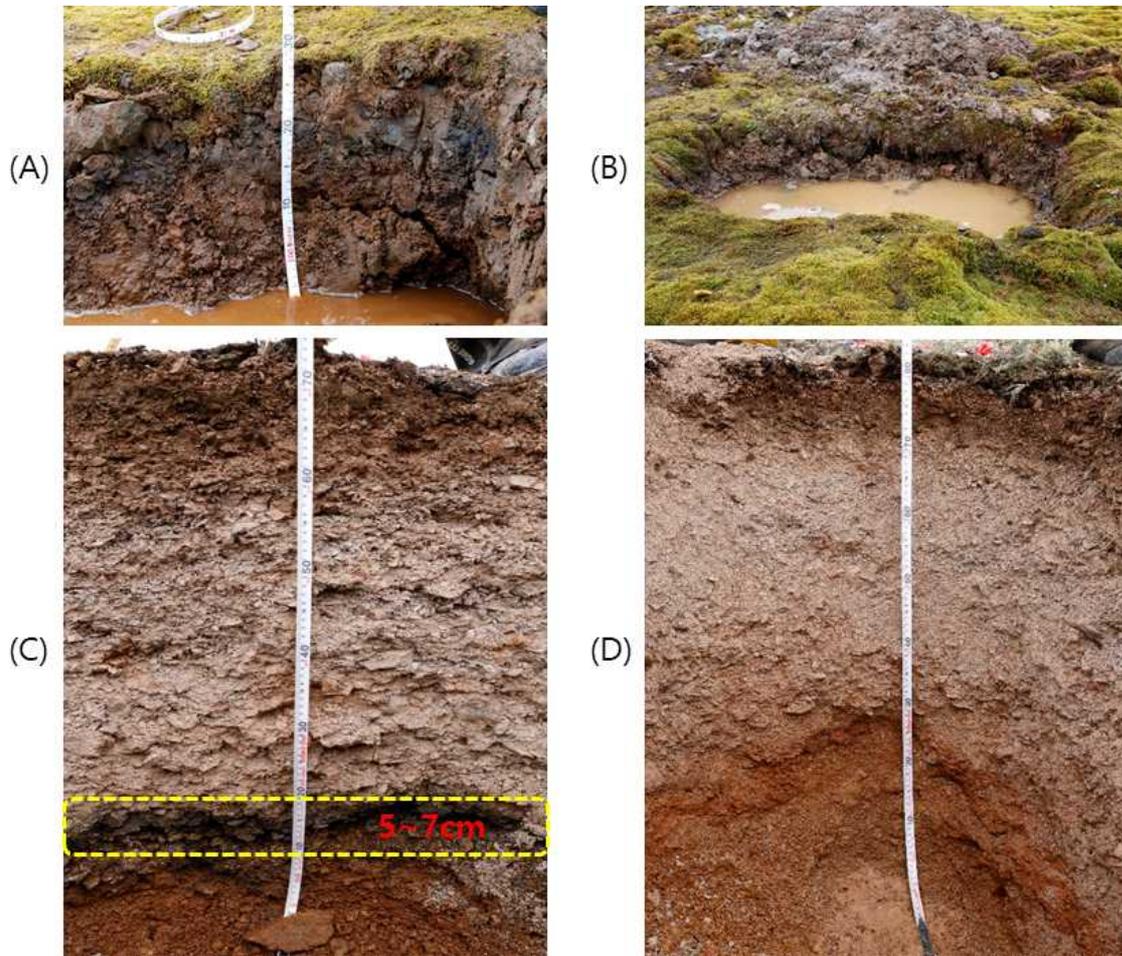


Figure 5. (A) at 5m, (B) at 17m, (C) at 28m and (D) at 35m digging.

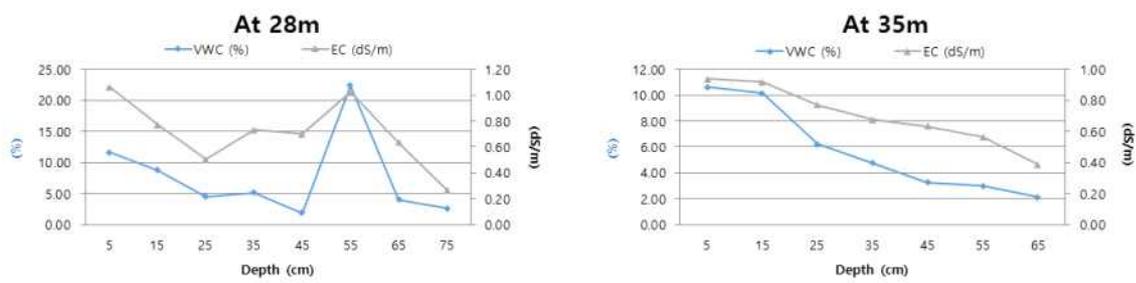


Figure 6. Volumetric water content and Electrical conductivity value at 28m and 35m, respectively.

## 제 4 절 KGL01 지역 지하수-지표수-눈의 특성과 이동경로 Characteristics and pathways of groundwater, surface water and snow in KGL01

### 1. 서론

지하수는 지구의 수자원 중 바다와 빙하에 이어서 세 번째로 많은 부존량을 지니고 있으며 빙하와 함께 전체 담수량의 99%이상을 차지하고 있다. 이렇게 물 순환적인 관점에서 지하수는 매우 중요한 부분을 차지하고 있지만 그 중요성은 간과되어왔다. 특히 극지역에서 기후변화에 따른 물 순환의 변화에 대한 우려가 높아지고 있지만 물 순환의 관점에서 지하수의 요소를 감안한 연구는 지금까지 거의 없었다. 따라서 기후변화에 따른 극지역 물 순환의 변화를 이해하기 위해서는 지하수, 지표수, 눈과 빙하 사이의 상호작용을 연계하여 연구할 필요가 있다.

남극 세종과학기지가 준공된 이후 많은 연구자들에 의해 세종과학기지를 중심으로 남극 환경에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다(Choi et al. 2011; Chang, 2017). 그러나 남극 세종과학기지에서의 수자원에 대한 연구는 해수의 수질 (Yang, 1990; Khim et al. 1997)과 강수와 빙하(Kwon and Lee, 2002; Chung et al. 2004; Han et al. 2015; Kim et al. 2015)에 중점을 두었으며 지하수에 대한 연구는 없었다. 따라서 본 연구에서는 세종과학기지 주변 두 호수의 지하수와 지표수, 눈을 연계시켜 각 수문인자들의 특성과 상호작용을 분석하였다.

이번 연구의 목적은 남극 세종과학기지 주변 두 호수 시스템에서 수량 분석과 수질 분석을 통해 지하수와 지표수, 눈의 수리지질학적 특성과 이동경로를 파악하는 것이다. 본 연구는 남극 바톤반도의 지하수의 유출입량과 지하수 성분을 직접 측정한 최초의 연구이다. 따라서 본 연구의 결과는 기후변화로 인한 물 순환 변화예측의 기초자료로 중요하게 사용될 수 있다.

### 2. 재료 및 방법

#### 가. 지하수 유출입량 측정

남극 킹조지섬 바톤반도의 세종과학기지 주변 두 호수 시스템(Lake A, Lake B로 명명)(Figure 1)에서 지하수의 유출입량을 분석하기 위해 Lee and Cherry (1978)에 의해 고안된 시피지미터(seepage meter)를 사용하였다. 연구에 사용된 시피지미터는 높이 200 mm, 지름 700 mm로 자체제작하였으며(Figure 2), 각 호수의 상류지역 퇴적층에 각각 1

개씩 설치하였다. 지하수의 유입량과 유출량을 모두 측정하기 위해 비닐백 속에 일정한 양의 물을 채운 후, 일정시간 동안 비닐백으로 유입되거나 빠져나간 물의 부피 변화를 측정하였다. 측정기간 동안 지하수 유출입량은 시피지미터의 단면적을 나누어 단위면적당 지하수 유출입량으로 계산하였다.

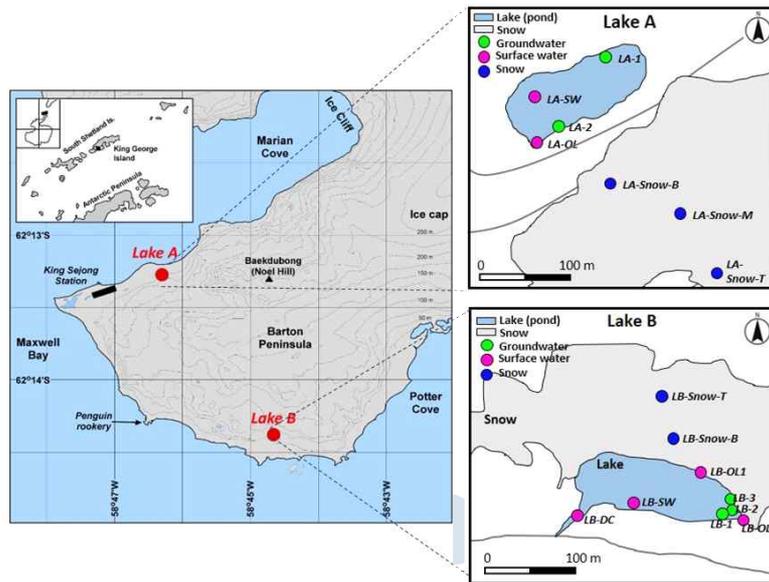


Figure 1. Locations of two lakes (Lake A and Lake B) near King Sejong Station in Antarctica, and Location map for the detailed sampling locations in Lake A and Lake B.

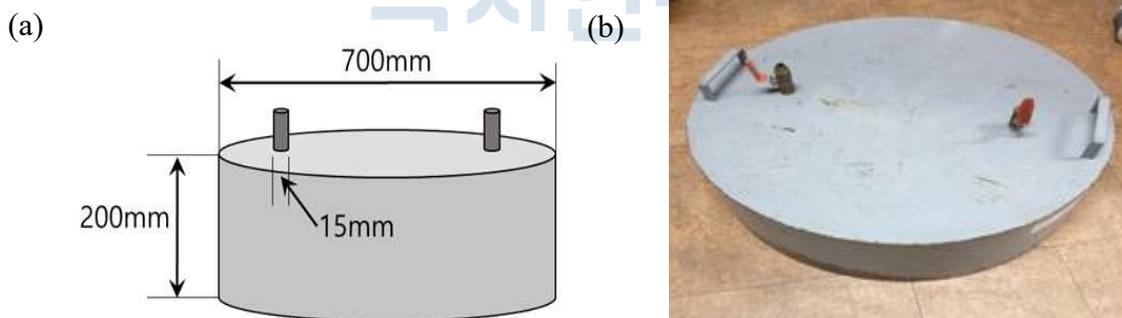


Figure 2. (a) Schematic and (b) real picture of the seepage meter installed at the bottoms of Lakes A and B.

#### 나. 지하수와 지표수의 수위 변화 측정

지하수와 지표수의 수위 변화를 측정하기 위해 길이 120 cm, 직경 1.905 cm인 피에조미터(piezometer)를 각 호수의 퇴적층에 설치하였으며, Lake A와 Lake B에 각각 4개의 피에조미터를 설치하였다. 지하수의 수위 측정은 피에조미터의 스크린으로 유입되는 지하수를 피에조미터의 위쪽 끝부분을 기점으로 지하수 수면까지의 길이를 수위계를 이용하

여 측정하였고, 지표수 수면 또한 피에조미터 위쪽 끝부분을 기점으로 호수 수면까지의 길이를 재서 호수 수위를 측정하였다.

#### 다. 지하수-지표수-눈의 현장수질 분석 및 주요이온 분석

지하수, 지표수, 눈의 수질 특성을 분석하기 위해 현장수질 항목인 양이온, 음이온, 산소 및 수소 동위원소를 분석하였다. 분석을 위해 총 83개의 물시료를 채취하였으며 물의 종류에 따라 지하수, 지표수, 눈으로 구분하여 샘플링하였다. 지하수 시료의 채취는 호수 두 곳의 퇴적층에 설치한 피에조미터에 플라스틱 튜브 펌프(Watera Co., Luxembourg)를 사용하여 채취하였다. 눈 시료의 경우, 두 호수에서 산사면의 고도에 따라 T(TOP), M(Middle), B(Bottom)로 나누어 시료를 채취한 뒤 비닐백에 담아 운반하여 실내 실험실에서 완전히 녹인 후 수질을 분석하였다. 현장에서 분석된 수질항목은 온도(T), 수소이온농도(pH), 산화환원전위(Eh), 용존산소량(dissolved oxygen; DO), 전기전도도(electrical conductivity; EC)를 측정하였으며, 알칼리도(alkalinity)는 실내 실험실에서 0.16N의 황산( $H_2SO_4$ )을 이용한 적정법을 사용하여 분석하였다. 주요이온 분석 및 동위원소 분석을 위해 현장에서 채취한 시료들은 미생물과 부유물질을 여과하기 위해서 0.45  $\mu$ m 실린지 필터로 여과한 뒤 분석되었다. 양이온 분석은 유도 결합 플라즈마 질량분석기(inductively coupled plasma-mass spectrometer; ICP-MS)를 사용하였으며, 음이온 분석은 이온 크로마토그래피(ion chromatography; IC)를 이용하여 분석하였다.

#### 라. 산소와 수소 동위원소 분석

지하수, 지표수, 눈 시료에 대해 산소와 수소의 불안정동위원소 분석을 실시하였다. 산소와 수소 동위원소 분석을 위해서 동위원소 비적외선 분광법(isotope ratio infrared spectroscopy; IRIS)의 여러 방식 중 WS-CRDS 방식을 이용하는 L1102-i(Picarro) 장비를 사용하였다. 분석에 필요한 물 시료는 0.2  $\mu$ m 막필터를 사용하여 여과한 후 크림핑된 1.5 mL 유리병에 담아 분석하였고, 동위원소분석기의 운송 가스는 유속을 2.5 psi의 조건으로 설정하였으며 자동시료 분배장치를 통해 주입되는 시료량을 1.9  $\mu$ L로 설정하여 분석하였다. 분석 상에 나타날 수 있는 변동성과 편중성은 동일한 시료의 분석값을 기준으로 표준편차를 사용해서 제거하는 방식으로 보정하였다. WS-CRDS 방식을 통한 정밀도 분석결과 동일일자의 각 시료 당 표준편차는  $\delta^{18}O$ 는 최소 0.02‰에서 최대 0.07‰,  $\delta^2H$ 는 최소 0.02‰에서 최대 0.46‰였다. 또한 동일일자의 각 시료 당  $\delta^{18}O$ 와  $\delta^2H$  평균값을 이용한 분석오차는 IRIS를 통해 분석된 값을 기준으로  $\delta^{18}O$ 는  $\pm 0.1\%$ ,  $\delta^2H$ 는  $\pm 1\%$ 이었다(Jung et al. 2013).

### 3. 결과 및 토의

남극 세종과학기지 주변 두 호수에서 시피지미터를 이용한 지하수의 유출입량 측정결과 Lake A의 경우  $-9.2 \times 10^{-7}$  m/s에서  $5.3 \times 10^{-8}$  m/s로 역동적인 변화를 보여주었다. 반면에 Lake B의 경우  $1.1 \times 10^{-8}$  m/s에서  $9.5 \times 10^{-10}$  m/s까지 지속적으로 유입만을 보여주었으며 변동폭 또한 크지 않아서 호수의 수위가 안정적으로 유지됨을 알 수 있었다(Figure 3). 시피지미터의 결과는 Lake A로 유입된 물이 지하수로 다시 빠져나가고 있음을 시사하며, 반면 Lake B는 호수의 수위와 주변 생태계의 유지에는 지하수가 큰 기여를 하고 있음을 나타낸다.

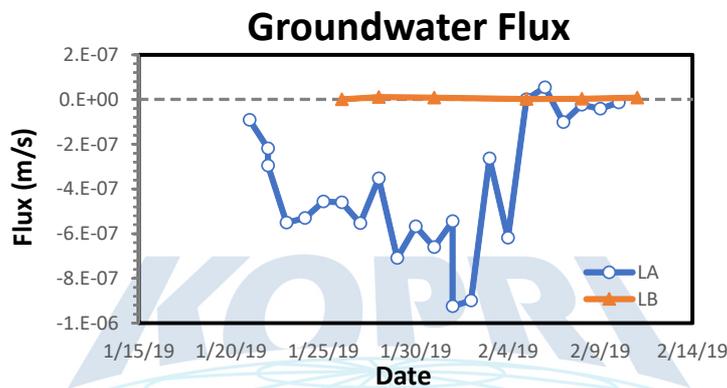


Figure 3. Groundwater flux measured in the two lakes (Lake A and Lake B) near King Sejong Station.

두 호수(Lake A, Lake B)의 지하수와 호수의 수위를 측정하기 위해 각 호수에 4개의 피에조미터를 설치하였다. 측정 결과 Lake B의 수위변화는 대부분 안정적이었지만, Lake A의 경우 상당히 역동적으로 변화하였다. 또한, 피에조미터를 이용하여 지하수와 지표수의 수두 차(hydraulic head differences)를 관측하였고, 이를 시피지미터로 측정한 지하수 유출입량과 비교하였다. Lake A의 경우 지표수의 수위가 지하수의 수위보다 지속적으로 높아서 지표수가 지하수로 지속적으로 유출되는 것을 보여주었으며, 이와는 반대로 Lake B에서의 수두 차는 Lake A의 수두 차보다 상대적으로 크지는 않았지만 지하수의 수위가 지표수의 수위보다 높아서 지하수가 지표수로 유입되는 호수임을 나타냈다(Figure 4). 이러한 수두 차 측정결과는 시피지미터로 관측된 두 호수에서의 지하수 유출입량 측정결과와 대체로 일치한다.

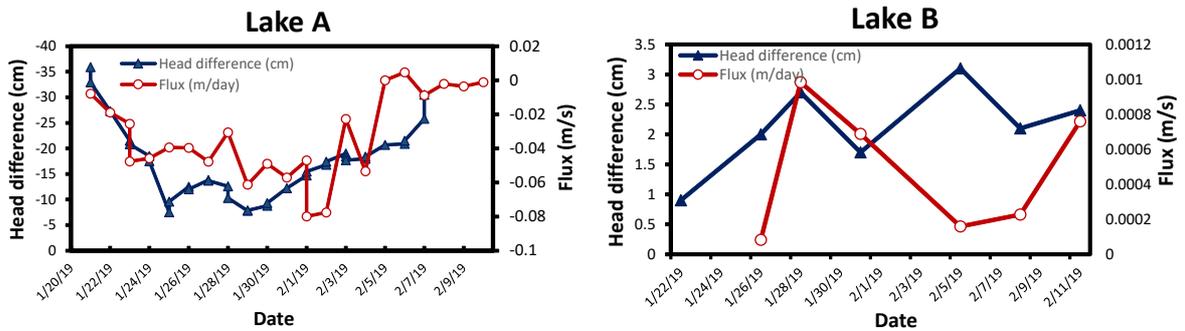
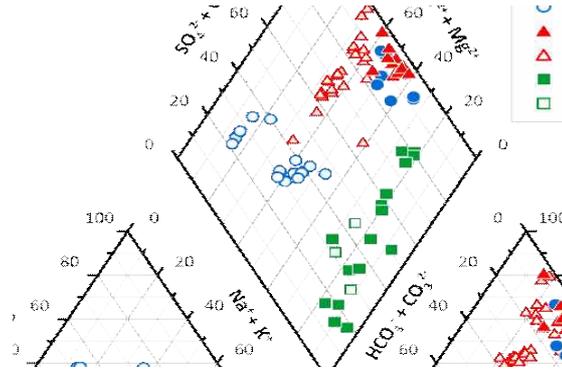


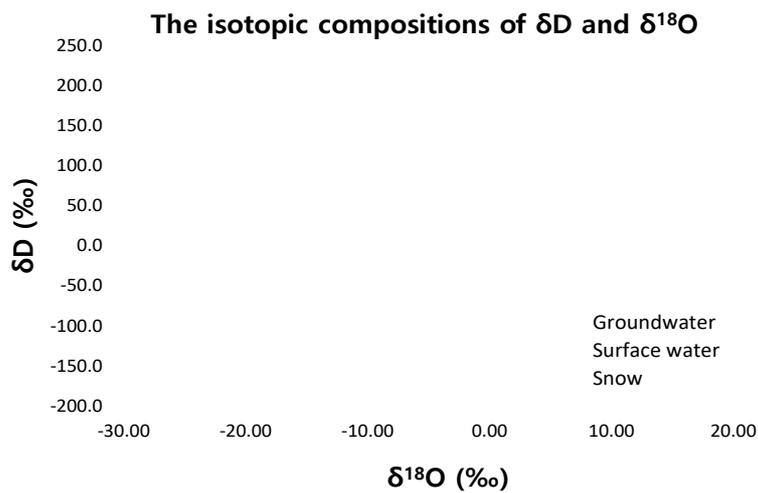
Figure 4. Flux of groundwater in Lakes A and B and head difference between groundwater and surface water.

Lake A의 현장수질항목 분석 결과는 지하수와 지표수의 구분이 명확하지 않은 반면에, Lake B의 수질의 지표는 지하수와 지표수가 확연하게 차이가 났다. 이것은 Lake A의 지하수의 수질은 지표수의 수질에 크게 영향을 받았으며 Lake B의 경우 지하수가 상당한 체류시간을 가졌음을 지시하는데, 이는 현장수질분석 결과가 수량분석의 결과와 일치함을 나타낸다. 또한 양이온과 음이온 분석결과를 Piper diagram에 도시한 결과(Figure 5), Lake B의 지하수에서 음이온 중  $\text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{2-}$  농도가 상대적으로 우세하여 전형적인 담수의 특성을 지니고 있어 지표수와 차이가 확연하지만, Lake A의 경우 현장수질항목과 마찬가지로 뚜렷한 차이가 나타나지 않았다. 또한, 눈의 수질 성분은 양이온 중에서는  $\text{Na}^+ + \text{K}^+$ 가 음이온 중에서는  $\text{Cl}^-$ 가 우세하는 것으로 보아 해수의 분무(spray)의 영향을 받은 것으로 생각된다.



**Figure 5.** Piper diagram for compositions of groundwater, surface water, and snow in Lake A and Lake B.

지표수, 지하수, 눈의 수소와 산소 안정동위원소 분석결과는 두 호수지역에서 눈, 지하수, 지표수가 대체적으로 Global Meteoric Water Line (GMWL;  $\delta D = 8\delta^{18}O + 10$ )(Craig, 1961)을 따르고 있다는 것을 보여주며, 이것은 이 지역 지하수 및 지표수가 근본적으로는 대기로부터의 강수에 의해 기원하였다는 것을 보여준다(Figure 6).



**Figure 6.** The isotopic compositions of hydrogen and oxygen for water samples.

종합적으로, Lake A는 극지역에서 호수 주변의 산사면에 쌓여 있던 눈이 녹거나 새롭게 내린 강수에 의해 일시적으로 존재하는 작은 호수 중 하나로 생각되며(Figure 7), 이와는 대조적으로 Lake B는 산사면에 쌓여 있던 눈이 녹아 흐르는 지표유출(overland flow)과 지속적인 지하수의 유입으로 인해 수위가 안정적으로 유지되는 시스템으로 보인다(Figure 8). 따라서 호수 주변의 산사면에 쌓인 많은 양의 눈과 지하수가 호수의 수위뿐만 아니라 호수 주변의 생태계를 유지하기 위한 열쇠인 것으로 생각된다.

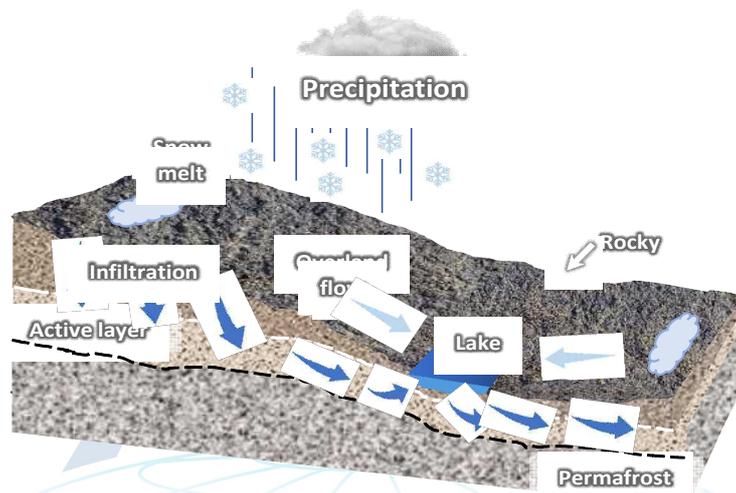


Figure 7. A conceptual model for the hydrological system in Lake A.

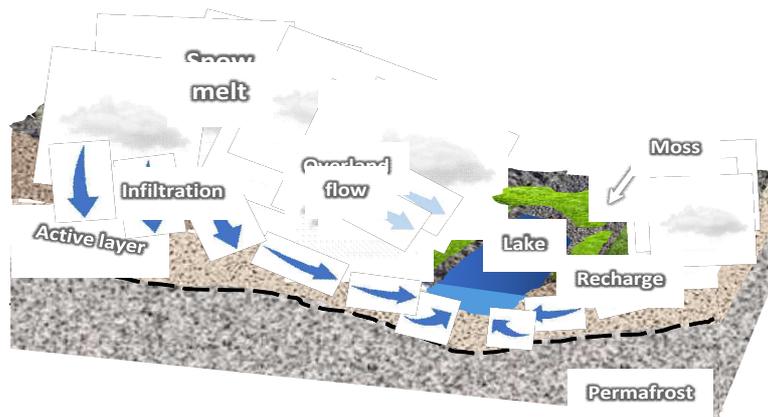


Figure 8. A conceptual model for the hydrological system in Lake B.

## 제 5 절 KGL01 지역 토양 이산화탄소 모니터링 Monitoring of soil CO<sub>2</sub> efflux in KGL01

### 1. 서론

남극에서 온난화의 영향에 따른 동토층의 해빙은 식생 분포와 미생물 군집에 많은 영향을 미칠 것으로 예상된다. 동토층의 해빙 기간이 증가할 경우, 미생물 군집 변화에 따른 토양 이산화탄소 방출량은 증가할 가능성이 매우 높으므로 육상생태계에서의 탄소 순환의 기작을 이해하는 것은 매우 중요하다. 특히 다양한 식생이 전역에 걸쳐 분포하고 있는 바톤반도에서는 그 중요성이 더욱 부각될 것이다. 본 연구에서는 토양 이산화탄소 방출량과 토양 내 이산화탄소 농도를 모니터링하여 탄소순환에 있어서 동토층이 얼마나 기여하는지를 살펴보고, 유기물층 토양에서의 이산화탄소 방출량의 정량화 및 토양수분, 토양온도 등 환경 조절 인자와의 관계를 설명하고자 하였다. 이를 위해 토양 이산화탄소 방출량 및 토양 내 이산화탄소 농도의 연속 관측을 수행하였고, 토양 온도 및 수분 조절에 따른 온실기체의 반응을 살펴보고자 실내 환경 조절실험(microcosm)을 시도하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 가. 토양 이산화탄소 측정 시스템

토양 및 식생과 환경 조건을 고려한 다양한 지점에서 이산화탄소 측정과 이산화탄소의 연속 모니터링을 위하여 관련 시스템을 확보한 후 테스트를 진행하였다. 다양한 지면 조건에서의 토양 이산화탄소 플럭스를 조사하기 위해서는 휴대용 센서(Vaisala GMP 343)를 이용하였고, 한 지점에서 토양 표면에서 대기로 방출되는 CO<sub>2</sub> efflux 연속 관측을 위해서는 고정된 챔버 시스템(eosense FD 챔버 등)을 이용, 그리고 토양 내 이산화탄소 농도 연속 관측을 위하여 이산화탄소 농도 측정 센서(eosense CO<sub>2</sub> 농도 probe와 집록기 등)를 활용하려 연구를 수행하였다(Figure 1).

#### 나. 환경인자 측정

토양 이산화탄소 방출에 관여하는 주요 환경인자들인 토양 온도와 수분은 휴대용 토양 온도 및 토양 수분 센서들을 이용하여 이산화탄소와 동시에 측정되었고, 아울러 주변의 토양 내 설치된 다양한 센서들을 활용하고자 하였다.



**Figure 1.** Chamber and sensors for CO<sub>2</sub> monitoring [Left, FD chamber; Right up, CO<sub>2</sub> concentration probe(GMP 343); Right down, CO<sub>2</sub> concentration probe(GP sensor)]

### 3. 결과 및 토의

#### 가. 토양 내 이산화탄소량 변화 관측

토양 이산화탄소의 연간 변화량을 연속적으로 관측하기 위하여, 토양 내 이산화탄소의 농도와 함께 토양 수분 및 토양 온도를 모니터링 하였다. 2018년부터 1월부터 2019년 5월까지 두 층(10 cm, 30 cm)에 이산화탄소 농도 센서를 설치하여 농도 변화를 조사하였다(Figure 2).



**Figure 2.** Installation of GP sensors into two soil layers and logging system.

두 깊이의 농도 차이는 처음 4개월 동안 3600 ppm 전후를 보이며 유지되다가 5월부

터 줄어들면서 3개월 동안 유사한 값으로 차이가 없다가, 8월부터 다시 큰 차이를 보이는 등, 3-4개월 단위로 주변 환경 조건에 따라서 다양한 농도 차이 변화가 관측되었다 (Figure 3). 10 cm 깊이에서는 평균  $3000 \pm 2000$  ppm, 30cm 깊이에서는  $6900 \pm 3000$ 으로 약 16개월 동안 두 층의 평균 농도 차이는 대략 4000 ppm으로 확인되었다. 즉, 토양 내 두 깊이의 이산화탄소 농도는 계절에 따라서 다양한 농도 차이를 보였다. 향후 이러한 원인에 대하여 주변 기상 자료 및 환경 자료와 함께 논의되어야 할 것이다.

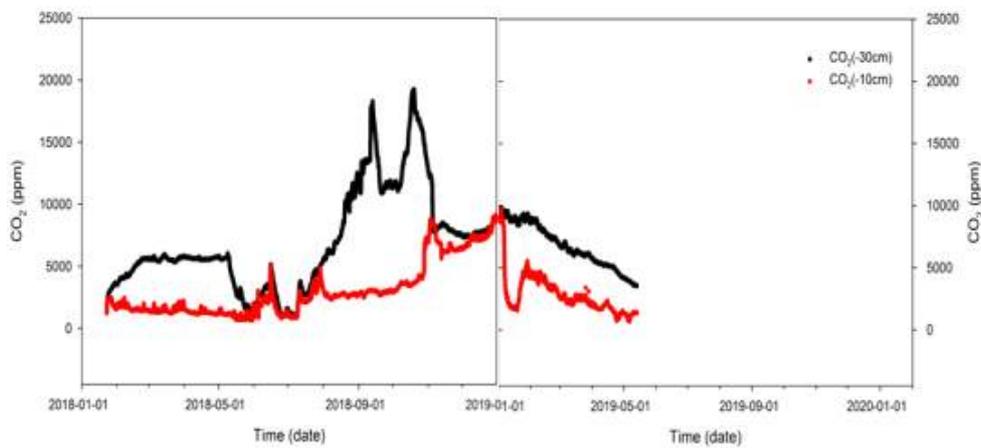


Figure 3. CO<sub>2</sub> concentration of two soil depth, 10cm and 30cm

나. 다양한 조건에서의 이산화탄소 관측

다양한 지면 조건에 대한 토양 이산화탄소 플럭스 관측을 위하여, KGL01 사면의 토양 유기물 층과 식생 등 환경 차이를 보이는 7 지점을 선정하여, 대기로 방출되는 이산화탄소 농도 측정하였다(Figure 4). 이끼층으로 둘러싸인 유기물 층이 두껍게 발달된 관측 지점(3, 4, 5, 6번)의 이산화탄소 농도는 지의류 및 작은 돌들로 구성된 관측지점(1, 2번)과 달리 급격하게 변화하였다. 즉, 토양 수분량과 유기물 층의 두께에 따라 이산화탄소 농도 변화의 차이를 보였다.



**Figure 4.** Locations of soil CO<sub>2</sub> measurements from 1(right) to 7(left) in KGL01 site.

#### 다. 이산화탄소 연속 관측

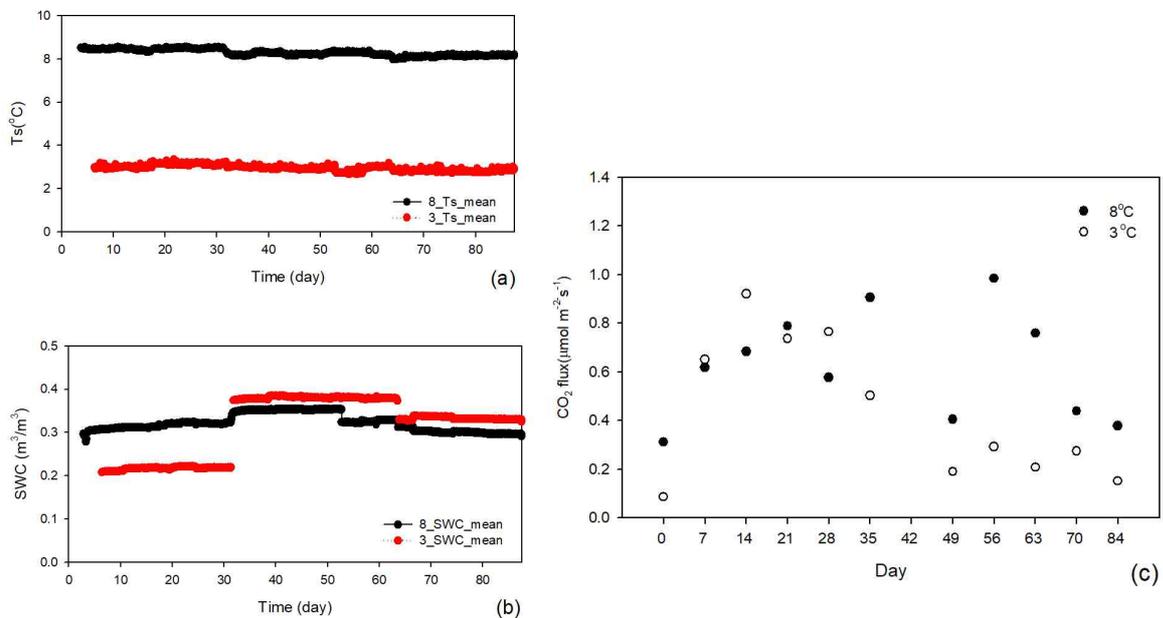
토양 이산화탄소 연속 관측을 위하여 챔버 시스템을 이용하여 전원공급이 가능한 여름(1월과 2월) 동안 KGL01의 두 지점(이끼류와 지의류)에서 이산화탄소 플럭스 측정을 실시하였다(Figure 5). 두 식생에서 연속적으로 측정된 이산화탄소 플럭스는 매우 큰 차이를 보였다. 지의류에서는  $1 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  전후로 측정되었고, 이끼층에서는 최대  $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  에서  $-4 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 까지 측정되었는데, 1월 31일 이후로 음의 값이 빈번히 발생하였다. 두 지점 모두에서 이산화탄소 플럭스의 일변화가 관측 관측되었고, 여름이 끝나가면서 이산화탄소 플럭스는 점차 감소하는 경향을 보였다.



**Figure 5.** Two FD chambers for soil CO<sub>2</sub> efflux in KGL01 site. (a) moss, (b) lichen.

라. 실내 환경 조절 실험

토양 온도와 토양 수분 조절에 따른 이산화탄소의 반응을 조사하기 위하여, 고정된 두 온도(3°C, 8°C)에서 토양수분을 고려한 마이크로코즘 예비 실험을 진행하였다(Figure 6). 30-35%의 작은 변화를 보였던 8°C에서는 이산화탄소가 점차 증가하다가 56일 이후 감소하는 결과를 보였고, 토양 수분이 20%에서 40%까지 큰 폭으로 증가하는 3°C 조건에서는 20일 전후 최대값을 보인 후에 지속적으로 감소하였다. 향후 토양 수분 조절을 대한 부분을 개선하고 기체 및 토양 샘플링의 반복수를 증가하여, 다양한 온도 범위에서 수분조절 따른 극지 토양의 이산화탄소 플럭스 반응을 체계적으로 살펴볼 예정이다.



**Figure 6.** Response of soil CO<sub>2</sub> flux for change of soil temperature and soil water contents. (a) soil temperature (Ts) (black; 8°C, red; 3°C), (b) soil water contents (SWC) (black; 8°C, red; 3°C), (c) CO<sub>2</sub> flux (closed circle; 8°C, open circle; 3°C).

## 제 6 절 KGL01 지역 광합성 반응 모니터링

### Monitoring of chlorophyll fluorescence in KGL01

#### 1. 서론

기후변화에 의한 남극생태계의 반응 및 변화 예측기술의 개발은 남극생태계의 보존과 관리를 위해 주목받고 있는 연구 분야이다. 제 1차 SCAR Horizon Scan에서는 남극 생물연구와 관련하여 해결해야 할 질문으로 과거 역사에서 온난화에 따른 남극생태계와 남극생물의 반응과 진화과정, 급격한 기후변화로 인한 멸종위기종의 유무와 이 생물이 생태계 및 생물상에 미치는 영향, 외래생물 유입이 미치는 영향에 관한 것을 지목하였다 (Kennicutt et al. 2014). 이러한 질문을 해결하기 위해 생태계 변화 예측기술 개발은 미기후 모델링, 환경변화에 대한 생물반응 모델링, 가상생태계 모델링 등을 필요로 한다.

환경변화에 대한 생물반응 모델링은 미기후 변화를 통해 남극생물이 겪는 생태생리학적 반응성을 조사하는 기초연구가 필수적이다. 남극의 육상생태계는 해안가를 따라 발달하였으며 내륙에 비해 생물다양성이 높다. 아남극권에 속하는 킹조지섬 바톤반도는 여름철 평균온도가 영상이며, 기후변화에 빠르게 진행되고 있는 지역으로 여겨진다. 따라서 기후변화에 의한 생태계 반응 및 변화 연구의 최적지로 판단되며, 바톤반도에 서식하는 남극생물의 생태생리학적 반응과 생태계 변화예측 모델링기술 개발은 남극반도 지역의 생태계 연구를 대표하는 연구시스템으로 발전시킬 수 있는 가능성을 갖고 있다.

본 연구에 도입한 Critical Zone Observatory(CZO)는 미국 NSF에서 추진하고 있는 프로그램의 하나로, 현재의 지표면의 형태를 이루고 있는 화학적, 물리적, 지질학적, 생물학적 과정에 대하여 공간적 및 시간적 작용과 변화를 종합적으로 이해하기 위한 다학제 연구 프로젝트를 의미한다. 지하 깊은 곳에 존재하는 물에서부터 최상부의 나무까지 지표 근처에서 일어나고 있는 현상에 대한 연구로서, 생물, 바위, 공기, 물, 토양의 상호작용과 향후 식량 이용가능성과 수질 등을 고려하여 자연 서식지를 더 잘 이해하고자 시작되었다. 연구중심지역인 KGL01 지역은 호수와 그 주변에 발달한 식생의 분포가 뚜렷이 구분되는 특징을 갖고 있어 미기후 변화와 이것이 생태계변화에 미치는 영향을 이해하기 위해 최적의 연구지역으로 판단된다.

남극 육상생태계의 식생은 선대류와 지의류로 미소동물의 서식처이자 먹이로써 중요한 역할을 맡고 있다. 선대류와 지의류의 성장은 광합성을 통해 유기물을 생산하는 자가영양 방식을 통해 이루어진다. 광합성과정은 빛 에너지, 이산화탄소와 물 분자를 이용하여 무기탄소를 유기물의 형태로 고정하는 과정이며, 엽록체의 광계 시스템에서 이루어진

다. 광계 II에서 일어나는 광화학반응은 다양한 환경요인에 의해 억제 또는 촉진되어 지기 때문에 현장관측 연구에서 환경요인의 변화가 생물에 미치는 영향력을 평가하기 위해 광계 II의 광화학반응성을 측정한다. PAM(Pulse Amplitude Modulation) 시스템은 순간적인 포화광을 주었을 때 광계 II에서 방출되는 형광을 감지하여 광계 II의 반응성을 측정하는 기술로 다양한 연구 장비가 개발되어 있다(Porcar-Castell 2008). 본 연구는 Monitoring-PAM system 장비를 KGL01지역 주요 식생의 생물반응성 자료수집에 활용하였으며, 2018년과 2019년에 걸친 현장연구결과를 분석하여 미기후변화에 대한 개체군 수준의 생물반응성을 논의하였다.

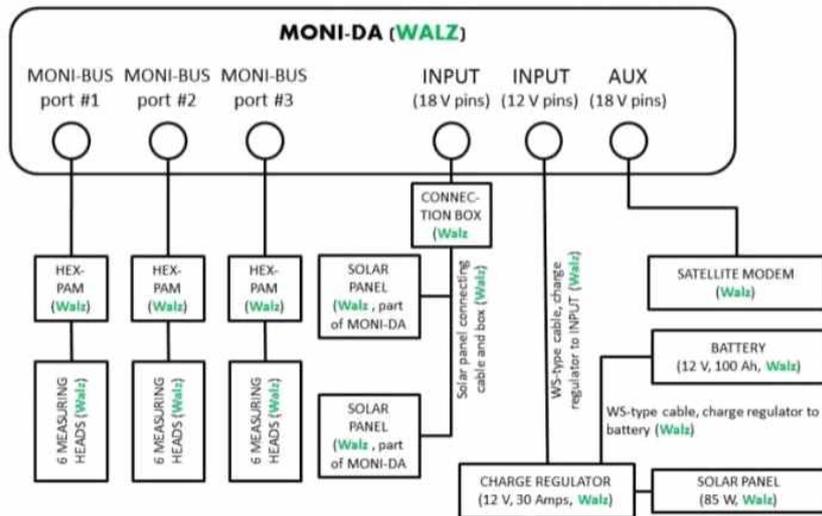
## 2. 재료 및 방법

### 가. 현장에서의 미소기후 데이터 수집

현장 관찰은 2018년도 1월 17일부터 2월 15일(30일)과 2019년 1월 22일부터 2월 11일(21일)에 킹조지섬 바톤반도 KGL01 현장 (KGL01 : 62°14'24"S, 58°44'36"W)에서 수행되었다. 선타류, 지의류의 식생과 수분구배를 고려하여 3곳을 WET, INT. (intermediate site), DRY로 구역을 나누었다. 지역 내 대표 식생으로는 WET 지역에 *Sanionia uncinata* (Y group, G group), INT지역에 *S. uncinata*와 *Polystrichastrum* sp., DRY지역에 *Usnea antarctica*와 *Cladonia gracilis*를 선정하였다. 대표 식생이 분포하는 지역의 지표 온도, 광량, 토양 수분 변화량을 관측하기 위한 HOBO Micro Station Data Logger(H21-002, MA, USA)를 설치하였고 10분 간격으로 측정하여 기록하였다.

### 나. 연속광합성 측정 장비의 구축

남극 현장에서 환경 변화에 따른 식생의 광합성능을 연속적으로 관측하고 데이터를 축적할 수 있는 시스템을 신규 구축하기 위해, 칠레 연구팀에서 성공적으로 운영 중인 Walz사의 데이터로거와 광합성 형광측정기 시스템 정보를 확보하였다(Figure 1a, b). 확보한 칠레 연구팀의 시스템을 벤치마킹하고 제조사인 Walz와의 협업을 통해 남극 바톤반도에서의 사용에 최적화된 시스템을 구성하였다(Figure 1c). 신규 시스템은 칠레 시스템에 비해 사용 가능한 형광측정기 프로브의 개수가 15개에서 3개 증가한 18개이며, 전원은 배터리로부터 Moni-DA로 전달이 되지만 배터리 에러 등 비상사태를 대비하고 친환경 에너지 사용 비율을 높이기 위해 태양광 패널 3개를 직접 또는 간접으로 연결하여 빛의 유무와 상관없이 시스템이 작동 가능하도록 설계하였다. 2018년 1월 KGL01 현장에 수분구배에 따른 transect을 설정한 뒤 18개의 형광측정기 프로브를 20분 간격으로 작동하도록 설정하였고, 태양광 패널 3개로부터 안정적으로 전원이 공급됨을 확인하였다.



**Figure 1.** 칠레 연구팀에서 운영 중인 식생의 광합성능 연속 관측 시스템. A, 데이터로 거인 Moni-DA, 전원 배터리, 광합성 형광측정기로 구성된 시스템 전경, B, 식생의 광합성능을 측정하는 형광측정기가 설치된 현장의 모습. C, 바톤반도 세종기지에 최적화된 연속 광합성측정 시스템의 모식도

#### 다. 선타류 및 지의류 엽록소 형광 측정법

엽록소 형광 측정은 데이터 수집 시스템 (MONI-DA)과 3개의 형광 검출기 (MONI-head/485)로 구성된 HEX-PAM을 연결한 MONI-PAM (MONITORING-PAM Multi-Channel Chlorophyll Fluorometer, Germany Walz, Germany)을 사용하여 수행되었다. MONI-PAM의 작동방법 및 그 적용은 Porcar-Castella et al. (2008)를 참고하였다. 광포화 펄스 및 측정광의 광원은 청색 LED(발광 최대 값 :  $455 \text{ nm} \pm 9 \text{ nm}$ )를 사용하였다. 이 연구에서 측정을 위한 강도는  $0.9 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이고 포화 펄스는 약  $2,500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이며 지속시간은 최대 2 초로 하였다. 샘플에 대한 actinic light의 영향을 줄이기 위해 측정 포인트 사이에서 조명을 끄고 펄스 분석을 포화시키기 전에 몇 초 동안 자동으로 켜지도록 하였다. 18개의 광합성 측정기 프로브는 WET, INT, DRY 3곳에 6개씩

설치하여 선태류와 지의류의 광합성 효율을 나타내는 Y(II), ETR(electron transfer rate) 과 비생물학적 인자인 광도(PAR), 온도를 측정하였다. 프로브는 수평축의 120°각도로 샘플에 고정하여 설치하였고 20분 간격으로 포화펄스를 주어 광계 II에서 방출되는 형광값 (F 및 Fm')을 검출하고, 이것에서 산출되는 Y(II)와 ETR값을 기록하도록 하였다(Genty et al. 1989; Kramer et al. 2004; Krause 1982).

$$\begin{aligned} \text{계산식} \quad Y(II) &= (Fm' - F) / Fm' \\ \text{ETR} &= Y(II) * PAR * \text{ETR-factor} * PpsII / Pps(I+II) \end{aligned}$$

본 연구에서 산출된 ETR값은 ETR-factor = 0.84, PpsII / Pps(I+II) = 0.5로 고정된 상대 전자전달효율(rETR)을 의미한다.

#### 라. Imaging PAM 시스템의 도입

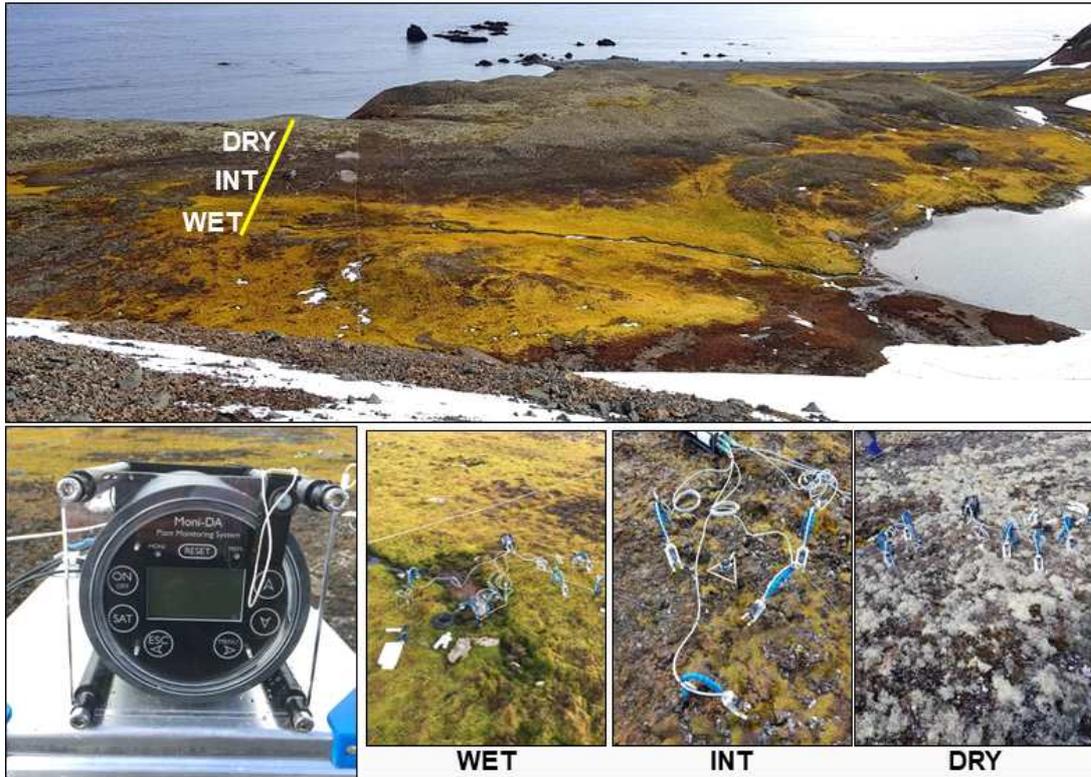
Imaging PAM(Walz, Germany)장비는 식물의 광합성 효율에 관여하는 요인을 다각적으로 측정할 수 있는 장비이다. 광합성 생물의 엽록체(광계 II)는 빛의 세기, 수분 부족, 고온 및 저온 등의 요인에 의해 스트레스를 받게 되고, 이것을 극복하기 위한 다양한 광합성 보호 기작이 존재한다. 광계 II의 다이내믹한 변화는 수 초 이내에 일어나며 이것을 측정하기 위해 다양한 PAM(Pulse Amplitude Modulation) system이 개발되어 있다. Imaging PAM 장비는 동시에 여러 개체에서 방출되는 형광을 이미지로 촬영하고 각 픽셀마다의 형광값을 계산하여 개체 전체의 광합성능을 계산할 수 있다. 이 장비를 통해 명 조건, 암 조건에 노출된 다양한 개체의 광합성 효율 Y(II), 비광화학적 반응효율 Y(NPQ, Non-photochemical quenching), 전자전달율 ETR를 포함한 다양한 광합성 파라미터를 측정할 수 있다. 현장 관측에 특화된 Moni-DA장비에서 수행할 수 없는 다양한 광합성 반응들을 세분화하여 측정하기 위해 도입하였으며, 실험실에 장비를 설치하고 애기장대와 선태류를 이용하여 장비의 활용성을 검증하였다.

### 3. 결과 및 논의

#### 가. 광합성 연속관측 장비의 구축 (KGL01 지역) 및 데이터 수집

2018년 KGL01 현장에 MoniDA 시스템을 구축하였다. MoniDA의 데이터 수집장비와 태양광 패널을 INT 지역에 설치하고 3개의 HEX-PAM을 WET, INT, DRY지역까지 30 m의 연결 케이블을 활용하여 설치하였다. 각 HEX-PAM에 6개의 광합성 형광측정기 프로브를 연결하여 대표식생인 *S. uncinata*, *Polystrichastrum* sp., *U. antarctica*, *C.*

*gracilis*에 설치하였다. 광합성 형광측정기 프로브 주변에 미기후를 측정하기 위한 HOBO data logger를 함께 설치하였다(Figure 2).



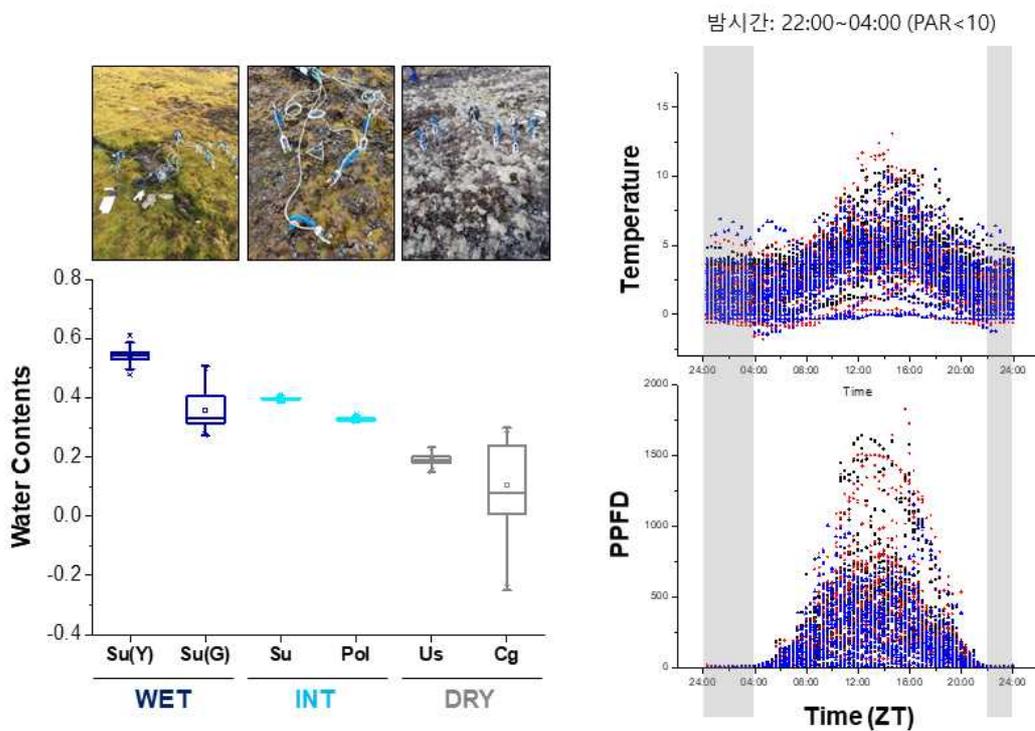
**Figure 2.** KGL01 현장에 설치된 MoniDA, 광합성 형광 연속측정 장치와 WET, INT, DRY 지역에 설치된 형광 측정기 프로브의 설치 모습. 현장관측 지역은 수분 구배에 따라 식생의 구분이 뚜렷함을 알 수 있음.

2018년도 미소기후와 식생 광합성능 데이터는 2018년 1월 17일부터 2월 15일까지 이루어졌으며 MoniDA 데이터 수집 장치를 통해 총 2,219회 관측되었고, 2019년도 1월 22일부터 2월 11일까지 총 1,512회 관측되었다. 매 회 관측시 형광측정 프로브는 광량, 온도, 광합성 기구에서 방출된 형광값(F와 Fm'), 광합성 효율 Y(II)와 전자전달효율 ETR에 해당하는 6개 파라미터를 저장하였다. 2018년도 39,942개의 데이터 (2,219회 \* 18개 프로브)와 2019년도 27,216개 데이터 (1,512회 \* 18개 프로브)를 수집하여 총 67,158개 데이터를 수집하였다.

#### 나. 미기후 특성과 식생 광합성능의 일주기성 변화

WET, INT, DRY지역의 토양 수분양은 지역별로 뚜렷한 차이가 있었다. WET지역의 *S. uncinata* G group (SuG)의 경우 좁은 물길의 바로 옆에 서식하고 있어, 측정기간 동

안 토양 수분양의 변동이 큰 것으로 관측되었고, DRY 지역의 *C. gracilis*(Cg)의 주변 또한 일시적으로 수분이 증가하나 급격히 감소하는 패턴을 보였다. INT 지역의 경우 토양 수분양의 변화가 거의 없는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과를 바탕으로 각 지역의 식생 아래 토질이 달라 지역적인 수분구배가 형성되고, 이로 인한 식생의 변화가 형성된 것으로 판단되었다. 반면, 광량과 온도는 모든 지역에서 동일한 패턴을 보여주었고 이것은 태양의 일주기성과 일치하였다. 광량(PAR)이 10 미만에 해당하는 저녁 10시부터 새벽 4시까지를 밤으로 간주하였으며, 이 시간대의 온도는 0도 근처에 머물렀다. 일출 이후 광량이 서서히 증가하면서 일조량이 가장 높은 낮 12시에서 오후 2시 사이 지표면의 온도는 약 10~12도 까지 상승하였으며, 일조량의 감소와 함께 온도도 낮아지는 높은 양의 상관관계를 보였다(Figure 3).



**Figure 3.** WET, INT, DRY 지역의 토양 수분양과 시간대별 광량 PPFD(Photosynthetic photon flux density)와 온도의 변화양상. 각 지역의 토양 수분양은 지엽적으로 다르지만, KGL01 지역의 광량과 온도변화는 일주기성을 띤. 광량값이 10미만인 밤 10시부터 새벽 4시까지를 밤 시간으로 정하였고 회색 박스로 표현.

이와 같은 광량과 온도의 일주기성은 광합성 패턴에도 영향을 주었다. 3 지역에서 선정된 6개체군의 광합성 패턴은 크게 두 가지로 나뉘었다. 광량의 증가와 함께 점진적으로 광합성 효율이 감소하다가 일조량이 최대인 낮 시간에 최저의 광합성 효율을 보이는 V

형의 광합성 패턴을 보이는 그룹(Figure 4의 상단패널)과 일출과 동시에 광합성효율이 급격히 낮아지지만 일조량이나 온도와는 상관관계를 보이지 않고 완만하게 광합성효율이 유지되는 U형의 광합성 패턴을 보이는 그룹 (Figure 4의 하단패널)으로 구분된다.

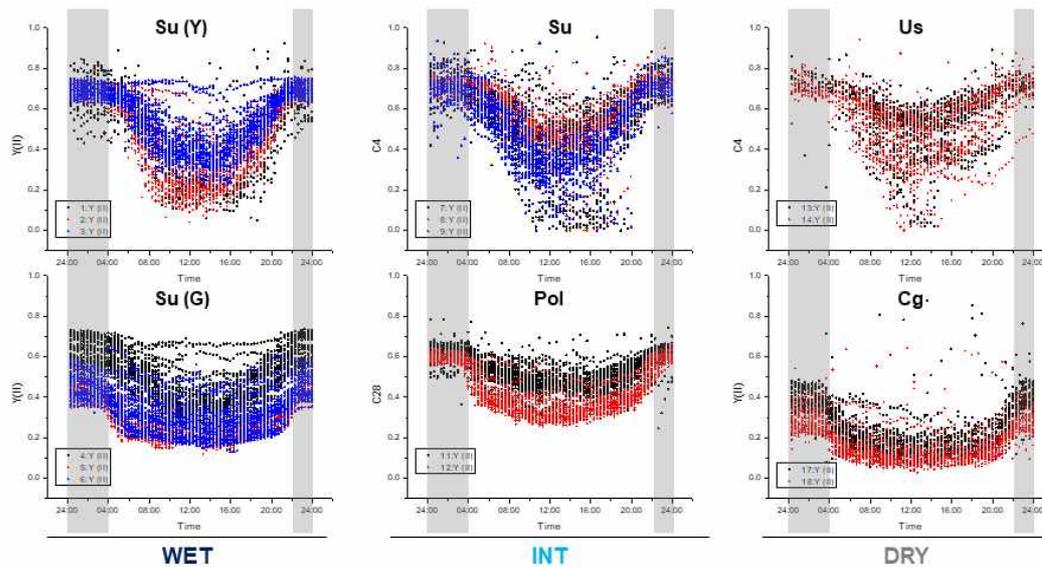


Figure 4. 각 개체군의 광합성 효율 Y(II)의 일주기성 패턴. 최대 광량시점인 낮 12시~오후 2시에 광합성 효율이 최저값을 갖는 V자형 그룹 (상단)과 일출 이후 급격한 광합성 효율의 감소를 보이지 않음 최대 광량시점에 변화를 보이지 않는 U자형 그룹 (하단)으로 나뉨. 각 개체군이 갖는 고유한 광저해 기작으로 판단됨.

선대류의 경우, 대체로 광합성 효율이 0.6~0.8로 높았다. WET 지역의 SuG와 SuY는 전혀 다른 광합성 패턴을 보이고 있으며, 이 지역에 혼생하는 두 종의 개체군이 존재하는 것으로 판단된다. WET 지역의 SuY와 INT 지역의 Su는 V형의 광합성 효율 패턴을 보이지만, 일조량이 최대일 때 INT지역 Su의 광합성 효율은 더 낮다. 이러한 결과는 광저해 기작이 발생하는 센 빛의 조건에서 수분부족으로 인한 광계 II의 손상이 더욱 심하였기 때문으로 판단된다. 반면 *Polystichastrum* sp. (Pol)의 경우 동일한 토양 수분 조건에서도 높은 광합성 효율을 유지하는 건조에 강한 내성을 보이고 있다. 따라서 남극의 기온 상승과 건조화가 지속될 경우, INT지역의 *Polystichastrum* sp.은 *S. uncinata*에 비해 좀 더 유리할 수 있다고 판단된다.

지의류 *Usnea*는 광량이 낮은 밤과 새벽 시간대에 형광값(F 또는 Fm')이 측정되지 않아 광합성 효율이 산출되지 않는 광계 II의 비활성화가 빈번이 관찰되었지만, 아침이나 낮의 광합성 효율은 0.4~0.6으로 높은 것으로 관측되었다. 이와 같은 현상은 *Usnea* 공생 조류의 광저해 기작이 낮은 온도와 낮은 빛 조건에서 활발하지 않기 때문으로 판단된다.

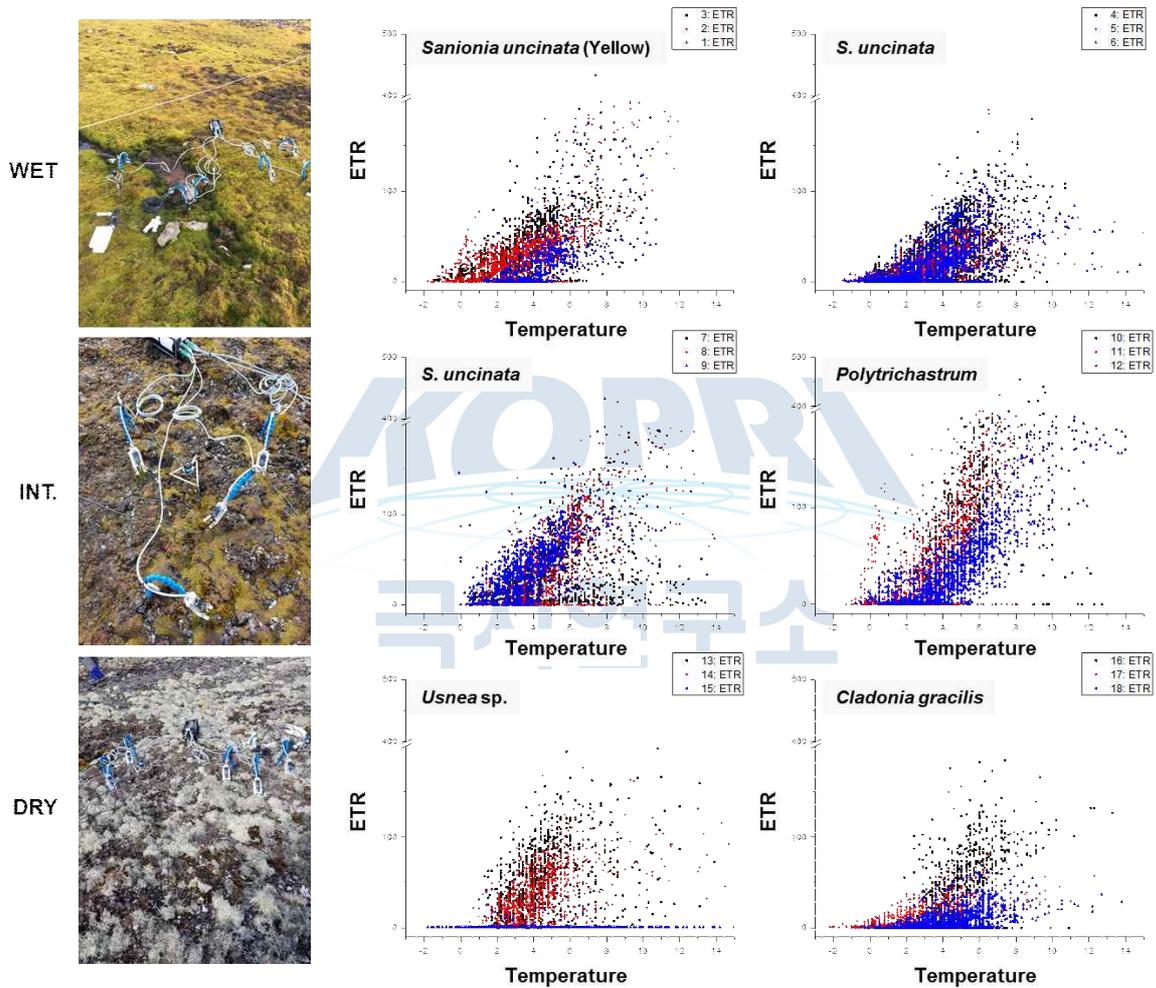
*Usnea*는 건조하고 강한 빛 조건에 적응한 남극의 대표 우점종으로 센 빛을 차단하기 위한 2차 대사산물을 생산하며 광합성 효율을 높게 유지하기 위해 발달한 독특한 광저해 기작이 있음이 보고되어 있다(Bartak et al. 2012; Heber 2008; Kranner et al. 2008; Sancho et al. 2017, 2019). *Usnea*와 같이 센 빛에 선택적으로 광합성을 하도록 발달한 지의류 그룹을 태양광 적응 특성 (sun-adapted feature)을 갖는 지의류로 분류한다. 반면 *C. gracilis*의 경우 최대 광합성 효율이 0.4~0.5 수준으로 매우 낮은 편이지만 모든 시간대에 광합성 효율이 관찰되었으며, 광계 II의 비활성화는 거의 관찰되지 않았다. *Usnea*와 달리, *C. gracilis*는 광계 II를 보호하기 위해 센 빛과 건조와 같은 스트레스 환경에서 광합성 효율을 낮게 유지하도록 발달한 그룹으로 그늘 적응 특성(shade-adapted feature)을 갖는 지의류로 분류한다(Cho et al. 2020). 현장 관측을 통해 알려진 남극 대표 식생의 다양한 광합성 패턴들은 더욱 자세한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

#### 다. 연간 미기후 변화에 따른 대표 식생의 광합성능의 변화

광계 II에서 수확한 전자는 틸라코이드막 내에서 농도구배를 형성하여 ATP를 생산하고, 탄소를 고정하기 위해 사용되는 NADPH등을 형성한다. 따라서 광계 II에서 광계 I으로 전자전달효율을 측정하면, 광합성을 하는 1차 생산자의 생산성과 에너지 전달 효율을 상대적으로 비교할 수 있게 된다. 전자전달효율 ETR은 주어진 빛 조건에서 측정된 광합성 효율 Y(II)를 통해 산출되며, ETR이 높을수록 양자로부터 획득한 무기에너지인 전자가 유기에너지 형태로 전환되는 효율이 높다는 것을 의미한다. 이것은 광합성 생물의 성장과 탄소고정률과 상관관계가 높다. 현장관측을 통해 얻은 ETR 그래프는 상대전자효율 값으로 개체군간의 전자전달효율을 비교하기에 적합한 파라미터가 된다. 남극의 낮은 기온, 건조, 강한 빛과 이러한 요소들의 급격한 변화는 광계 II에 큰 손상을 야기하며, 전자전달율을 낮추는 요인이 된다. 본 연구에서는 온도 증가에 따른 각 개체군의 전자전달효율을 비교함으로써 남극의 기온 상승과 건조화가 식생에 미치는 영향을 평가하고자 하였다 (Figure 5).

6개 개체군 중에  $-2^{\circ}\text{C}$  사이의 조건에서 ETR 값이 관측되지 않는 그룹은 INT 지역의 *S. uncinata* (Su)와 건조지역의 *Usnea* (Us)로 저온조건에 취약한 것으로 나타났다. *Usnea*의 경우 선행연구를 통해 저온조건(약  $4^{\circ}\text{C}$  미만)에 광합성 효율이 낮아지는 상관관계가 밝혀졌다. 반면 INT 지역의 *S. uncinata*의 경우 WET 지역의 SuY와 SuG에 비해 저온에 민감한 것으로 나타났으며, INT 지역의 낮은 토양 수분양과 저온 등의 환경 스트레스 요인이 광계 II에 큰 손상을 야기한 것으로 판단된다. 반면 INT 지역의 *Polytrichastrum* (Pol)은  $0^{\circ}\text{C}$  미만의 저온조건부터 약  $10^{\circ}\text{C}$ 에 이르는 한 낮시간의 온도

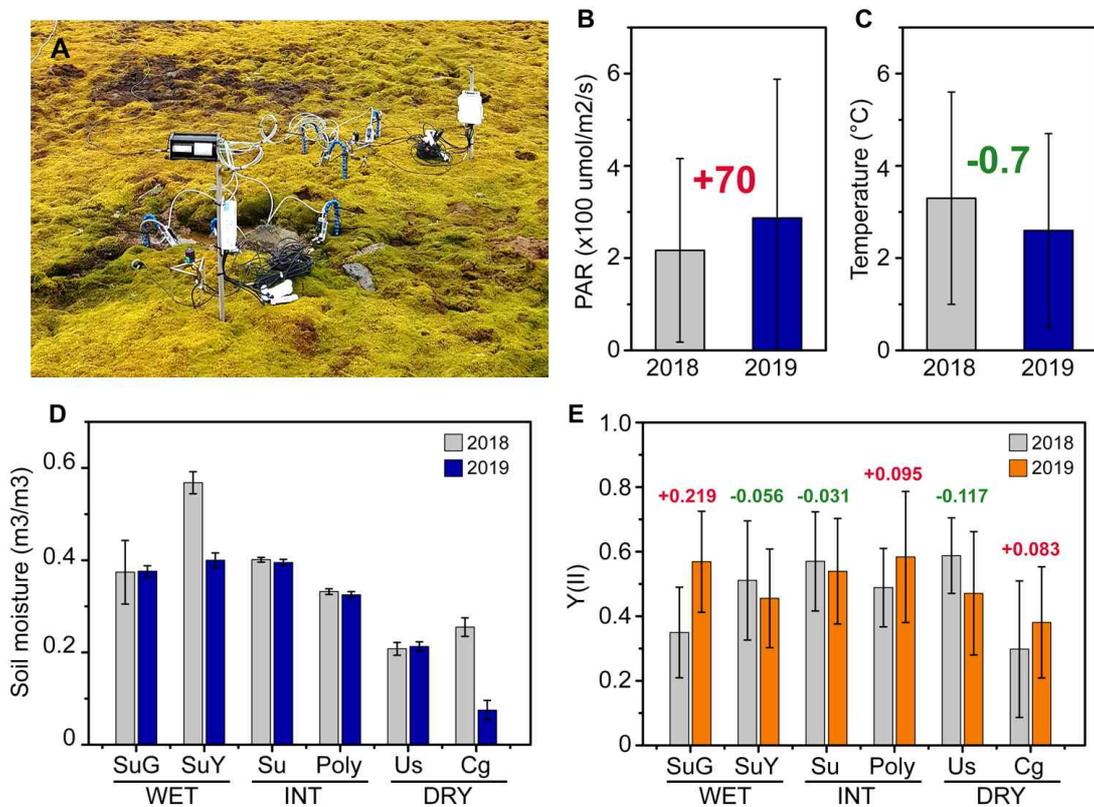
조건에서 높은 ETR 효율을 보이고 있다. 특히 J-shape의 exponential increase pattern을 보임으로써 강광의 조건에 매우 잘 적응한 광합성 기구를 갖고 있음을 보여주었다. 수분 양이 현저히 낮은 DRY 지역 2종의 지의류 *Usnea*와 *C. gracilis*는 비록 제한적인 조건에서 광합성이 일어나지만 WET지역의 *S. uncinata* 그룹만큼의 높은 광합성 효율이 측정되었는데, 이는 지의체 내의 공생조류가 건조한 지역에서도 높은 광합성 효율을 갖는 것으로 해석된다.



$$\text{ETR 산출식) } \text{ETR} = Y(\text{III}) * \text{PAR} * \text{ETR-factor} * \text{PpsII/Pps(I+II)}$$

**Figure 5.** 개체군별 온도와 전자전달효율 ETR의 상관관계. 본 연구의 ETR 값은 ETR-factor = 0.84, PpsII/Pps(I+II) = 0.5로 고정하여 계산한 상대전자전달효율 rETR을 의미함. 개체군별 온도에 대한 반응성은 상이하며 기후변화에 따른 온도상승이 각 개체군의 광합성 효율 및 1차 생산성에 미치는 영향을 유추할 수 있는 결과로 판단됨.

2018년과 2019년도의 동일한 관측 기간에 해당하는 2월 1일~2월 10일의 결과를 비교해 보면(Figure 6), 2019년의 기후는 평균 일조량이  $70 \text{ } \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  정도 증가한 반면, 온도는  $0.7^\circ\text{C}$  감소하는 변화를 보였다. 각 지역의 토양 수분량은 예년과 거의 유사하였다. 반면, 대표식생은 광합성능은 상승과 감소를 보였다. WET 지역의 *S. uncinata* SuG 그룹의 광합성 효율은 큰 폭으로 상승하였고, INT 지역의 *Polytrichastrum*과 DRY 지역의 *C. gracilis*도 다소 상승하는 현상을 보였다(Figure 6). 반면, WET 지역의 *S. uncinata* SuY 그룹과 INT 지역의 *S. uncinata* Su 그룹은 약간의 감소폭을 보였고, *Usnea* sp.는 큰 감소량을 보였다. 기온의 감소는 광합성능에 다소 저해요인으로 작용할 수 있으나, 일부 종에서는 기온의 감소보다 광량의 증가에 의한 광합성효율의 강한 상승작용을 보이기도 하였다. 이와 같은 현상은 환경모사실험을 통해 검증이 필요하다.



**Figure 6.** KGL01 지역의 미소기후 데이터와 지역 식생의 광합성 효율 Y(II)의 관측결과. A. 광합성 형광 측정장치 MoniDA와 미소기후 측정장치 HOBO 로거의 설치 모습. B-D. 2018년과 2019년도 2년간의 광량(B), 온도(C), 토양습도(D)의 측정값의 변화량 그래프. E. KGL01 식생의 주요 구성원인 이끼류 *Sanionia uncinata* (분포지역에 따라 SuG, SuY, Su로 표기함)와 *Polytrichastrum* sp. (Poly)와 지의류 *Usnea* sp. (Us)와 *Cladonia gracilis* (Cg)의 광합성 형광 측정값의 변화량 그래프. 토양수분 분포에 따라 WET, INT (intermediate region), DRY지역으로 구분됨. 데이터는 2월 1일~2월 10일에 해당하는 결과 사용.

라. 실험실 내 환경변화에 따른 식생의 광합성능, 분자 수준 변화 모니터링 방법의 구축

광합성 효율과 관련한 다양한 파라미터는 식물체의 스트레스 정도, 에너지 전달 효율 및 건강성을 대변하는 요인으로 널리 활용된다. Imaging PAM장비는 광합성 시스템을 갖는, 남세균, 조류, 식물 및 지의류 등에서 다양한 광합성 형광값을 이미지로 저장하여 각 픽셀에서 나타난 형광의 세기를 통해 Y(II), Y(NPQ), Y(NO), ETR등을 산출한다. PAM 시스템에서 활용가능한 모든 측정 장비를 갖추고 있어 여러 개체를 동시에 측정하여 비교하고자 할 데에 매우 유용한 장비이다(Figure 7).

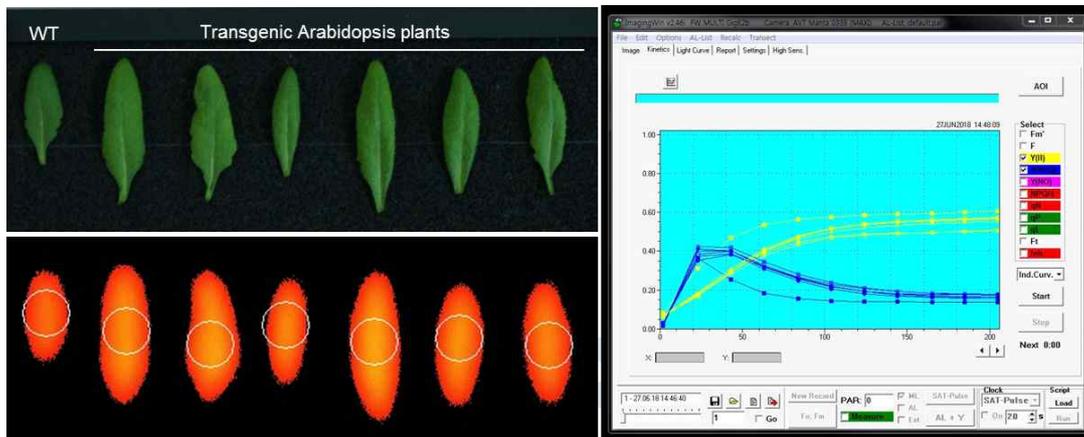
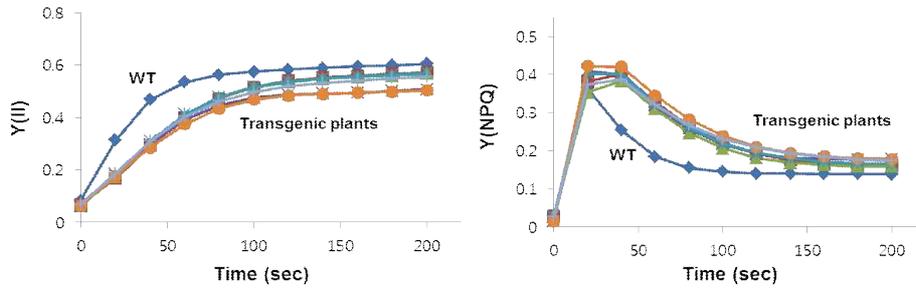


Figure 7. Imaging PAM을 활용한 애기장대 야생형과 형질전환식물체 잎의 형광이미지와 Imaging WinGigE 프로그램의 측정 중 화면. ROI(region of interest)를 설정하여 특정 지역의 이미지 픽셀을 다양한 광합성 파라미터 측정에 활용함.

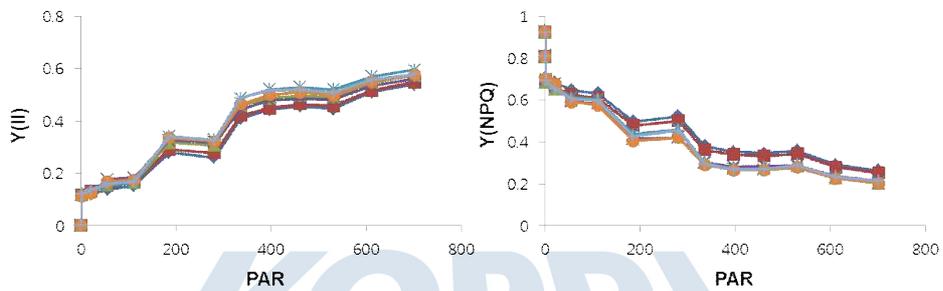
Imaging PAM을 활용하여 애기장대의 잎과 남극 이끼의 건조도에 따른 광합성 파라미터의 변화를 관측하였다(Figure 8). 애기장대 야생형과 형질전환 식물체 6개의 잎을 이용하여 30분간 암적응 후 광합성 효율이 회복되는 정도와 광계 II에서 발생하는 NPQ의 효율을 측정한 결과 야생형 식물체에서 더욱 빠르게 Y(II)가 회복되고 빠른 NPQ반응이 진행됨을 알 수 있었다. 반면 형질전환 식물체의 경우 NPQ반응이 지연됨에 따라 Y(II)의 증가가 더디게 일어나는 것이 관찰되었다. 반면 명 조건에 빛 세기를 증가시킴에 따라 나타는 Y(II)와 Y(NPQ)의 변화는 차이가 없었다. 이 결과는 센 빛에 의한 광계 II 반응중심의 회복기작의 큰 차이가 없음을 의미한다. 남극이끼의 야생형과 건조 2시간, 6시간 처리 샘플의 Y(II)와 Y(NPQ)는 매우 극명한 차이를 보였다. 하지만 명조건에서 빛 세기에 대한 Y(II)와 Y(NPQ)의 값을 비교해보면, 건조가 진행된 샘플일 수록 Y(II)와 Y(NPQ)가 모두 낮아지는 값을 보이는데, 이러한 현상은 손상된 광계 II가 NPQ를 통한 열 발산이 아닌 비광화학적 비조절적 기작을 통해 반응중심 센터에 도달하는 전자를 소실하는 것으로 판단된다.

For *Arabidopsis* plants

A. Induction curve (dark-adapted samples)

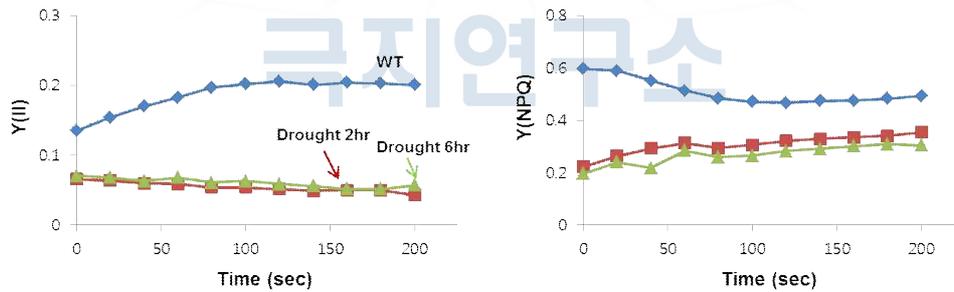


B. Light curve (light-adapted samples)



For *Ceratodon purpureus* Antarctic Moss

A. Induction curve (dark-adapted samples)



B. Light curve (light-adapted samples)

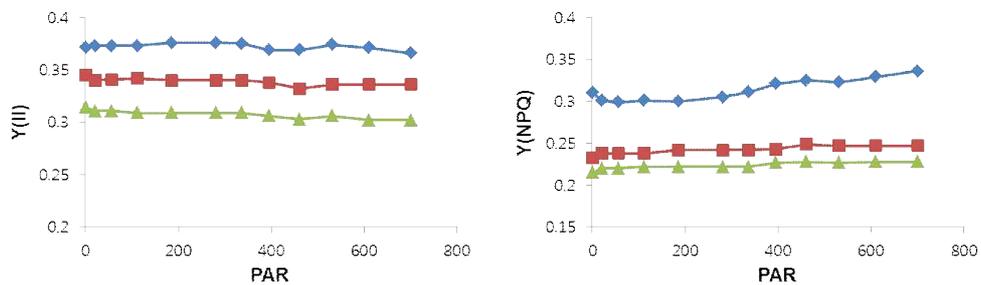


Figure 8. Imaging PAM을 이용하여 측정한 애기장대와 남극이끼의 induction curve와 light curve 분석

## 제 7 절 빙하후퇴 지역 조류 번식 모니터링

### Breeding records of kelp gulls near terminal moraine at Potter Cove, King George Island

#### 1. 서론

극지방에서 나타나고 있는 온난화의 영향은 다양한 생물들의 생존을 위협하고 있다. 남극에서 바다 얼음의 감소는 황제펭귄의 개체군 유지에도 영향을 미칠 것으로 예측된다(Trathan et al., 2020). 남극반도는 빙하의 후퇴속도가 빠르게 진행되는 지역 중 하나이며(Siegert et al., 2019), 남쉐틀랜드제도의 킹조지섬에서도 지구 온난화의 영향으로 빙하가 빠르게 녹고 있는 것이 확인되고 있다(Rückamp et al., 2011).

포케이드 빙하의 해안 경계를 접하고 있는 킹조지섬의 포터소만에서도 빙하 후퇴가 빠르게 진행되고 있으며, 그 인근에 드러나는 땅의 면적 증가에 따라 남방큰재갈매기의 번식지도 확장되고 있다(Lee et al., 2015). 남방큰재갈매기는 킹조지섬에서 번식하는 대표 조류 중 하나이며(Sand et al., 2006; Branco et al., 2009) 주요 먹이원인 삿갓조개 및 해양생물 서식지에서 가까운 용이한 해안가에서 주로 번식한다(Quintana and Travaini 2000).

남방큰재갈매기는 알과 새끼의 보온을 위해 식물을 등지재료로 활용하기 때문에 번식지 주변 식생도 등지장소 선택에 중요한 요인이 되며(Quintana et al. 2001; Parnikoza et al., 2012), 극지방이 아닌 곳에서는 바위피도보다 식생피도가 높은 곳을 번식지로 선호한다(Garcia-Borboroglu & Yorio P, 2004; Suarez et al., 2010). 하지만 식생이 빈약한 남극에서는 바위피도가 높은 곳을 번식지로 선택한다. 바위는 보호색을 띠는 알과 새끼의 생존률을 높여줄 수 있으며 바람으로부터 체온손실을 줄여주는 역할을 할 것으로 생각된다. 본 조사에서는 빙하를 접하고 있는 남방큰재갈매기 번식지의 기상학적 특성과 빙퇴석이 등지장소 선택에 미치는 영향을 파악하고자 하였다.

#### 2. 조사지역 및 방법

본 조사는 남극반도의 북단 사우스쉐틀랜드군도 킹조지섬의 바톤반도 동쪽 포터소만의 포케이드 빙하가 후퇴한 지역에서 수행되었다(62°13' 35-55"S, 58 °42' 15"- 43' W; Figure 1). 빙하 후퇴 양상을 분석하기 위해 1989년부터 2018년까지 남극의 하계에 해당하는 12월부터 2월의 기간 동안 빙하경계선이 보이는 위성사진을 이용하였다. 등지분포 조사를 위하여 남극의 하계 기간 동안 번식지를 방문하였으며, 정확한 남방큰재갈매기 등

지의 위치를 측정하기 위해서 GPS 수신기를 이용해 정보를 기록하였다(Trimble, GeoXH 6000series: Figure 2).

등지 인근의 빙퇴석 배치 방향을 파악하기 위해 나침반을 이용하여 등지 중앙에서 빙퇴석 중심으로의 방위를 측정하였다(Figure 3). 등지 주변을 둘러싼 빙퇴석이 하나 이상 일 경우에는 가장 큰 빙퇴석의 배치 방향을 분석에 사용하였다. 기상자료는 조사지 내에 설치된 자동기상관측시스템으로부터 남방큰재갈매기의 도래, 산란 및 포란기인 10월에서 12월까지 3개월간의 기온, 풍향, 풍속 및 상대습도 등이 획득되었다.

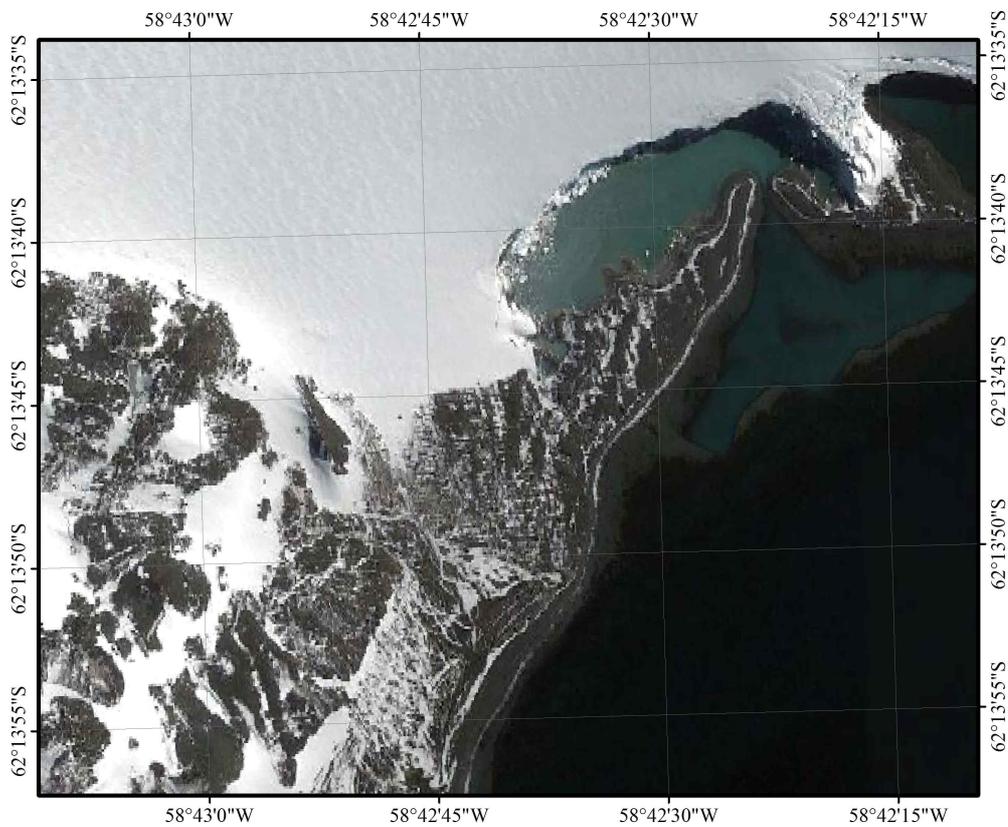


Figure 1. Terminal moraine formed at Potter Cove, King George Island, Antarctica



Figure 2. A nest of kelp gull (where a yellow GPS machine is located on) near the moraines which are exposed by glacier retreat



Figure 3. Azimuth measurement of moraines adjacent to nest using compass

### 3. 결과 및 토의

1989년부터 2006년까지는 빙하가 북쪽 방향으로 후퇴하는 경향을 보였으나, 그 이후부터는 빙하사면 배치방향을 따라 북서쪽으로의 후퇴가 진행되고 있다. 남방큰재갈매기의 번식지는 최근에 빙하가 후퇴한 지역으로 북상하고 있으며 2018년에는 번식지 범위가 2015년의 빙하경계까지 확장되었다(Figure 4). 본 조사지역에서 남방큰재갈매기의 등지수는 2012년부터 2014년까지 증가하는 추세(30→34 등지)였으나 2015년에 22등지로 급감하였다. 그러나 그 이후에는 지속적으로 증가하여 2019년에는 총 38개의 등지가 확인되었다(Figure 5). 그러나 빙하 후퇴지역이 매년 증가하고 있음에도 번식집단의 규모는 느리게 확장되고 있다. 최근에 드러난 지역(빙하 경계지역)에는 빙퇴석 및 퇴적물이 유입되고 있으므로 지형이 안정될 때 까지 번식지의 확장이 지연되고 있는 것으로 보인다. 남방큰재갈매기들은 배수가 양호한 고지대나 완만한 경사지형에 번식집단을 형성하였다. 특히 좋은 빙퇴석이 풍부하게 분포하고 있는 지역을 번식지로 선호하였다(Figure 6).

남방큰재갈매기가 등지를 짓고 산란 및 포란 기간 동안(10월-12월)의 기상자료를 비교한 결과 2018년에는 2016년에 비해 평균 기온( $t = 2.716, p = 0.007$ ), 풍속( $t = 26.321, p < 0.001$ ), 상대습도( $t = 21.463, p < 0.001$ )등이 높게 관측되었다(Table 1). 이는 킱조지섬에서 동시기의 기온이 높아지고 풍속이 빨라짐에 따라 빙하의 후퇴속도도 빨라지고 있는 것으로 사료된다.

본 조사지역에서 번식하는 남방큰재갈매기들은 빙퇴석 근처에 등지를 짓는 경향을 보였다. 특히 등지 인근의 빙퇴석들은 등지를 기준으로 북서 방향에 배치되는 빈도가 높았다(Table 2). 또한 산란 및 포란기간인 10월부터 12월까지 조사지역에서는 빙하지역에서 불어오는 북서풍계열의 풍향 빈도가 높게 나타났다. 이는 남방큰재갈매기들이 등지 장소를 선택할 때 산란 및 포란 시기에 바람으로부터 체온과 포란온도의 손실을 최소화하기 위해 바위를 등지벽으로 활용하기 때문인 것으로 생각된다.

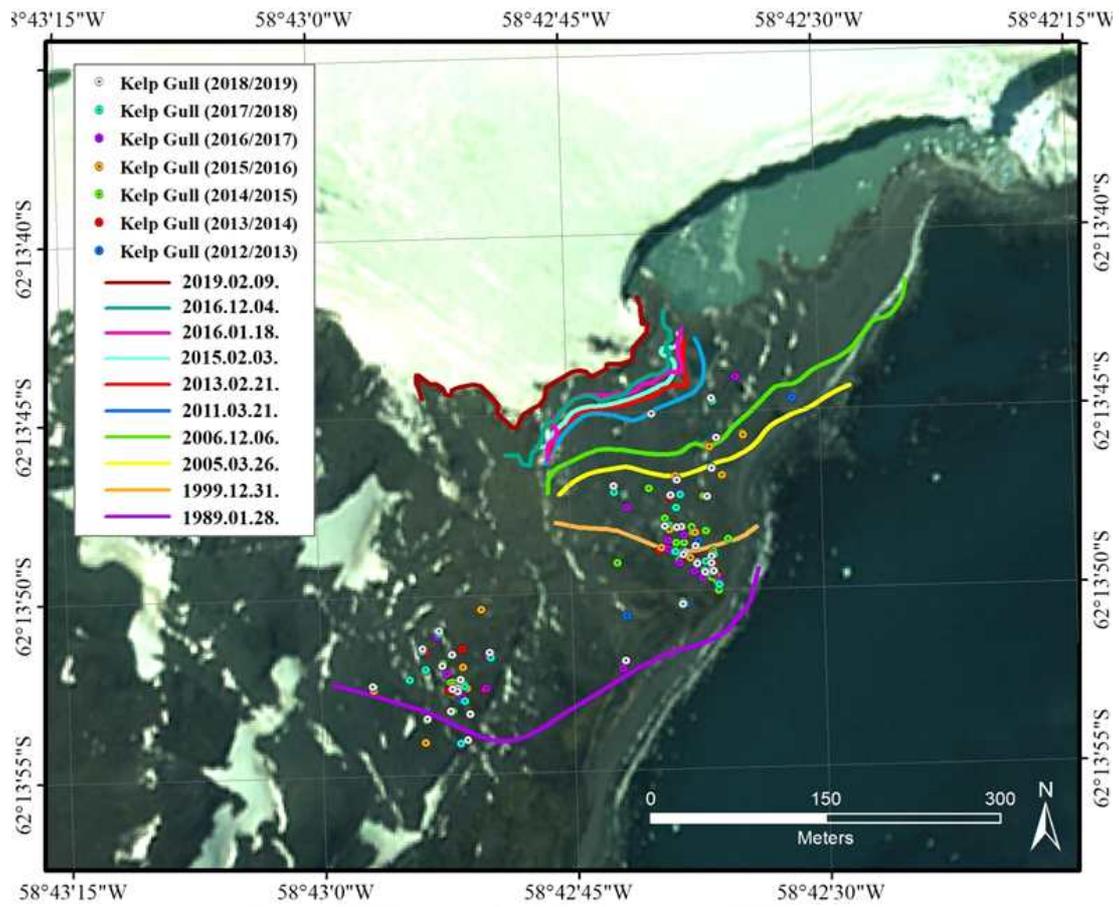


Figure 4. Changes in glacier boundaries from 1989 to 2016 determined by satellite image analyses



Figure 5. Changing number of nests of kelp gulls at terminal moraine

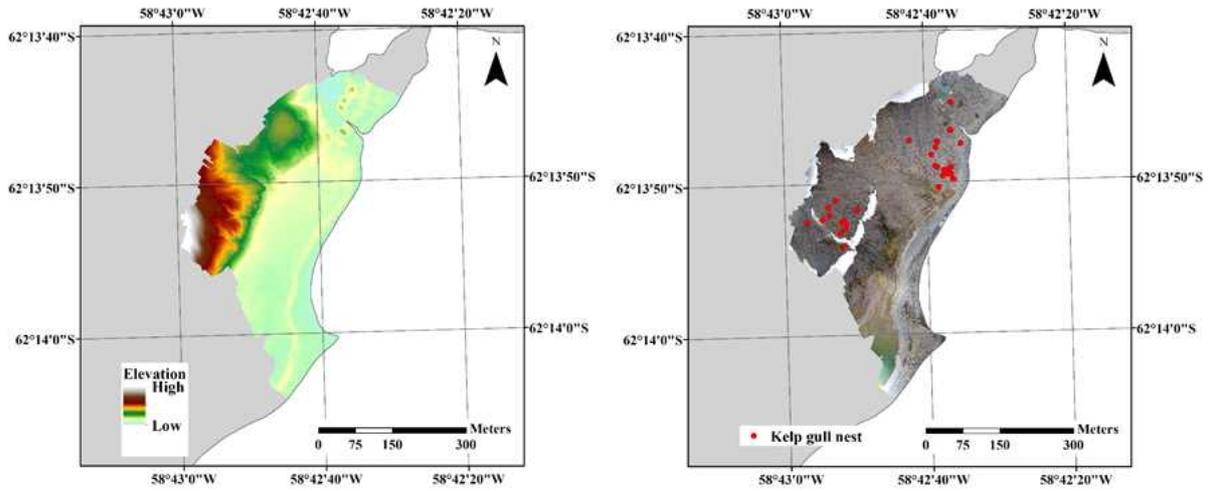
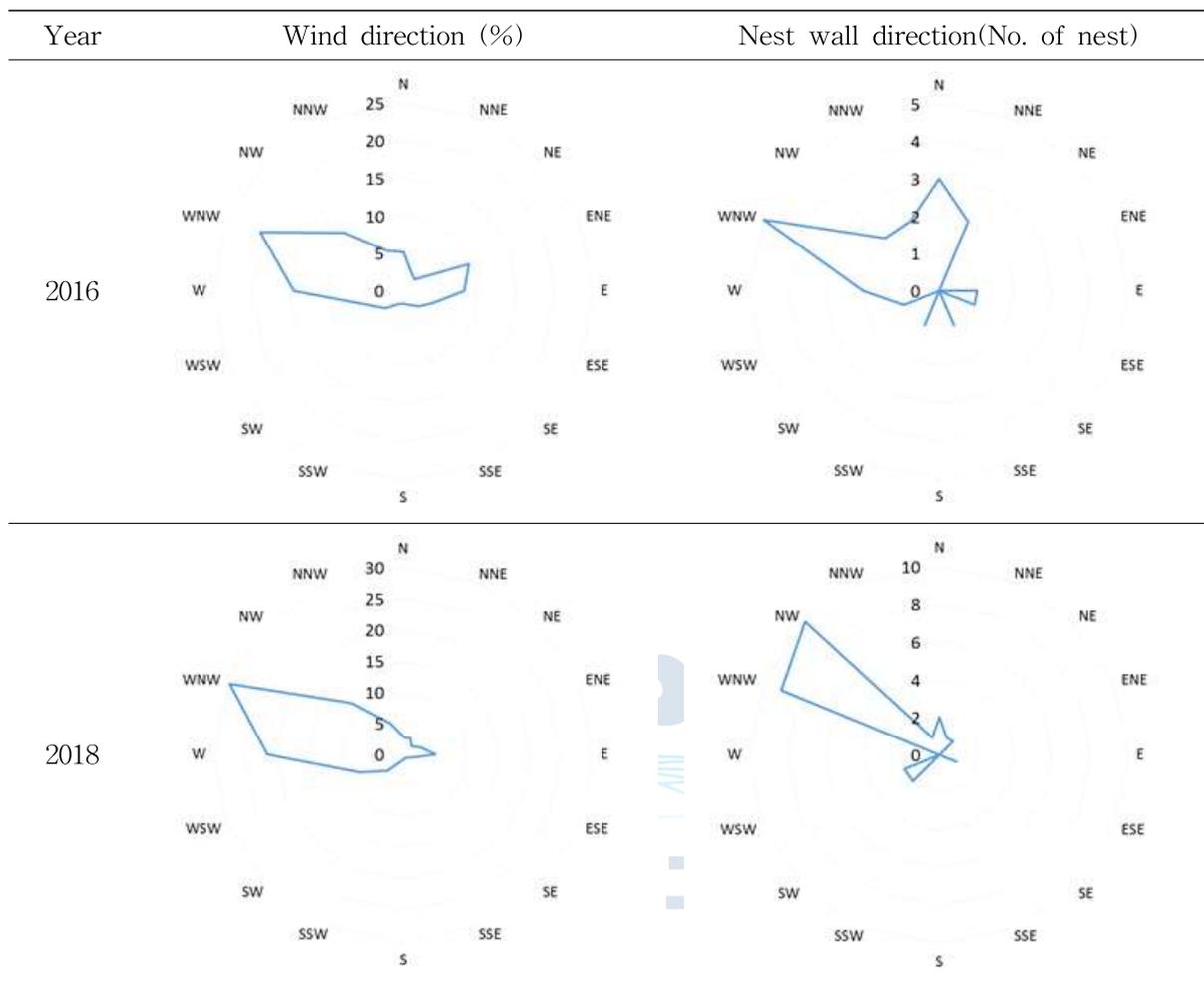


Figure 6. Topographic map of terminal moraine and nest distribution of kelp gulls in 2018

Table 1. Meteorological data observed in at Potter Cove 2016 and 2017(Oct.~Dec.)

Year	Month	Average temperature (°C)	Wind direction (°)	Wind speed (m/sec)	Relative humidity (%)
2016	Oct.	-0.87 ± 2.33	237.98 ± 96.71	6.16 ± 3.24	86.65 ± 8.32
	Nov.	-0.38 ± 1.59	223.16 ± 97.29	5.14 ± 2.61	78.83 ± 10.56
	Dec.	0.50 ± 1.41	173.61 ± 112.70	4.35 ± 2.20	79.49 ± 9.76
	Total	-0.25 ± 1.91	211.46 ± 106.21	5.22 ± 2.82	81.69 ± 10.22
2018	Oct.	-1.87 ± 2.50	226.05 ± 97.41	5.91 ± 3.48	82.52 ± 7.27
	Nov.	0.03 ± 1.78	257.91 ± 81.60	6.57 ± 2.81	85.75 ± 7.82
	Dec.	1.27 ± 1.16	256.94 ± 74.53	5.88 ± 2.48	84.14 ± 8.73
	Total	-0.19 ± 2.30	246.84 ± 86.37	6.12 ± 2.97	84.12 ± 8.07

**Table 2.** Directions of wind and nest wall(moraine) measured at breeding site of kelp gulls



## 제 8 절 빙하후퇴지역 식생 변화 모니터링

### Monitoring on vegetation changes near glacial retreat area

#### 1. 서론

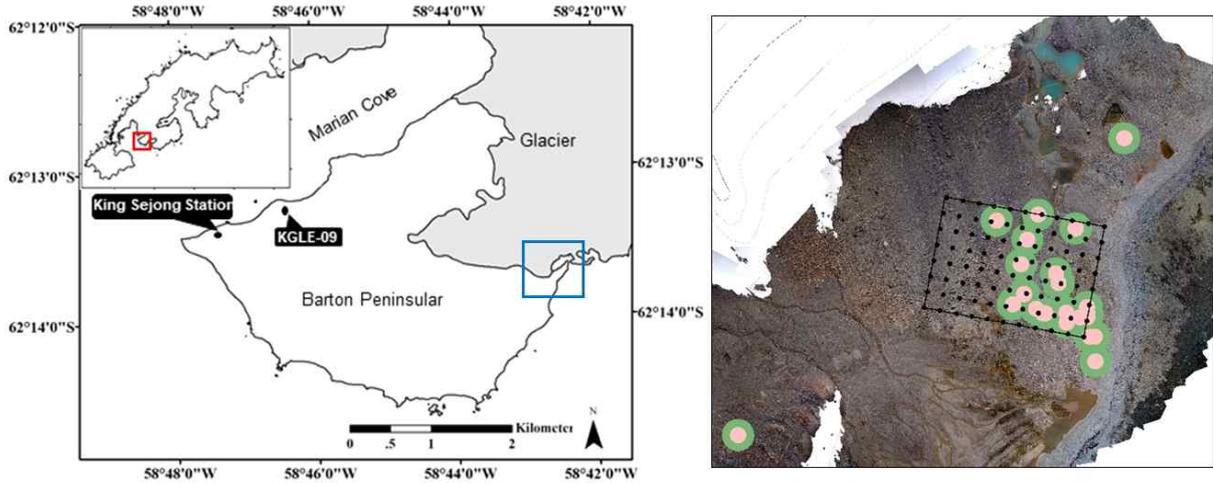
킹조지섬은 지구상에서 가장 급격하게 온난화가 진행되고 있는 지역 중의 하나인 남극반도의 북쪽에 위치하고 있으며(Royles et al. 2013), 바톤반도와 포터코브를 사이에 두고 있는 포터소만에 걸친 포케이드 빙하(Forcade Glacier)도 지난 1989년 획득된 영상과 2016년까지 획득된 위성영상을 비교해 보면 빠르게 후퇴하고 있음을 알 수 있다(Lee et al. 2017). 약 27년 동안 200 - 300 m의 빙하가 후퇴하였고, 1989년 이래 2016년까지 빙하가 후퇴하여 노출된 지면의 면적은 약 96,000 m<sup>2</sup>에 달한다(Lee et al. 2017). Lee 등은 2012/13 - 2015/16 시즌에 해당 지역에서 새로이 유입된 남방큰재갈매기(*Larus dominicanus*)의 번식쌍들을 관측하였다. 남극반도와 아남극 섬들을 포함한 남반구에 널리 분포하는 남방큰재갈매기의 번식 등지는 1970년대부터 킹조지섬의 노출지에서 지속적으로 보고되고 있다(Aguirre 1995; Harrison 2003; Lumpe and Weidinger 2000; Sander et al. 2006). 남방큰재갈매기는 번식을 위한 등지를 만들 때, 재료로 주변의 현화식물(*Deschampsia antarctica*)이나 지의류, 이끼, 깃털 등을 섞어 사용하는 것으로 잘 알려져 있다(Parnikoza et al. 2018). Parnikoza 등은 남방큰재갈매기가 사용한 등지재료로부터 노출지의 남극 식생이 점유되는 현상을 킹조지섬의 펠데스반도 지역과 아르젠틴섬에서 조사하여 보고한 바 있다. 남방큰재갈매기는 등지 재료를 주변 뿐만 아니라 상당히 떨어진 지역에서도 가져오는 것으로 보고되고 있으며, 이러한 현상은 바톤반도의 빙하후퇴 지역에서도 관찰되고 있다. 본 연구에서는 바톤반도 포케이드 빙하 후퇴지역에서 번식조류인 남방큰재갈매기의 등지와 분변으로 인한 영양 공급 등으로 유도되는 pseudo-succession 현상(Boy et al. 2016)과 이 지역 기후변화에 따른 빙하후퇴지역의 식생변화를 조사하고자 하였다.

#### 2. 재료 및 방법

##### 가. 킹조지섬 바톤반도 육상빙하 후퇴 지역

바톤반도와 포터반도를 덮고 있는 Forcade glacier의 후퇴에 따른 노출지 확장과 번식조류 영향으로 인한 식생천이 과정을 조사하였다. 조사 지역은 바톤반도 해안가의 빙하후퇴지역으로 Figure 2의 파란색 박스지역 중 식생이 분포하고 있는 90 x 100 m의 지역에

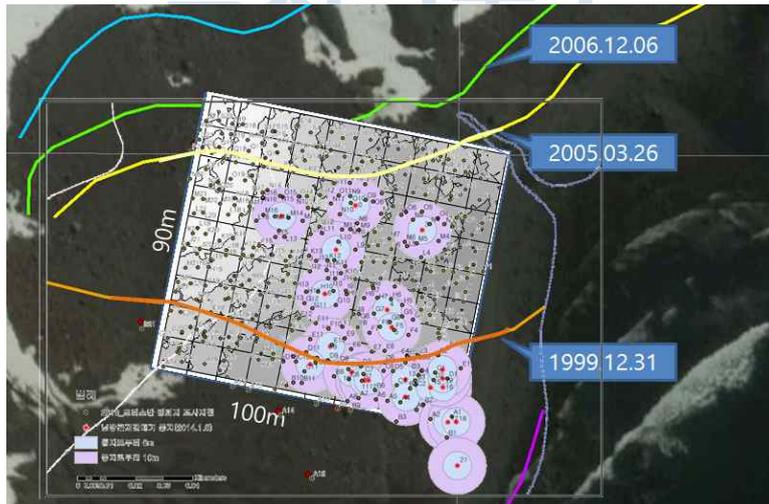
서 수행하였다. 방형구 내와 외부에 있는 원형 및 타원형은 남방큰재갈매기의 둥지 위치와 둥지로부터의 거리를 표시한 것이다.



**Figure 1.** Location and pictures of the research site (blue box) on Barton Peninsula, King George Island, Antarctica and the Korean Antarctic King Sejong Station (62° 13' 22" S 58° 47' 18" W).

#### 나. 방형구 조사

조사지역에 영구방형구(100 × 90 m)를 설치한 후에 5 m 간격의 소격자로 나눈 총 399개 지점에서 미지형, 입지요인 등의 비생물 요인과 남방큰재갈매기의 영향을 조사하였다(Figure 2). 각 소형 방형구에서 출현종과 출현종의 빈도 및 피도를 산출하였다.



**Figure 2.** Permanent large quadrat with small quadrats to survey vegetation changes installed on glacial retreat area in Barton Peninsula.

### 3. 결과 및 토의

#### 가. 방형구 영상 자료 분석 및 출현종

최근 빙하후퇴로 인해 형성된 노출지역에서 식생천이는 번식조류가 둥지 재료로 유입하는 식물들과 이들 식물에 서식하는 다양한 미생물 및 원생생물에 의해 촉진되고 있다. 조사 지역에 남방큰재갈매기에 의해 유입된 식생은 지의류인 *Usnea aurantiaco-atra*, 이끼류인 *Sanionia uncinata*, 현화식물인 남극개미자리(*Colobanthus quitensis*)와 남극좁새풀(*Deschampsia antarctica*) 등이 대부분이었으며, 이 중에서 정착이 확인된 종은 남극개미자리와 남극좁새풀 뿐이었다.

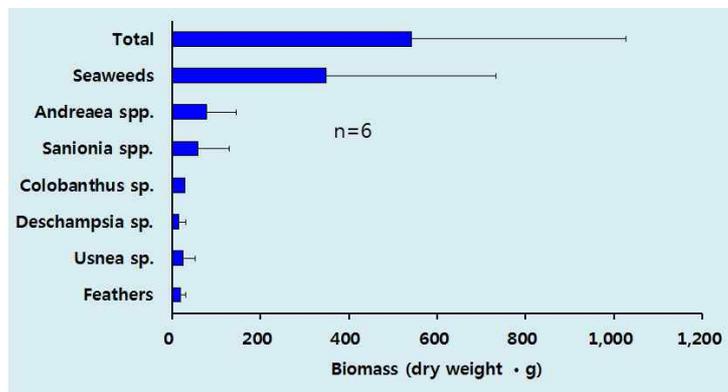


Figure 3. Kelp gulls' nest materials.

바톤반도의 빙하후퇴 초기지역에서 식생의 발달을 파악하기 위하여 2017/18년도 하계 기간 동안 총 93개 방형구에서 촬영된 사진자료를 분석하였다. 방형구 내에서 출현하는 육상식물은 지의류 2종, 선류 6종, 조류 1종, 현화식물 2종으로 총 11개 분류군이 확인되었다(Table 1). 이 중에서 조사지역에 대규모로 번식하는 갈매기의 둥지재료로 유입된 종은 선류인 *Sanionia uncinata*와 현화식물인 남극개미자리(*Colobanthus quitensis*) 및 남극좁새풀(*Deschampsia antarctica*)의 총 3종이다.

**Table 1.** List of plant taxa occurred in the glacial retreated area near Potter Cove

Taxa
Lichens
<i>Caloplaca</i> sp.
Crustose sp.
Mosses
<i>Pohlia</i> sp.
<i>Bryum</i> sp.
<i>Bryum pseudotriquetrum</i> (Hedw.) C.F. Gaertn. et al.
<i>Ditrichum</i> sp.
<i>Polytrichastrum alpinum</i> (Hedw.) G. L. Sm.
<i>Sanionia uncinata</i> (Hedw.) Loeske
Algae
<i>Prasiola crispa</i> (Ligtf.) Menegh.
Flowering plants
<i>Colobanthus quitensis</i> (Kunth) Bartl.
<i>Deschampsia antarctica</i> Desv.

나. 빙하후퇴 지역 식생의 특징

전체 조사구역에서 식생의 키, 전체 식피율 및 출현종수의 평균값은 각각 0.8 cm, 18.6% 및 1.9종으로 조사되어 식생의 밀도가 매우 낮은 것으로 나타났다. 전체 식생 중에서 식피율이 가장 높은 분류군은 이끼류(14.7%)이었고 가장 낮은 분류군은 현화식물(0.1%)이었다. 또한 현화식물 식피율의 변이계수(표준편차를 평균으로 나눈 값을 백분율로 나타낸 것)는 566.3%로 확인되어 다른 분류군에 비해서 공간적 이질성이 큰 것으로 확인되었다. 전체 식생 중에서 종밀도가 가장 높은 분류군은 이끼류(1.0)이었고 가장 낮은 분류군은 현화식물(0.0)이었다. 또한 현화식물 종밀도의 변이계수는 678.2%로 확인되어 다른 분류군에 비해서 공간적 이질성이 큰 것으로 확인되었다(Table 2).

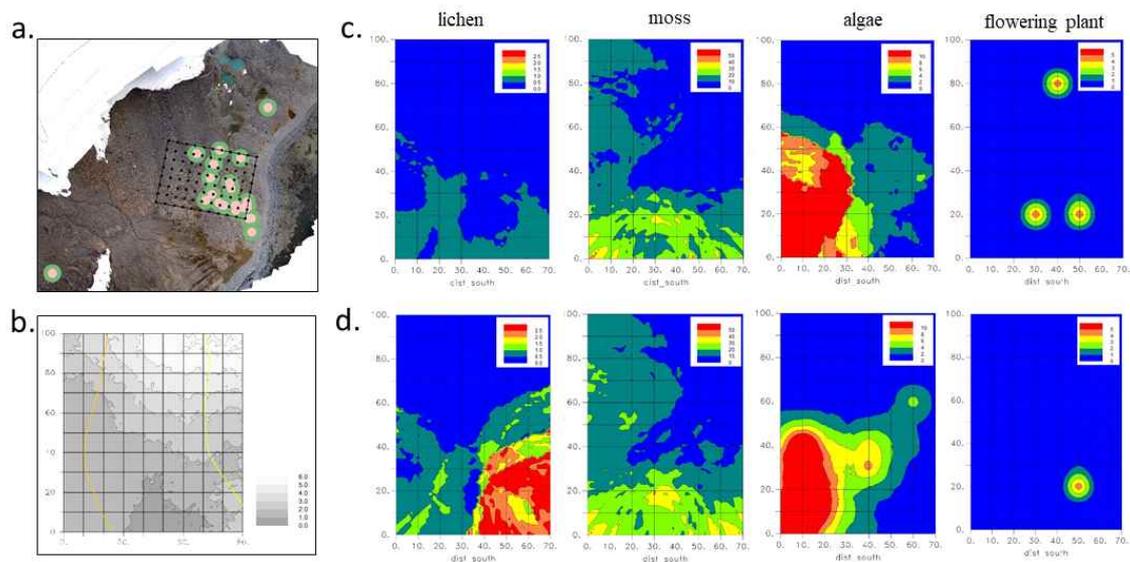
**Table 2.** Vegetation height, coverage and species density of the survey site

Component	average $\pm$ standard deviation	Coefficient of variation (%)
hight of vegetation (cm)	0.8 $\pm$ 0.6	74.3
total coverage (%)	18.6 $\pm$ 23.0	121.9
lichens coverage (%)	1.1 $\pm$ 3.6	322.9
mosses coverage (%)	14.7 $\pm$ 21.8	148.6
algal coverage (%)	3.3 $\pm$ 8.5	258.4
flowering plant coverage (%)	0.1 $\pm$ 0.5	566.3
total species density (No./0.25 m <sup>2</sup> )	1.9 $\pm$ 1.1	55.9
lichen species density (No./0.25 m <sup>2</sup> )	0.5 $\pm$ 0.6	121.5
moss species density (No./0.25 m <sup>2</sup> )	1.0 $\pm$ 0.5	55.9
algal species density (No./0.25 m <sup>2</sup> )	0.4 $\pm$ 0.5	121.0
flowering plant species density (No./0.25 m <sup>2</sup> )	0.0 $\pm$ 0.1	678.2

전체 방형구에서 지의류, 이끼류, 조류 및 현화식물의 중요치 백분율은 각각 23.1%, 74.0%, 25.4% 및 2.9%로 이끼류의 우점도가 가장 높았으며, 현화식물의 우점도가 가장 낮았다(Table 3). 상대적으로 중요치 백분율이 높은 종은 이끼류인 *Bryum* sp., 지의류인 *Caloplaca* sp., 조류인 *Prasiola crispa*로 확인되었는데, 이들 종은 인접한 해안지역에 넓게 분포하고 있다. 이 지역 식생의 대부분이 갈매기류의 덩지에 유입되고 있음에도 불구하고, 덩지재료로 유입된 종보다는 주변지역에 우점하는 종들이 넓게 분포하고 있다. 따라서 이들 종의 정착에 영향을 끼치는 환경요인과의 상관관계 그리고 이들 분류군의 개체군이 이 지역에서 유지될 수 있는지 가능성과 이를 위한 조건은 무엇인지 파악할 필요가 있다.

**Table 3.** Importance ratio(%) of taxa in the survey area

Species	Taxa	frequency	total coverage	relative frequency	relative coverage	Ratio(%)
<i>Caloplaca</i> sp.	lichens	41.0	31.2	28.9	12.3	20.6
Crustose sp.	lichens	5.0	3.5	3.5	1.4	2.5
<i>Pohlia</i> sp.	mosses	1.0	2.0	0.7	0.8	0.7
<i>Bryum</i> sp.	mosses	72.0	185.2	50.7	73.1	61.9
<i>Bryum pseudotriquetrum</i>	mosses	2.0	17.0	1.4	6.7	4.1
<i>Ditrichum</i> sp.	mosses	4.0	2.5	2.8	1.0	1.9
<i>Polytrichastrum alpinum</i>	mosses	1.0	1.0	0.7	0.4	0.5
<i>Sanionia uncinata</i>	mosses	10.0	7.0	7.0	2.8	4.9
<i>Prasiola crispa</i>	algae	38.0	61.1	26.8	24.1	25.4
<i>Colobanthus quitensis</i>	flowering plants	2.0	1.0	1.4	0.4	0.9
<i>Deschampsia antarctica</i>	Flowering plants	4.0	3.0	2.8	1.2	2.0
<b>Lichens</b>		<b>46</b>	<b>34.7</b>	<b>32.4</b>	<b>13.7</b>	<b>23.1</b>
<b>Mosses</b>		<b>90.0</b>	<b>214.7</b>	<b>63.3</b>	<b>84.8</b>	<b>74.0</b>
<b>Algae</b>		<b>38.0</b>	<b>61.1</b>	<b>26.8</b>	<b>24.1</b>	<b>25.4</b>
<b>Flowering plants</b>		<b>6.0</b>	<b>4.0</b>	<b>4.2</b>	<b>1.6</b>	<b>2.9</b>
<b>Total</b>		<b>142.0</b>	<b>253.4</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>	<b>100.0</b>



**Figure 4.** A result of comparing coverage data of vegetation with a permanent quadrat at the exposed area by Fourcade Glacier retreat. a. Kelp gull nests and a permanent quadrat (100 m x 90 m) b. micro-topography of the quadrat, c. vegetation coverages in 2014 d. vegetation coverages in 2018.

## 제 9 절 빙하후퇴지역 미소생물 군집 조성 변화

### Changes in the community structure of Microorganisms in the Glacier Retreat, Barton Peninsula

#### 1. 서론

빙하 후퇴지역에 조류가 유입하면서 함께 이식되고 있는 미소생물들이 식생으로 인해 천이가 가속화되는지 여부를 확인하기 위한 지표생물로 원생생물(섬모충류)을 선정하였다. 이 지역의 예상 천이 과정은 ① 빙하가 후퇴하면서 드러나는 나대지에 남방큰재갈매기(Kelp gull; *Larus dominicanus*) 둥지 증가, ② 둥지를 만들기 위해 물고 온 이끼, 지의류, 해조류와 함께 식물, 미소생물(미생물, 원생생물, 미소무척추동물 등) 유입, ③ 토양에 지속적 유기물 공급으로 토양 환경이 변하고 서식 생물 군집구조에 영향, ④ 토양, 식생, 미소생물, 갈매기 등 생태 구성요소 간의 상호작용으로 천이 가속화로 추정된다. 이 중 조류 둥지의 섬모충류 군집이 둥지 연차별 차이가 있는지와 인근 지역의 군집과 다른 양상을 보이는지를 확인하기 위해 형태분석과 유전정보 분석을 진행하였다. 1 ~ 5년차 새 둥지들에 서식하는 미소생물 군집을 분석하고 군집 안정화가 일어나는 기간과 연차별 둥지 간 군집 유사도, 바톤반도 타 지역 군집과의 차이점 등을 통해 종 이동, 정착, 도태 등을 기록하고 미소생물 군집 안정화(천이과정)에 미치는 주요 환경요인을 파악하고자 하였다.

#### 2. 재료 및 방법

##### 가. 미소생물 샘플링

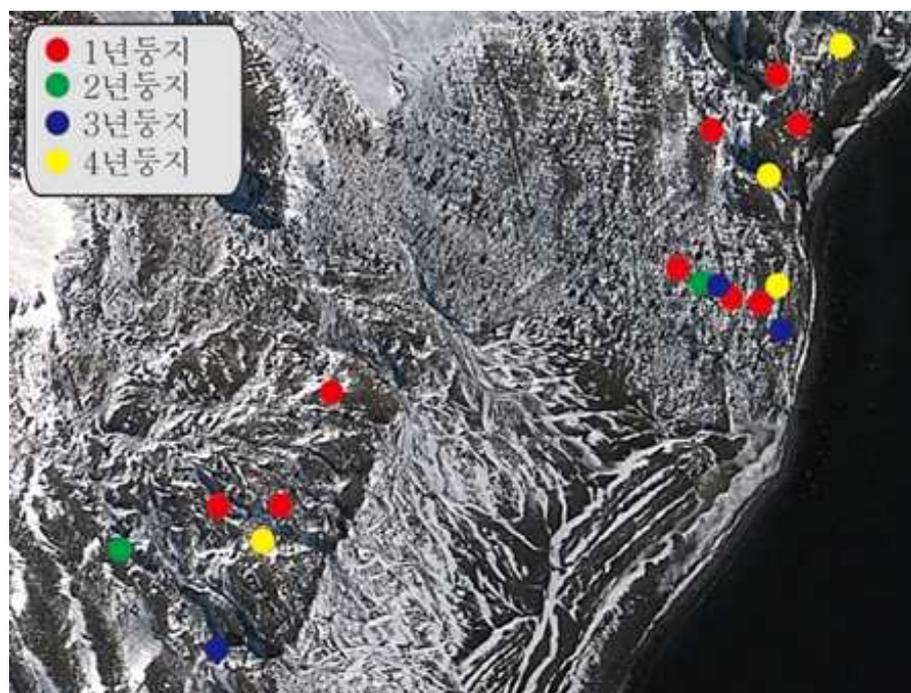
1, 2, 3, 4년 된 둥지들 바로 밑에 있는 토양과 둥지 부스러기를 채집한 후 반은 배양하고 남은 NGS유전정보 분석을 위해 냉동보관 하였다. 대조군으로 타 지역 둥지샘플 5개를 추가 채집하였다 (Table 1, 2, Figure 1).

Table 1. 빙하 후퇴지역의 연차별 둥지 확보 시료.

	1년차 둥지	2년차 둥지	3년차 둥지	4년차 둥지	5년차 둥지	나대지
샘플 수	3 개	3 개	1 개	2 개	2개	2개

**Table 2.** Comparison group with Southern kelp gull yearly nest used for NGS Analysis.

date	Sample name	비고	date	Sample name	비고
2016.01.14	kel동지_kel동지		2016.01.15	kel12_빙하후퇴지역	1년동지
2016.01.14	kel동지_kel동지		2016.01.15	kel15_빙하후퇴지역	1년동지
2016.01.14	kel동지_kel동지		2016.01.15	kel10_빙하후퇴지역	2년동지
2016.01.14	위버반도_위버반도		2016.01.15	kel16_빙하후퇴지역	2년동지
2016.01.15	kel08_빙하후퇴지역	1년동지	2016.01.15	kel09_빙하후퇴지역	3년동지
2016.01.15	kel13_빙하후퇴지역	1년동지	2016.01.15	kel07_빙하후퇴지역	3년동지
2016.01.15	kel04_빙하후퇴지역	4년동지	2016.01.15	kel05_빙하후퇴지역	1년동지
2016.01.15	kel02_빙하후퇴지역	1년동지	2016.01.15	kel03_빙하후퇴지역	1년동지
2016.01.15	kel17_빙하후퇴지역	3년동지	2016.01.15	kel01_빙하후퇴지역	4년동지
2016.01.15	kel18_빙하후퇴지역	1년동지	2017.12.28	필데스 해안	
2016.01.15	kel19_빙하후퇴지역	1년동지	2017.12.29	아들레이 섬	
2016.01.15	kel14_빙하후퇴지역	4년동지	2017.12.30	백두봉	
2016.01.15	kel11_빙하후퇴지역	1년동지	2018.01.04	CZO	
2016.01.15	kel06_빙하후퇴지역	4년동지	2018.01.04	습지대	



**Figure 1.** Sampling location of Kelp gull nest and soil per yearly nest.

### 3. 결과 및 토의

조류 동지의 섬모충류 군집이 동지 연차별 차이가 있는지와 인근 지역의 군집과 다른 양상을 보이는지를 확인하기 위해 1~4년 연차별 동지 22개, 비교 타 지역 샘플 5개에서 NGS를 통해 유전정보를 비교 분석하였다 (Figure 2).

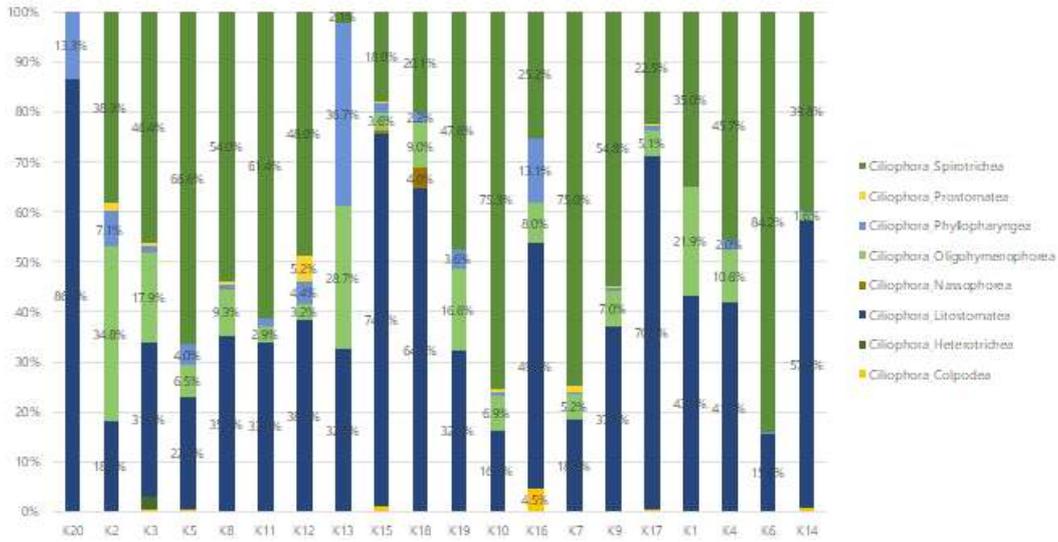


Figure 2. Comparison of cluster pattern of ciliate community per location

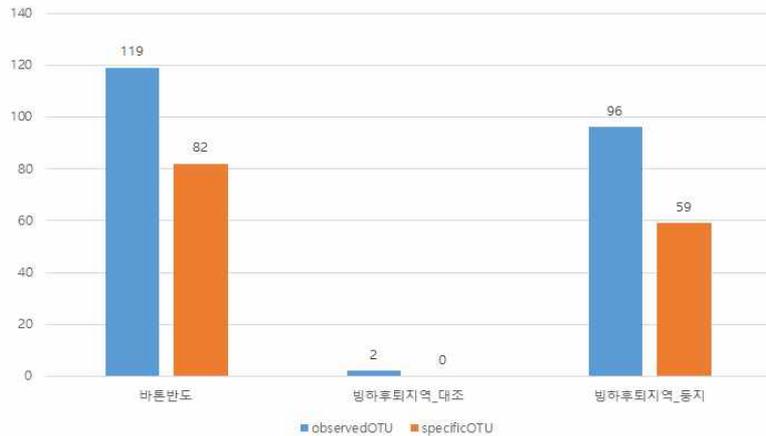


Figure 3. The number of species OTUs in the glacial retreat area was significantly higher than in the control area and similar to the well-developed Baton Peninsula.

대조군(빙하후퇴 바로 옆에 동지가 없는 나대지)에 비해 동지는 섬모충류들이 다량 서식함을 확인하였다 (Figure 3, 4). 특히 1년차 동지는 2, 3, 4년차 동지보다 높은 종다양성을 보일 뿐 아니라 군집 양상이 바톤반도 지역과 비슷하게 나타났다. 이는 1년차 동지의 종다양성이 빙하후퇴지역에서 자연발생한 것이 아니라 1년차 동지 형성에 의해 일어났으며 초기 유입에 의한 다양성은 년차가 지날수록 자연 도태되며 일부 우점종들만 남는 것으로 추측된다 (Figure 5).

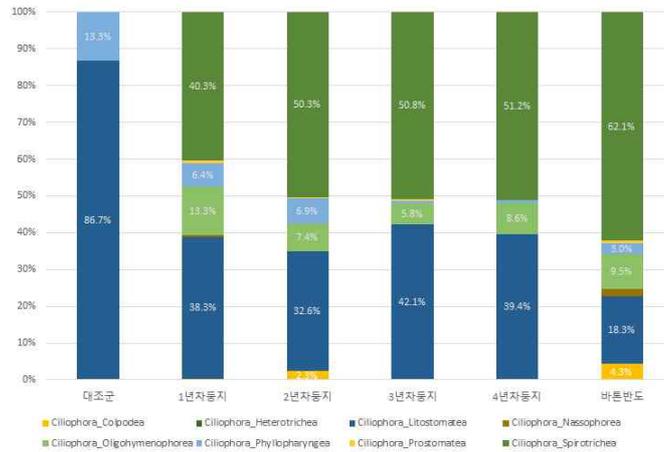


Figure 4. Comparison of population diversity of yearly nest

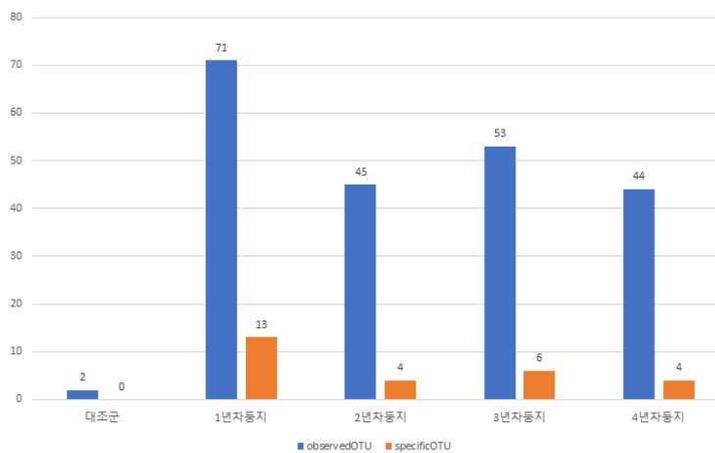


Figure 5. The number of ciliate OTUs living in yearly nests had the highest number of first-year nests and decreased as the years went up.

섬모충 그룹 중 Phyllopharyngea와 Spirotrichea가 경쟁관계 양상을 보이는 데 기존에 이들의 생태관계에 대한 문헌 조사가 필요하며 아니면 빙하후퇴 지역의 환경 요인에 의한 현상인지도 확인이 필요하며 5년차 이상의 둥지와 나대지의 추가 분석을 통해 이 같은 가설을 확인할 예정이다. 이 같은 군집 양상이 5년 10년 후에 어떻게 변화할 것인지, 적응하는 종들과 도태되는 종 사이에 환경 적응력 차이 때문인지, 정착 종들이 빙하후퇴 지역 나대지 토양 생태계에 미치는 영향을 밝히는 것이 필요하다. 또한 유입경로 확인을 위해 조류(켈프걸)의 원래 서식지로 추정되는 바톤반도 인근 후보지역을 방문해 둥지와 토양시료를 추가 확보하여 1차년도 둥지 섬모충류 군집과 비교가 필요하다.

# 제 10 절 빙하 후퇴에 따른 식생-미생물-토양 간 종합관계 분석

## Changes in vegetation-microbes-soil relationship along the deglaciation chronosequence

### 1. 서론

현재 남극반도 내에 형성된 육상 노출지와 빙권 간의 경계는 과거 최후 빙하기 이래 계속된 빙하 후퇴와 전진의 반복이 만들어 낸 결과물이다(Cofaigh *et al.*, 2014). 최근에는 지구 온난화의 여파로 인해 남극반도에 위치한 많은 육상 빙하들이 녹고 후퇴하면서, 기존에 빙하로 덮혀 있던 지면들이 새롭게 노출되고 있다(Cook *et al.*, 2005; Rignot *et al.*, 2008). 빙하 후퇴에 따른 육상 생태계의 천이 및 토양 발달과정은 북반구를 중심으로 많은 연구가 이루어진 반면, 남반구에서는 상대적으로 연구가 덜 이루어졌으며 특히 남극에서의 연구는 매우 제한적이었다(Matthews, 1992). 따라서, 본 연구에서는 최근 급격하게 빙하 후퇴가 이루어진 킹조지섬의 포케이드 빙하 후퇴지역을 대상으로 빙하 후퇴에 따른 토양 특성 변화와 미생물 군집의 천이 과정을 살펴보고, 초기 천이 과정에서 식생-미생물-토양 간에 어느 정도의 연관성이 있는지 조사하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 가. 포케이드 빙하후퇴지역 토양 시료 채취

킹조지섬 바톤반도의 서쪽 해안가에 자리한 포케이드 빙하 후퇴지역(62°13'33.78" S, 58°42'58.93" W)을 대상으로 10 m x 10 m 간격으로 총 93개 지점에서 표층 토양(0 - 5 cm 깊이)을 채취하였다. 채취된 토양 시료는 냉동상태로 한국으로 운송 후 극지연구소 실험실 내 -20℃에서 보관하였다.

#### 나. 토양의 물리화학적 특성 분석

건조시킨 토양 샘플들을 대상으로 총 탄소, 총 질소, 유기탄소 농도, pH, 전기전도도, 토성 분석을 수행하였다. 토양 pH와 전기전도도는 각각 토양, 증류수를 1 : 2 (w/v) 비율로 혼합한 후 측정하며, TC, TN 함량은 950℃에서 연소 후 원소분석기로 측정하였다. 유기탄소 농도는 토양에 1 M HCl (토양 : HCl = 1 : 20)을 넣고, 48시간 정치한 후 증류수로 행귀 건조, 분쇄 후 원소분석기를 통해 분석하였으며, 토성의 경우 유기물 분해 후 모래는 wet-sieving으로 분리하고, 미사와 점토는 피펫법을 통해 함량 계산하였다.

#### 다. 토양 DNA추출, PCR, DNA 염기서열 분석

토양 DNA는 MoBio Soil DNA isolation kit를 이용하여 추출하고 picogreen 시약으로 추출된 DNA 농도를 측정하였다. 세균 군집의 경우 16S rRNA V4-V5 region (515F/926R primer set), 진균 군집의 경우 ITS2 region(ITS86-F/ITS4-R)을 타겟으로 하여 PCR 증폭 후 sequencing library 제작, MiSeq 2x300bp amplicon sequencing (Integrated Microbiome Resource, Canada)을 차례대로 수행하였다.

#### 라. 미생물 군집 및 통계분석

NGS 기반 미생물 분석 툴인 mothur v.1.40.5를 활용한 미생물 군집 분석을 수행하였다(Schloss *et al.*, 2009). Raw data를 대상으로 quality-trimming(Sickle)과 error correction(BayeHammer)을 이용한 초기 quality trimming 과정을 수행하고, PANDAseq을 이용하여 paired-end merging 수행하였다. 16S 서열의 경우 SILVA SSU reference DB를 기준으로 alignment를 수행하고, ITS2 서열의 경우 alignment 없이 진행하였고, de novo UCHIME 알고리즘을 이용하여 chimera 제거 후 average neighbor 방식으로 Operational taxonomic unit (OTU) clustering을 수행하였다. 최종적으로 얻어진 high-quality 서열들을 대상으로 16S의 경우 EzBioCloud DB(Yoon *et al.*, 2017), ITS2의 경우 UNITE DB로 taxonomic classification 수행하였다. 토양 샘플 간 군집 구성 비교를 위해 OTU matrix로부터 Bray-Curtis dissimilarity를 계산하고 다변량 가설검증 기법의 하나인 PERMANOVA로 유의성을 검증하고, NMDS로 샘플간 미생물 군집 구성의 차이를 시각적으로 나타내었다. 표 및 그래프는 모두 R v3.5.1 (www.r-project.org)에서 수행되었다.

### 3. 결과 및 토의

포케이드 육상 빙하(marine-terminating glacier)의 후퇴(최근 50년 이내로 추정)에 따른 토양의 물리화학적 특성 및 미생물 군집 변화 양상을 확인한 결과 빙하 후퇴가 진행됨에 따라 토양 pH가 감소하고 유기물/총질소 함량이 증가하는 경향을 보였으며, 세균과 진균 그룹 모두 빙하후퇴 시기에 따른 군집 천이가 진행되고 있음을 확인하였다(Figure 1). 빙하 후퇴가 진행됨에 따라 토양 pH가 감소하는 현상은 기존의 연구들에서 널리 알려진 사항이며(Matthews, 1992), 시간에 따른 토양 유기물 및 총 질소의 양 증가 또한 북반구에서 주로 수행된 많은 빙하후퇴지역 연구에서 보고된 바 있다(Bradley *et al.*, 2014). 하지만, 북반구에 비해 남반구 특히 남극 육상지역에서 빙하후퇴지역 토양 발달 및 생물 천이 연구가 매우 제한적으로 이루어졌음을 감안하면 의미있는 결과라 할 만하

다. 빙하 후퇴 후반기인 19-26 stage 구간에서 유기물과 총 질소의 양이 이질적으로 퍼져 있는 패턴은 초기 정착한 식생 및 biological soil crust들이 산발적으로 퍼져있는 분포패턴에 기인한 것이라 추측할 수 있다. 빙하 후퇴에 따른 토양 pH가 linear하게 감소한 것은 샘플링이 수행된 사이트가 빙하 용해수나 지형변화와 같은 periglacial 교란이 덜 한 지역을 대상으로 했기 때문일 것으로 판단된다.

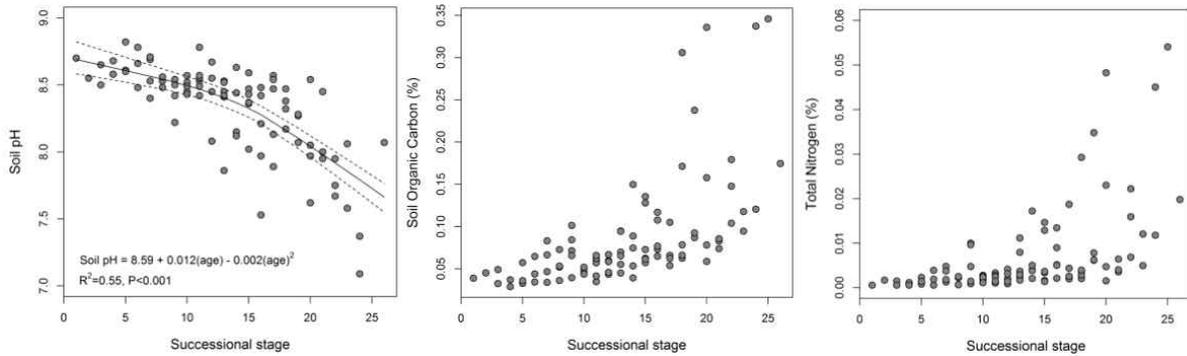


Figure 1. Shifts in soil geochemical properties along the deglaciation chronosequence.

빙하 후퇴에 따른 미생물 군집의 변화과정을 살펴본 결과 세균의 경우 빙하 후퇴에 기인한 토양 특성 변화(예, 토양 pH 감소)가 군집구조 변화와 밀접한 연관성이 있는 것으로 나타난 반면, 진균 군집은 토양 특성 변화에 의한 영향이 상대적으로 적게 나타났으며 이는 빙하 후퇴지역으로의 진균의 이동과 성공적인 정착에 있어 랜덤에 의한 효과(stochastic process) 또한 중요한 요소임을 말해주는 결과이다(Figure 2). 세균 군집과 토양 특성 변화 간의 밀접한 연관성은 2차 천이 과정에서도 보고된 바 있으며(Cline and Zak, 2015), 진균 군집의 assembly 과정에 있어 stochastic process의 중요성 또한 다른 빙하후퇴지역 미생물 천이 연구에서 보고된 바 있다(Schmidt *et al.*, 2014).

다변량 변이 분할(variation partitioning) 분석 결과 식생과 미생물 간 연관성은 상대적으로 덜한 것으로 나타났는데(Figure 3), 이는 해당 지역이 급격한 빙하 후퇴가 이루어진 지 50년 이내의 지역이라 남극의 주요 식생인 지의류, 선태류가 안정적으로 정착하기에는 짧은 시간이었음을 간접적으로 보여준다. 또한, 초기 정착 식생이나 biological soil crust들은 눈에 보이지 않을 만큼 작은 형태로 존재하거나 혹은 빙퇴석 사이사이의 좁은 공간(rock pocket)에 패치 형태로 분포하여 현장 조사 시 간과되었을 가능성이 크다.

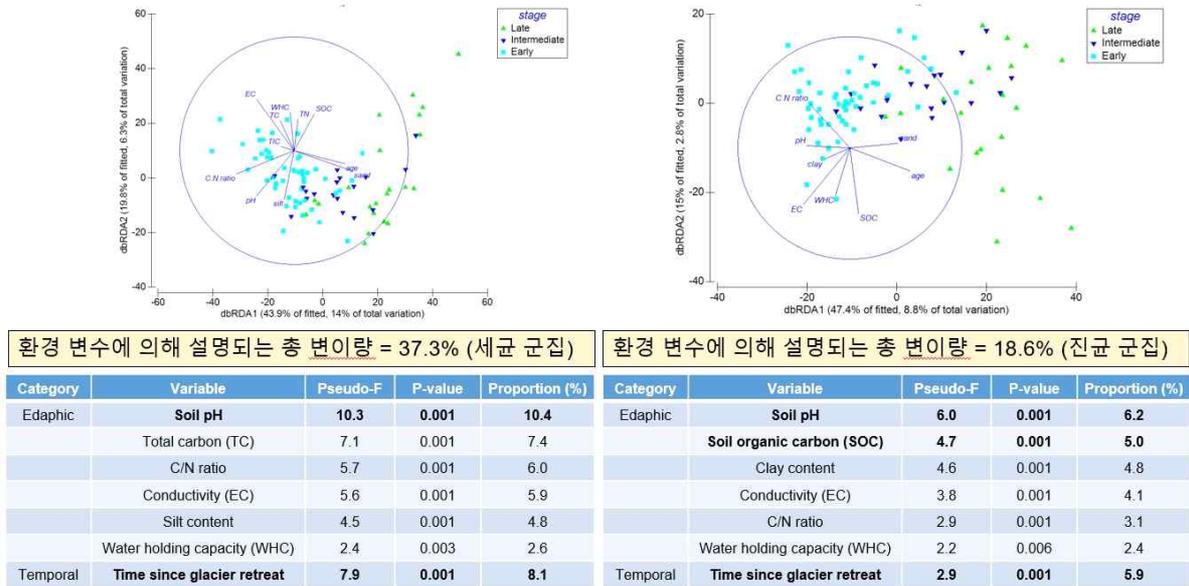


Figure 2. DistLM results and db-RDA plots showing the extent of relationship between microbial community variation and environmental variables in the glacier foreland. Bacterial community results are represented in the left panel and fungal community results are in the right panel.

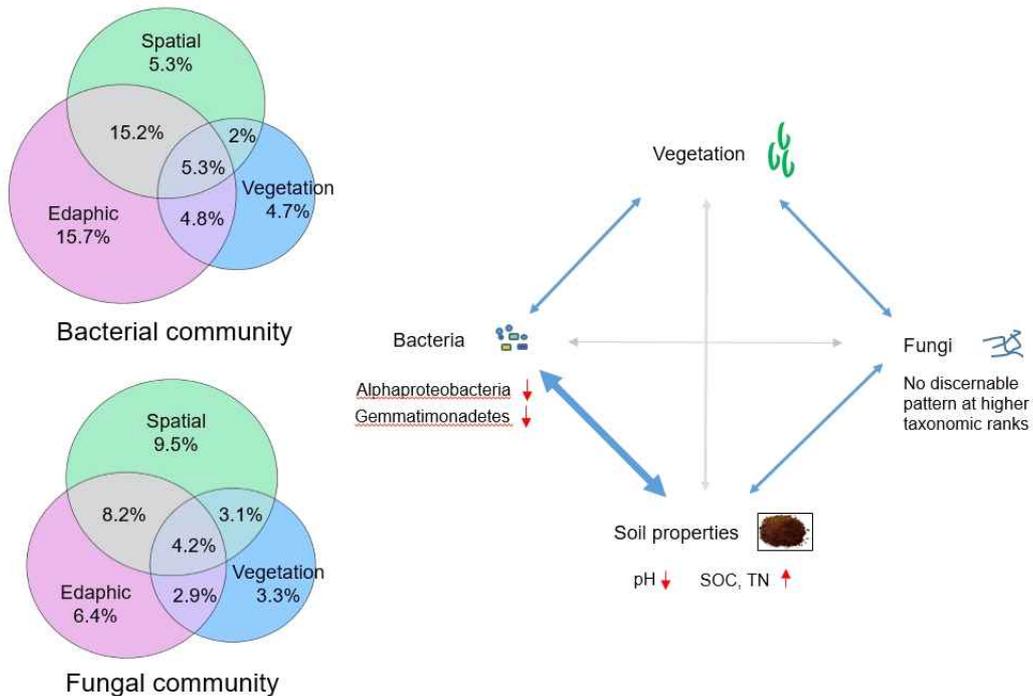
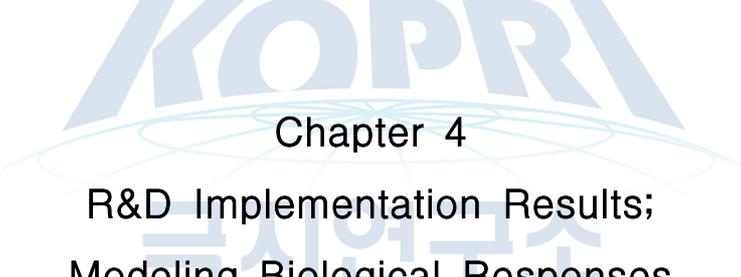


Figure 3. Variation partitioning results showing the microbial community variability explained by biotic/abiotic variables (left panel) and the schematic diagram of vegetation–microbes–soil property relationship (right panel).

종합하면 최근 50년 내에 이루어진 포케이드 빙하의 급격한 후퇴로 인해 북반구 빙하 후퇴지역 연구에서 보고된 현상과 유사한 토양 특성 변화(토양 pH 감소, 유기물 증가 등)가 관찰되었고, 시간에 따른 세균 및 진균 군집의 천이 과정도 확인하였다. 세균 군집의 변화는 빙하 후퇴에 기인한 토양 특성 변화와 밀접한 연관성이 있었으며, 진균 군집은 stochastic process가 군집 구성에 더 큰 역할을 하였다. 사이트 간 거리 및 토양 특성에 비해 식생과 미생물 군집 간의 연관성은 크지 않았는데, 이는 연구가 수행된 지역의 빙하 후퇴시기가 육상(aboveground)과 땅 속(belowground) 생물 간의 천이 과정이 연결되기에는 아직 짧은 시간임을 말해준다.



제 4 장  
연구개발 결과  
생물반응 모델링 기술 개발



Chapter 4  
R&D Implementation Results;  
Modeling Biological Responses

# 제 1 절 남극좁새풀과 남극개미자리의 광합성량 추정 모델링

## Modeling on the estimation of electron transfer rates of *Deschampsia antarctica* and *Colobanthus quitensis*

### 1. 서론

생태계는 미생물, 식물, 동물, 기후, 지형, 지화학 등 매우 다양한 생물학적, 비생물학적(abiotic) 구성요소들이 서로 상호작용하면서 동적 평형(dynamic equilibrium)을 이루고 있다(Pennekamp et al. 2018). 현재 진행 중인 기후변화는 생태계에 지속적인 자극을 가하고, 변화를 야기한다(Giardina et al. 2014). 기후변화라는 자극에 대해 생태계는 항상성을 유지하다가(resistance), 더 이상 버틸 수 없는 시점에서 동적평형상태가 깨지게 되고, 그 후 매우 오랜 시간 동안 점진적으로 회복하는 상태(resilience)에 이르게 된다(Resistance-Resilience theory; De Vries et al. 2012). 이와 같은 일련의 주기는 보통 수십 년 단위로 진행되기 때문에, 기후변화에 대한 생태계 반응을 제대로 이해하기 위해서는 Long-Term Ecological Research (LTER)이 필수적이다(Walker et al. 2020).

세종기지 인근을 포함한 남극 연안 육상생태계는 최근 50년 동안 급격한 온난화를 경험하였다(Vaughan et al. 2003). 급격한 온도 상승은 얼었던 토양을 녹이면서, 생태계에 대량의 유기질소를 공급함으로써 식물이 성장하기 좋은 조건이 조성되었다(Hill et al. 2011). 대표적으로, 현화식물 중 하나인 남극좁새풀(*Deschampsia antarctica*)는 이 기간 동안 서식처를 가장 폭발적으로 확장시켜 왔다.

본 연구에서는 환경변화에 따른 생태계 반응을 세종기지 인근에 관찰하고자 한다. 따라서, 온도 변화에 매우 민감하게 반응하고, 기지 인근에서 쉽게 관찰할 수 있는 남극좁새풀을 대상종(species of interest)으로 선정하였다. 또한, 남극좁새풀의 반응을 장기적으로 추적관찰하기 위해 이미지 촬영 기반의 비파과적이고, 지속가능한 연구방법을 도입하였다. 현 단계에서는 남극좁새풀 이미지 픽셀과 생체량간의 관계식을 구하고자 한다. 이는 추후 이미지 기반의 남극좁새풀 생체량 변화, 환경변수와의 연관성을 살펴보는 데 기초가 될 것이다.

### 2. 재료 및 방법

가. 남극개미자리 광합성량 추정을 위한 환경 데이터 획득

이미지 기반 남극좁새풀 생체량 추정 연구에 앞서, 환경변수(광량, 수분 등)가 광합성

량에 미치는 영향을 남극개미자리, 남극좁새풀을 대상으로 연구하였다. 식물 개체에 장착된 MONI(1회/시간), HOBO(2회/시간)을 이용하여 2015년 1월부터 3월까지 1) 기온(Temp), 2) 자연광에 반응하는 형광 값(F), 3) 인위적 빛에 대한 반응 형광 값(F'm), 4) 태양광량(PAR), 5) 습도(HR), 6) 잎 표면 온도(LeafT), 7) 토양 수분량(Soil-Moist)을 측정하였다. 측정대상은 자연상태에 노출된(OS) 남극개미자리 4 개체, 온도를 인위적으로 상승시킨 open top chamber (OTC) 안에서 키운 4 개체로 하였다. 남극좁새풀의 경우 2013년 12월 초부터 2014년 3월 초까지 측정된 데이터를 이용하였다. 남극개미자리와 마찬가지로 MONI(1회/시간), HOBO(2회/시간)을 이용하여 환경 변수 값을 측정하였다. OS 2개체, OTC 2개체 - 총 4개체에 대한 측정값을 이용하였다. 모든 데이터는 칠레 Leon Bravo 교수로부터 제공받았다. 확보한 데이터의 관측 노이즈를 없애기 위해, 데이터 품질 관리를 수행하였다. 최소 한 개체에서 한 번 이상 환경 변수 값이 없으면 해당 데이터 record는 분석에서 제외되었다. 항상 양(positive)의 값을 가져야 하는 변수에서 음(negative value)이 나오는 경우도 분석에서 제외되었다.

#### 나. 환경변수와 광합성량 간의 회귀분석

센서에서 측정된 형광 값을 이용하여 광합성량(electron transfer rate, hereafter ETR)을 계산하였다. 이를 종속변수로 하고, PAR-MONI, Temp-MONI, Temp-HOBO, HR, LeafT, Soil-Moist를 독립변수로 하여 회귀분석을 수행하였다. 각 독립변수가 종속변수에 얼마나 영향을 주는지 알아보기 위해, 7개 종속변수의 모든 조합( ${}^7C_2$ 부터  ${}^7C_7$ 까지 총 120개 조합)에 대해 개별적으로 회귀분석을 수행하여 결정계수( $R^2$ )를 계산하고 비교하였다. 또한 회귀식 개선을 위해 독립변수-종속변수 값을 무작위 선택하거나(bootstrap 방식), 무작위 제거하여(jackknife 방식) 반복 계산하고, 결정계수가 최대가 되는 데이터셋을 결정하였다. 이들 자료를 이용하여 최종적으로 남극개미자리, 남극좁새풀의 환경변수-광합성량 간 회귀모델을 결정하였다.

#### 다. 이미지 픽셀과 생체량간의 관계식 계산

이미지 내 식물체를 구성하는 픽셀수가 식물 생체량을 대신할 수 있는지를 우선 실험실 환경에서 테스트하였다. 크기가 다양한 30개체의 남극개미자리 화분을 준비하였다. 각 화분을 위에서 내려 보며(top view) 계속 피사체와의 거리를 바꿔가면서 15장씩 촬영하였다. 이때 사진의 원근감 보정을 위해 화분 위에 100원짜리 동전을 놓고 식물체와 함께 촬영하였다. 촬영된 사진은 Python Jupyter로 불러들여 작업하였다. 각 이미지를 RGB (Red Green Blue) 값으로 구성된 matrix로 변환하고, 개별 픽셀별로 R, B값보다 G값이

큰 픽셀을 선별하였다. 식물체를 구성하는 총 픽셀수를 100원짜리 동전의 지름으로 원근감을 보정하였다. 각 개체별로 15장의 이미지에 대해 보정된 이미지 픽셀 수에 대한 quartile값을 계산하고, lower bound (quartile 1 - 1.5\*interquartile range)에서 upper bound (quartile 3 + 1.5\*interquartile range) 안에 드는 이미지의 픽셀 수만 선별하여, 그 평균값을 해당 개체의 보정 픽셀수로 하였다. 동시에, 남극개미자리 30개체에 대한 건중량(dry weight, DW)과 생중량(fresh weight, FW)을 측정하였다. 그리고, 보정 픽셀 수와 생체량간의 선형회귀분석을 수행하였다. 남극곰새풀은 2019년 1 ~ 2월 킹조지섬 바톤반도 현장에 서식하는 30개체를 선정하여 남극개미자리와 마찬가지로의 방식으로 이미지와 생체량(DW와 FW)을 확보하였다. 실험실 환경에서 촬영된 남극개미자리 사진과 달리, 현장에서 촬영된 남극곰새풀의 경우 사진 속에 노란색의 마른 잎이나 주변의 돌, 자갈 등 다양한 종류의 잡티(noise)가 있었다. 따라서, 남극개미자리에서 적용한 RGB 처리 조건 ( $G > R, B$ ) 적용이 불가능하였다. 그래서, Python cv2 모듈을 이용하여 사진 속 남극곰새풀 개체를 잎의 신선도(초록, 노란 잎 등)와 관계없이 옥색(cyan)으로 변환시켰다. 이후, 다수의 남극곰새풀 이미지를 수작업 하여, 사진 배경에 있는 다양한 노이즈(돌, 자갈, 흙 등)를 최소화 할 수 있는 조건을 찾았다: 1) ( $R, B < G$ ), 2)  $|G-B| < 50$ , 3) ( $G > 100, B > 100$ ). 모든 남극곰새풀 이미지 픽셀 수 계산에 색 치환(Python module cv2)과 새로운 RGB 조건이 적용되었다. 참고로, 남극곰새풀의 경우 Euro dime을 이용하여 이미지 원근감을 보정하였다.

## 극지연구소

### 3. 결과 및 토의

가. 온도가 남극개미자리의 광합성량에 가장 큰 영향

칠레 Dr. Leon이 제공한 센서 측정값을 이용하였다. 남극개미자리 8개체(OS 4개체, OTC 4개체)에 설치된 MONI, HOBO로부터 2015년 1월부터 3월까지 측정된 데이터를 모델링에 이용하였다(Figure 1). 8개의 개별 데이터셋에 대해, 광합성량(ETR)을 종속변수로 하고, PAR-MONI, Temp-MONI, PAR-HOBO, Temp-HOBO, HR, LeafT, Soil-Moist를 독립변수로 하는 회귀분석을 수행하였다. 그 결과, 8개 데이터셋 모두 결정계수 값이 67 ~ 78%사이에 분포하였다. 이는, 남극개미자리의 광합성량 추정을 위해 MONI, HOBO로 측정되는 환경변수들이 중요한 변수가 될 수 있음을 의미한다.

다음으로, 광합성량 대비 7개의 독립변수의 중요도를 알아보기 위해서 모든 조합( ${}^7C_2$ 부터  ${}^7C_7$ 까지 총 120개 조합)에 대해서 종속변수를 ETR로 하여 결정계수를 계산하였다. 그리고, 동일한 데이터셋 안에서 두 개의 서로 다른 모델(독립변수가 1개만 다른 경우)간 결정계수의 차이를 계산하였다. 예를 들어 첫 번째 모델이  $ETR = a * Temp - MONI +$

$b \cdot HR + C \cdot PAR - MONI$ 이고, 두 번째 모델이  $ETR = A \cdot Temp - MONI + C \cdot PAR - MONI$ 라 가정하면, 두 모델의 결정계수의 차이는 결국 HR(상대습도)가 광합성량(ETR)에 미치는 영향을 의미하게 된다. 이런 식으로 모든 발생 가능한 모델에 대해, 결정계수의 차이를 계산하였다(Figure 2).

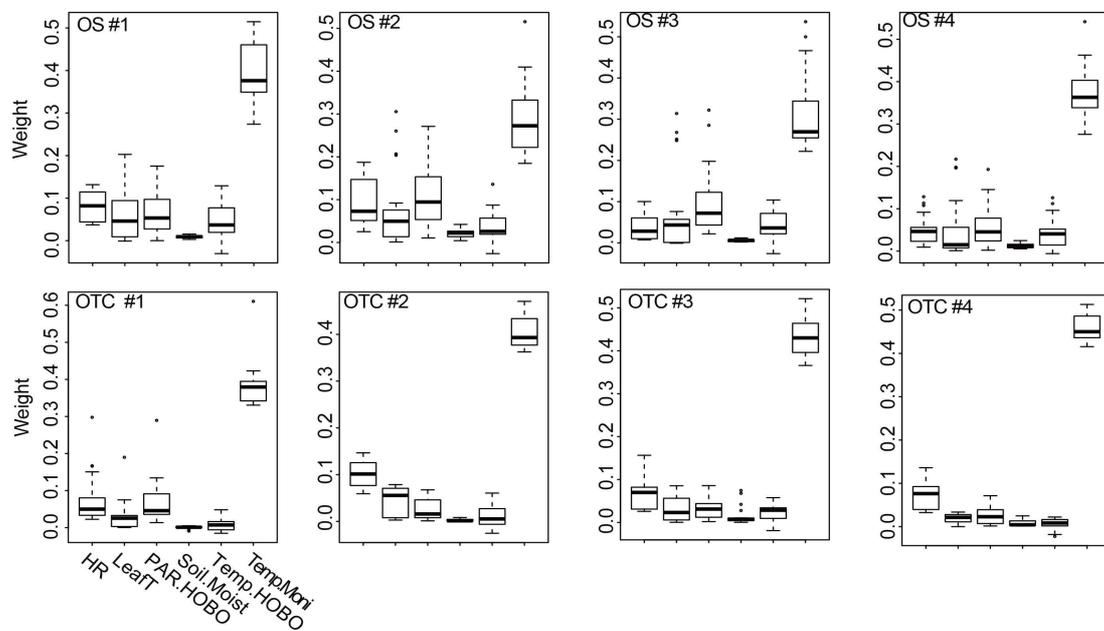
그 결과, 7개의 환경독립변수 중 Temp-MONI가 남극개미자리의 ETR을 결정하는데 가장 중요한 것으로 나타났다. 반면, 토양 수분량(Soil-Moist)은 ETR에 가장 적은 영향을 주는 것으로 나타났다. 나머지 환경변수(예: HR, LeafT, PAR, Temp-HOBO)는 8개 데이터셋에서 각각 다른 수치를 보이지만, 전반적으로 ETR에 중간 수준의 영향을 주는 것으로 나타났다.

나. 무작위 데이터 추출은 모델 회귀 정확도를 향상시킴

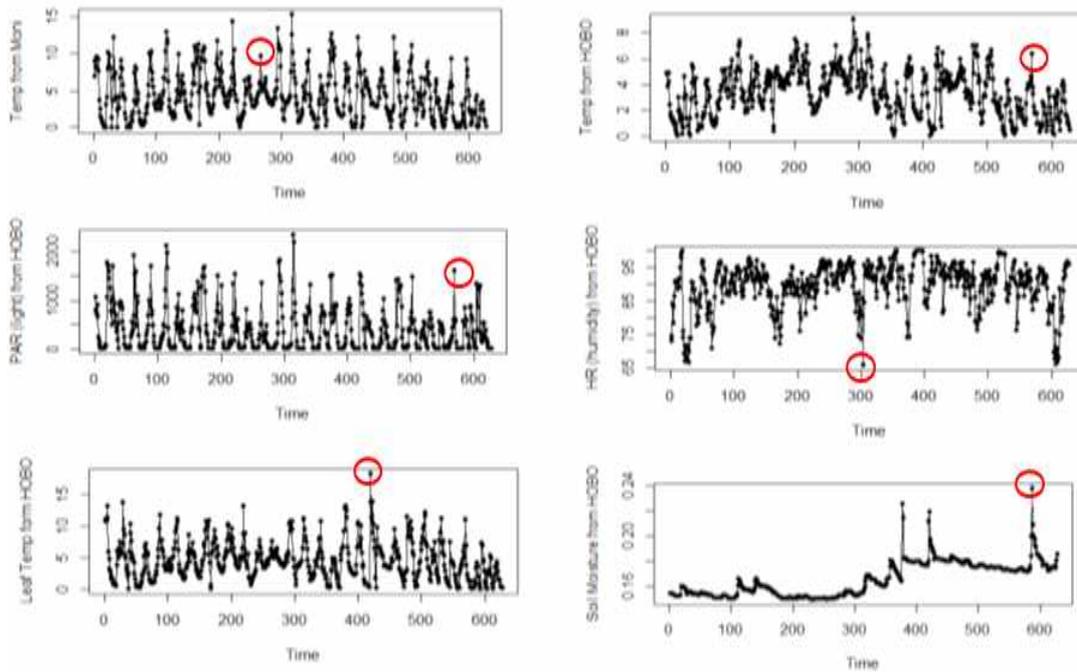
칠레 Leon Bravo 교수가 제공한 남극개미자리 회귀분석에서 OS #2가 광합성량(ETR)에 대한 환경독립변수들의 회귀가 가장 좋게 나타났다(결정계수=0.78). 따라서, OS #2를 대상으로 회귀 정확도를 더 향상시킬 여지가 있는지 실험하였다. 우선, in-house python script를 이용하여 누락된 값이 있거나 잘못 측정된 값(예: 항상 양의 값이 나와야 하는 변수가 음의 값으로 측정되거나, 그 반대의 경우)을 포함한 records를 삭제하였다. 그 결과, 1,150 records (2015년 1월 14일부터 3월 3일까지) 중 627개가 남겨졌다. 하지만, 이와 같은 데이터 품질관리를 수행한 뒤에도 여전히 눈에 띄는 예외 값들이 관찰되었다(Figure 3). 이들 값은 MONI와 HOBO 측정 오류일 수도 있고, 또는 급변하는 남극 날씨에 의해 측정된 이상치(outlier)일 수도 있다. 두 경우 회귀 모델의 정확도를 떨어 뜨리는 주요인이 되기에 분석에서 제외될 필요가 있다.

Date	Time	No.	1:OTC-Cq		1:PAR-Moni	1:Temp-Moni	1:Y (l)	1:ETR	OTC		OTC	OTC	OTC	OTC
			1:F	1:Fm'					PAR-HOBO	Temp-HOBO				
2015-01-14	14:18:49	47	44	85	561	11.7	0.48	113.6	896.2	7.87	68.9	8,817	0.1978	
2015-01-14	15:18:49	48	40	77	873	14.5	0.48	176.4	643.7	9,706	63.6	10,687	0.1978	
2015-01-14	16:18:49	49	56	96	645	13.8	0.42	113.0	611.2	6,636	76.6	9,583	0.1978	
2015-01-14	17:18:49	50	53	91	878	14.6	0.42	154.1	731.2	8,841	73.4	11,297	0.1978	
2015-01-14	19:18:49	52	233	636	500	9.8	0.63	133.1	208.7	3,433	83.6	6,585	0.1964	
2015-01-14	20:18:49	53	240	655	609	12.7	0.63	162.2	131.2	2,69	87.6	5,257	0.1964	
2015-01-14	21:18:49	54	270	770	342	9.3	0.65	93.2	53.7	1,913	89.4	3,827	0.1957	

**Figure 1.** Data structure of environmental parameters measured by MONI and HOBO. The spreadsheet shows records of a representative individual of *Colobanthus quitensis*. OTC is the initial of Open Top Chamber. F indicates the fluorescent value of sunlight. Fm' fluorescent value of artificial light, PAR-MONI the sunlight amount measured by MONI, Temp-MONI air temperature measured by MONI, PAR-HOBO sunlight amount by HOBO, Temp-HOBO air temperature by HOBO, HR humidity, LeafT-Cq temperature on leaf surface, Soil Moist soil moisture.

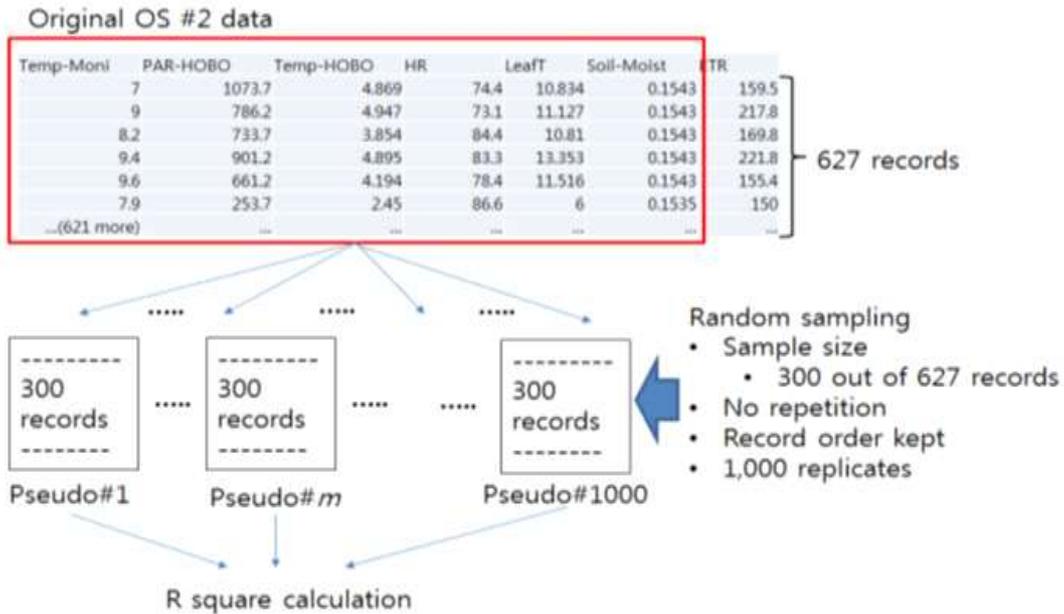


**Figure 2.** The extent of how much individual environmental parameters influence electron transfer rate of *C. quitensis*. All of the eight datasets consistently shows that Temp-MONI (the upper right box in each panel) is the largest contributor to ETR. On the other hand, the effect of Soil.Moist was lowest across all the datasets. The other five parameters shows the intermediate effect on ETR.



**Figure 3.** Scatter–line plots of six environmental parameters measured from Jan 14th 2015 to Mar 3rd 2015. The circles in red are indicated by possible outliers.

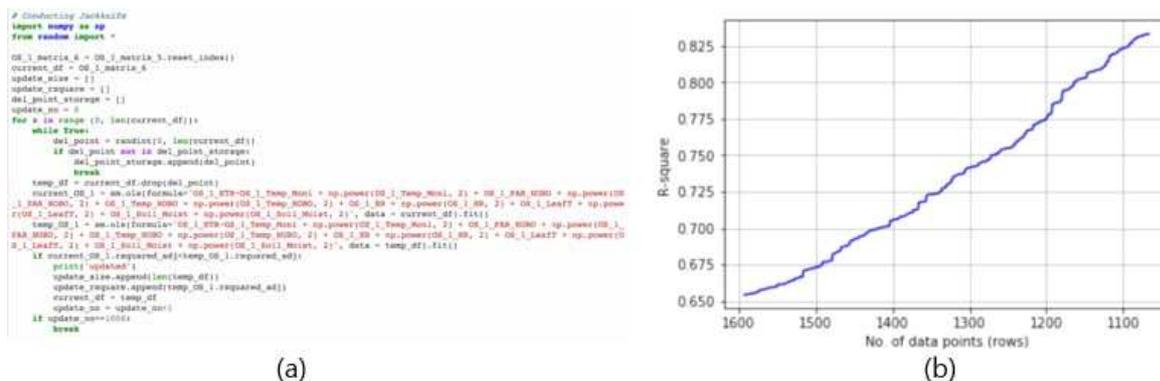
데이터 품질관리가 완료된 OS #2 (총 627 records)를 원 데이터로 하고, 여기서 bootstrap sampling 방식을 이용하여 총 1,000개의 pseudo-데이터를 생성하였다(sampling size = 300 out of 627 records). 각 pseudo-데이터에 대해 다항회귀를 수행하여, 모델 별로 결정계수를 계산하였다(Figure 4). Bootstrap 수행 이전의 OS #2 모델의 결정계수는 0.78이었다. 하지만, OS #2에서 bootstrap으로 임의 추출된 1,000개의 pseudo-데이터에서 최대 0.87의 결정계수가 관찰되었다. 사실, 임의 추출된 pseudo-데이터에는 원 데이터에 비해 잠재적 측정 오류가 적을 가능성이 많다. 이러한 이유로, 약 8% 정도의 모델 결정계수 향상이 나타난 것으로 보인다. 이는 MONI, HOBO에 의해 측정된 데이터를 전적으로 신뢰하더라도, 측정 장소에서 발생한 날씨의 가변성을 분석과정에서 고려해 주어야, 더 정확한 생물반응모델링이 가능함을 의미한다.



**Figure 4.** The schematic representation of how the original dataset of OS #2 is randomly sampled using the bootstrap method. The random sampling results in one thousand pseudo-datasets. The coefficient of determination maximally reaches 0.87, which is much larger than that (0.78) of the original OS #2 model.

남극곰새풀의 경우 칠레 Leon Bravo 교수가 제공한 데이터 중, 2013년 12월 초부터 2014년 3월 초까지 MONI, HOBO로 관측한 데이터가 분석에 이용되었다. 회귀 모델을 추정하기 전에, 남극개미자리 데이터와 동일한 방식으로 데이터 품질관리를 수행하였고, 그 결과 OS #1, OS #2, OTC #1, OTC #2는 각각 1594, 1519, 1563, 1591개의 records를 갖게 되었다. 광합성량(ETR)을 종속변수로 하고, 6개의 환경 값(Temp-HOBO, PAR-HOBO, HR, Temp-MONI, LeafT, Soil-Moist)을 독립변수로 한 뒤, Python library stats models 함수를 이용하여 다항회귀를 수행하였다. 그 결과, OS #1에서 가장 높은 adjusted coefficient of determination 값(0.654)을 얻었다. 앞서 남극개미자리의 경우 bootstrap 방식을 이용하여 모델 결정계수를 약 8% 정도 개선하였다. 이번 남극곰새풀 데이터의 경우 측정오류에 좀 더 민감한 jackknife 방식을 적용해 보았다. Jackknife는 n개 records에서 무작위로 1개 record를 제거한 뒤, n-1개의 records에서 얻어진 모델 결정계수가 n개 records의 결정계수보다 높으면, n-1 records를 채택한다. 이 과정을 계속 반복하여 데이터 질(quality)을 개선하게 된다(Figure 5a). Jackknife을 적용한 결과, records가 줄어들면서 모델의 결정계수가 계속 증가함을 볼 수 있었다. OS #1의 원 데이터(original data)는 1 594 records로 구성되고 0.654의 결정계수를 보였다. 하지만, jackknife를 적용

한 결과, 최종적으로 결정계수가 0.833까지 개선된 새로운 데이터셋(1,067 records)을 얻을 수 있었다(Figure 5b). 결국, jackknife 도입으로 결정계수가 약 18% 정도 향상되었고, 이는 bootstrap 방법을 적용했던 남극개미자리 모델 개선효과(약 8% 향상)를 앞선다.



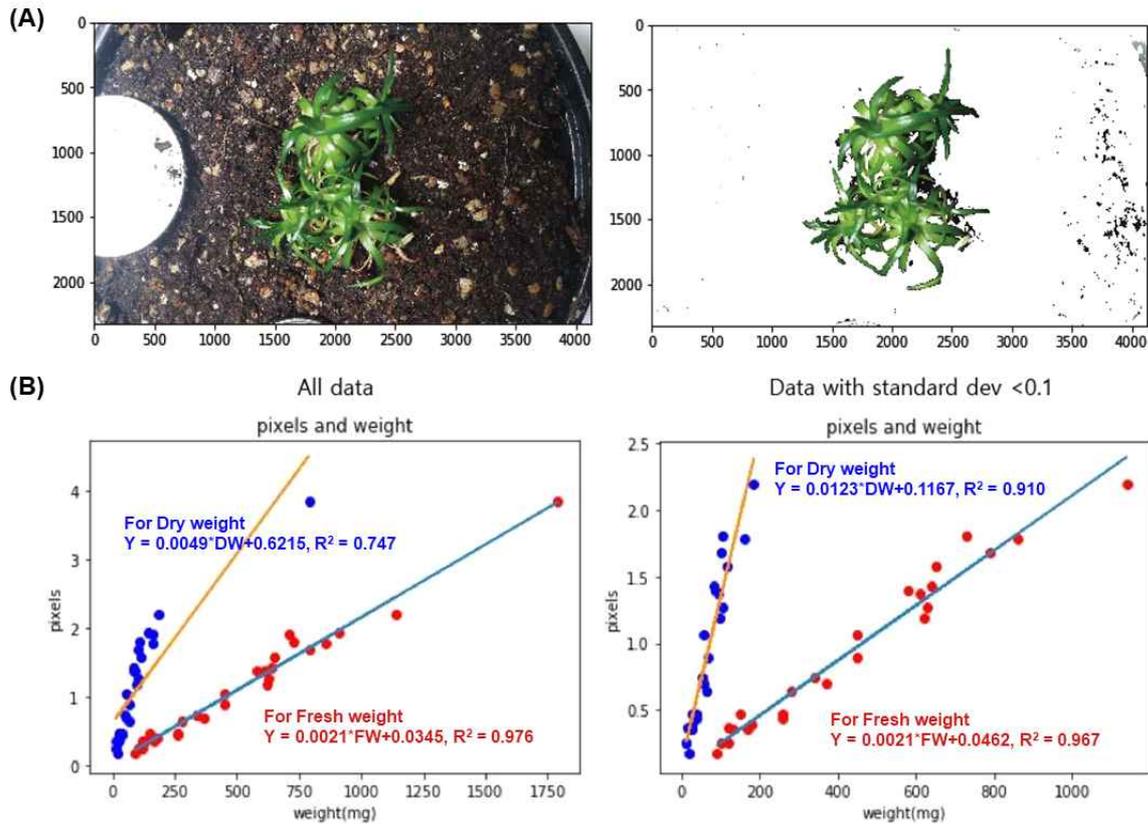
**Figure 5.** (a) The python script for running the jackknife task. (b) The coefficient of determination of the original OS #1 dataset reaches 0.833. This approximates 18% improvement.

다. 이미지 픽셀 수 계산으로 식물 생체량 예측 가능

기후변화 및 지구온난화에 남극식생이 어떻게 반응하는지를 예측하게 되면, 추후 수십 년 뒤 우리가 경험할 생태계 변화에 대한 대비책을 마련해 해 준다. 그 필요성의 일환으로 본 연구에서는 환경변화에 따른 남극곰새풀, 남극개미자리의 반응을 관찰하였다. ‘반응’은 식물 생체량의 변화로 살펴보았다. 생태계 반응은 최소한 수십 년에 걸친 관찰을 통해 이해 될 수 있기에(De Vries et al. 2012), 식물체를 뽑아서 생체량을 측정하는 파괴적인 방식 대신, 비파괴적이고 지속가능한 관찰 방법 도입이 필요하였다. 그래서, 남극개미자리, 남극곰새풀을 카메라로 촬영한 뒤, 식물체를 구성하는 픽셀 수를 계산하고, 이를 실제 생체량 값으로 변화하는 방식을 고안하였다. 결과적으로 실험실 환경에서 촬영된 남극개미자리와 킹조지섬 인근에서 촬영된 남극곰새풀 모두 픽셀 수와 실제 생체량 사이에 뚜렷한 선형관계식을 얻었다(결정계수 > 0.9). 이는 카메라로 촬영한 사진 속 식물체 픽셀 수를 가지고 실제 생체량 값을 얻어낼 수 있음을 의미한다.

먼저, 실험실 환경에서 남극개미자리를 이용하여 ‘이미지 기반 생체량 예측’이 가능한지 테스트 하였다. 앞서 설명한 방법에 따라, 30개 남극개미자리 화분에 대해, 각각 15장씩 촬영을 하였다. 화분 위에 놓여 있는 100원 짜리 동전을 이용하여 식물체에 해당하는 픽셀 수를 보정하였다. 동시에, 각 화분에서 남극개미자리 자신택을 뽑아 건조중량(DW)과 생체량(FW)을 측정하였다. 30 개체 중 이미지 보정 픽셀 수의 표준편차가 0.1보다 큰

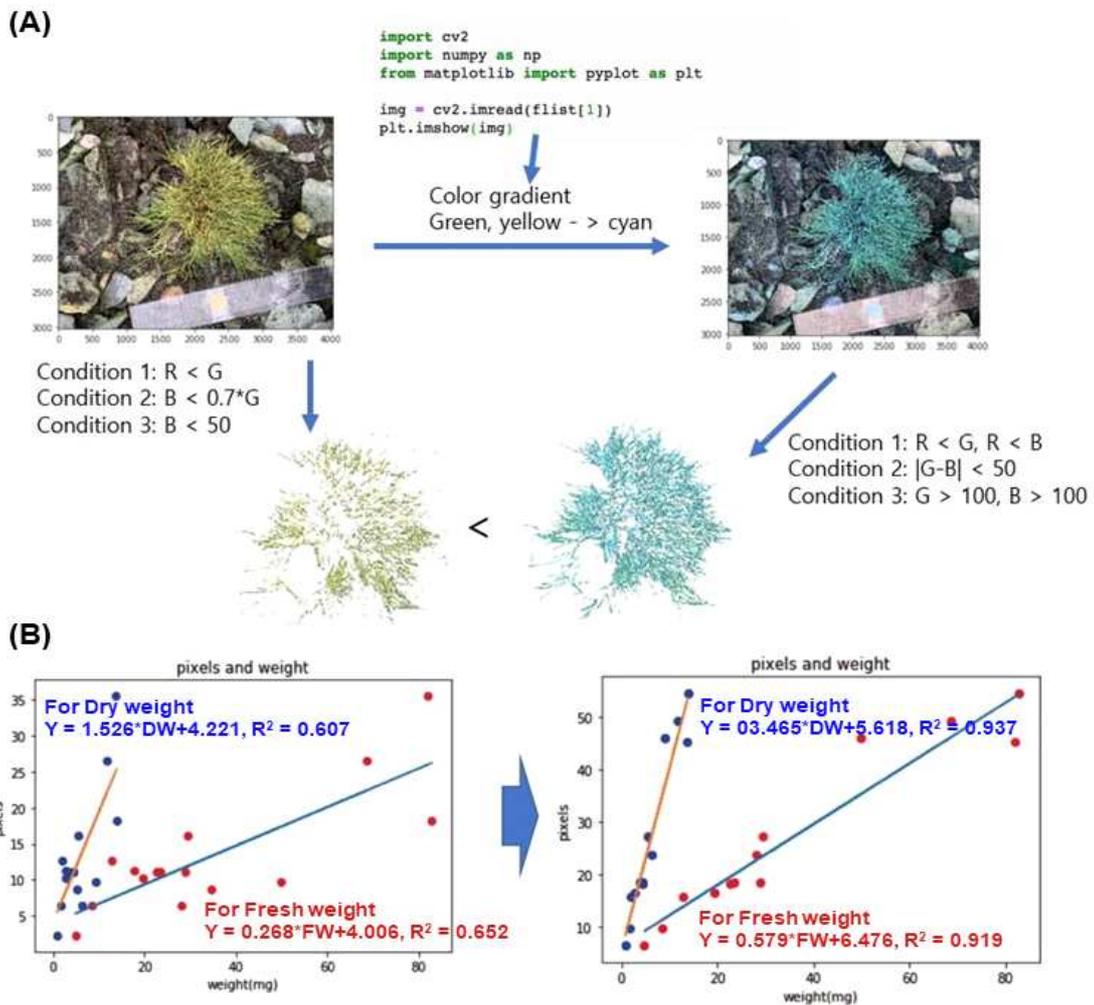
2개체를 제외한 경우, 픽셀 수와 중량과의 관계식에서 결정계수는 건중량의 경우 0.910, 생중량의 경우 0.967이었다(Figure 6). 높은 결정계수는 이미지 기반 남극개미자리 생중량 예측이 충분히 가능함을 의미한다.



**Figure 6.** Image-based prediction of plant body weight. (A) extracting and counting pixels consisting of plant body from photos. This task was done on Jupyter notebook. (B) For each of 30 *C. quitensis* individuals, the normalized plant pixels were strongly correlated with dry, fresh weight of the plant bodies.

실험실 환경에서는 남극개미자리를 대상으로 이미지 기반 식물 생체량 예측 가능성을 성공적으로 확인하였다. 이 접근법이 실제 남극 필드에서도 통하는지 알아보기 위해, 2019년 1~2월 킹조지섬 바톤반도 현장에 서식하는 남극좁새풀 30 개체를 선정하여 이미지를 획득하고 건중량과 생중량을 측정하였다. 실제 필드에서 얻은 사진은 실험실에서 키운 화분 사진에 비해 다양한 잡티(예: 마른 노란색 잎, 주변의 돌, 자갈 등)가 있었다. 그래서 남극개미자리에서 이용된 RGB처리 조건( $G > R, B$ )을 그대로 적용할 수 없었다. 앞서 연구방법에서 언급한 대로, Python cv2를 이용하여 사진 내 남극좁새풀 자실체 부

분만 옥색(cyan)으로 치환한 뒤, 주변 돌, 자갈 등의 노이즈를 제거하기 위한 정교한 RGB 조건을 적용하였다(재료 및 방법 참고). 총 30개 개체 중 절반을 분석한 결과, 이미지에서 추출된 보정 픽셀 수는 각각 건중량(결정계수 0.937) 및 생중량 값(결정계수 0.919)과 매우 강한 선형관계를 보였다(Figure 7). 결정계수를 기준으로, 실험실 조건에서 테스트한 남극개미자리와 비슷한 수준의 결과를 얻었다. 이는, 실제 남극 필드에서 촬영된 사진 자료를 이용하여 식물 생체량을 계산할 수 있음을 의미한다.



**Figure 7.** Image-based prediction of plant body weight for photos taken in the vicinity of the King Sejong base. (A) Unlike *C. quitensis* photos, a python module of color transformation called cv2 and the updated RGB conditions were applied to recover more plant body pixels. (B) For each of 15 *D. antarctica* individuals, the normalized plant pixels were correlated with dry, fresh weight of the plant bodies.

## 제 2 절 바톤반도 식생 종 특이적 분광정보 라이브러리 구축

### Spectral characteristics of the Antarctic vegetation: A case study of the Barton peninsula

#### 1. 서론

원격탐사는 원거리의 대상체에서 복사된 에너지를 직접적인 접촉 없이 원거리에서 측정하고 그 특성을 분석하는 기법이다. 원격탐사에 의한 분석은 모든 물체는 그 종류와 환경조건에 따라 서로 다른 신호를 반사한다는 전자기파 특성에 기초를 두고 있다 (Baldrige et al., 2009; Clark et al., 1993). 분광반사란 각 파장별로 지표면에 도달한 전자기에너지에 대한 반사된 광량의 비율로 정의한다. 분광라이브러리는 지구에 존재하는 다양한 물질의 분광반사율 자료와 그에 대한 보조자료를 축적한 데이터베이스로 다양한 분야에서 물질의 종류와 특성을 분석하기 위한 참조자료로 사용되고 있다(Baldrige et al., 2009; Clark et al., 1993). 원격탐사 분야에서는 광학영상 자료와 연계하여 토지 피복의 종류와 속성을 분류하고 더 나아가 초분광영상의 정량적 해석에서도 중요한 역할을 하고 있다.

본 연구에서는 바톤반도에 존재하는 지의류, 이끼류 등 주요 식생 17종에 대해 350 - 2500 nm 파장대역에서 분광정보를 반복 획득 후 각 식생종을 대표할 수 있는 분광라이브러리를 구축하였고, 분광정보를 이용하여 각 식생 종을 얼마나 잘 구분할 수 있는지에 대해 연구를 수행하였다.

#### 2. 재료 및 방법

##### 가. 분광측정

ASD Fieldspec 4 휴대용 분광반사측정기를 이용하여 350-2500nm 파장대역의 분광반사율을 1nm단위의 분광해상력으로 측정을 하였다. Figure 1은 연구에 사용된 분광반사측정기의 상세 스펙이다. 바톤반도의 경우 구름으로 인해 일조량이 충분하지 않고, 그 변화가 심해 자체 할로젠 조명을 이용한 contact probe를 이용하여 각 개체별 순수한 분광반사정보를 측정하였다. 눈과 비로 인한 수분 함량은 분광정보에 크게 영향을 미치므로 분광측정 전에 눈 또는 비가 오지 않은 건조한 상태에서 측정을 수행하였고, 서로 다른 식생 종이 섞이지 않고 한 종의 식생만 고르게 분포된 개체를 선정하였다(Figure 2). 각 종별로 최소 20개 이상의 개체를 선정하였고, 각 개체별로 10회 이상의 분광반사율을 측정

하였다. ASD Fieldspec 4는 350 - 1000 nm, 1001 - 1800 nm, 1801 - 2500 nm의 3개의 분광센서로 구성되어 full-range의 분광정보를 획득하는데, 예열 및 Field-of-View 안에 들어오는 고르지 못한 타겟 등의 문제로 인해 각 센서의 경계 부분에서의 분광반사율 값 간에 이격이 발생하기도 한다. 이는 후처리를 통해 보정해 주었고, 350 - 400 nm의 분광정보는 노이즈가 많아 사용하지 않았다. 따라서 본 연구에서는 최종적으로 Figure 3에서 보는 것과 같이 바톤반도 주요 식생 17에 대해 400 - 2500 nm 파장대역에서 분광정보를 획득하였다.

<b>Spectral Range</b>	350-2500 nm
<b>Spectral Resolution</b>	3 nm @ 700 nm 10 nm @ 1400/2100 nm
<b>Spectral sampling (bandwidth)</b>	1.4 nm @ 350-1000 nm 1.1 nm @ 1001-2500 nm
<b>Scanning Time</b>	100 milliseconds
<b>Stray light specification</b>	VNIR 0.02%, SWIR 1 & 2 0.01%
<b>Wavelength reproducibility</b>	0.1 nm
<b>Wavelength accuracy</b>	0.5 nm
<b>Maximum radiance</b>	VNIR 2X Solar, SWIR 10X Solar
<b>Channels</b>	2151
<b>Detectors</b>	VNIR detector (350-1000 nm): 512 element silicon array SWIR 1 detector (1001-1800 nm): Graded Index InGaAs Photodiode, Two Stage TE Cooled SWIR 2 detector (1801-2500 nm): Graded Index InGaAs Photodiode, Two Stage TE Cooled
<b>Input</b>	1.5 m fiber optic (25° field of view). Optional narrower field of view fiber optics available.
<b>Noise Equivalent Radiance (NE<sub>L</sub>)</b>	VNIR 1.0 X10 <sup>-9</sup> W/cm <sup>2</sup> /nm/sr @ 700 nm SWIR 1 1.2 X10 <sup>-9</sup> W/cm <sup>2</sup> /nm/sr @ 1400 nm SWIR 2 1.9 X10 <sup>-9</sup> W/cm <sup>2</sup> /nm/sr @ 2100 nm
<b>Weight</b>	5.44 kg (12 lbs)

Figure 1. ASD Fieldspec 4 장비의 세부정보



Figure 2. 휴대용분광반사측정기를 이용한 분광정보 측정 현장 사진

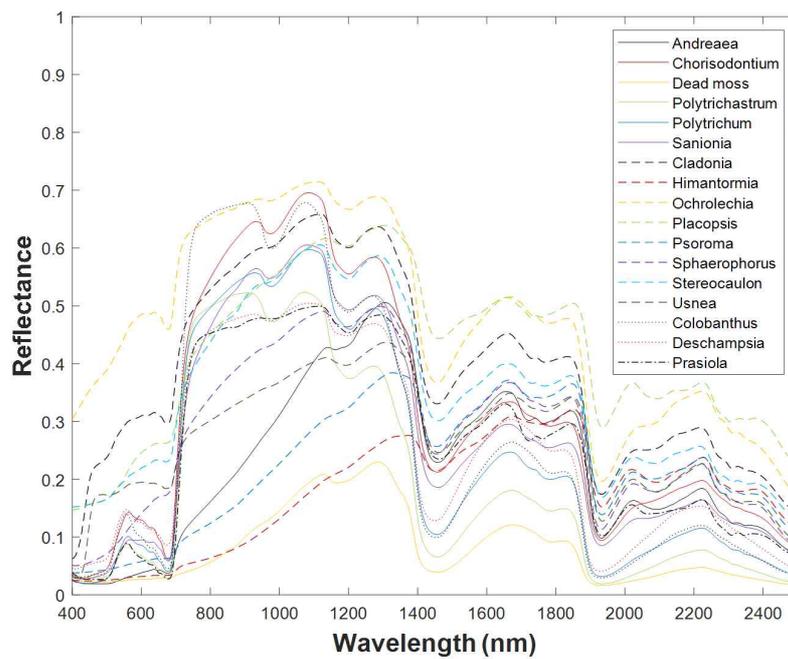


Figure 3. 바톤반도 주요 식생 17종에 대한 분광분사율

## 나. 분광학적 유사도 측정

두 개의 분광반사신호간 유사성을 정량적으로 비교하기 위해서 많은 유사도 측정방법이 제안되었다. Spectral angle measure(SAM)은 초분광영상 분석시 가장 많이 사용되는 분광유사도 측정방법으로 두 분광반사 신호 ( $\mathbf{x}=(x_1, x_2, \dots, x_n)^T$ ,  $\mathbf{y}=(y_1, y_2, \dots, y_n)^T$ ) 사이의 각도를 다음과 같이 계산한다(Yuhas et al., 1992).

$$\text{SAM}(\mathbf{x}, \mathbf{y}) = \cos^{-1} \left( \frac{\sum_{i=1}^n x_i y_i}{\sqrt{\sum_{i=1}^n x_i^2} \sqrt{\sum_{i=1}^n y_i^2}} \right)$$

SAM은 Euclidean distance(ED)와 비슷하지만, ED는 분광반사신호의 밝기값에 따른 거리차이를 보여주지만, SAM은 밝기값에 무관하게 분광반사신호의 형태적 유사도만 측정하는 차이점이 있다. 분광유사도는 오직 두 분광반사신호간 유사성 또는 비유사성만을 측정하기에 다수의 분광신호들간의 유사성을 종합적으로 판단하기 어렵다. 이를 위해서 본 연구에서는 Relative spectral discriminability entropy(RSDE)를 이용하였으면 RSDE는 다음과 같이 계산했다(Chang, 1999).

$$\text{RSDE} = - \sum_{k=1}^n p_{\mathbf{d}, \mathbf{S}}(k) \log p_{\mathbf{d}, \mathbf{S}}(k)$$

$$p_{\mathbf{d}, \mathbf{S}}(k) = \text{SAM}(\mathbf{d}, \mathbf{s}_k) / \sum_{i=1}^n \text{SAM}(\mathbf{d}, \mathbf{s}_i)$$

$$\mathbf{S} = \{\mathbf{s}_k\}_{k=1}^K$$

위 식에서  $K$ 는 비교할 분광반사신호의 개수이며,  $\mathbf{d}$ 는 여러 분광신호가 혼합된 신호값을 뜻한다. 따라서 신호값  $\mathbf{d}$ 가 여러분광신호들의 집합  $\mathbf{S}$ 로부터 얼마나 잘 구분할 수 있는지를 RSDE를 이용하여 계산할 수 있는데, RSDE값이 작을 수록 신호값을 더 잘 구분할 확률이 높은 것을 뜻한다.

## 3. 결과 및 토의

Figure 4는 바톤반도 식생 17종간의 유사도를 SAM을 이용해서 세 개의 파장대역(VNIR: 400 - 1000 nm Figure 4상; SWIR: 1000 - 2500 nm Figure 4중; FULL: 400 - 2500 nm Figure 4하)별로 비교하였다. 선행연구(Calvino-Cancela et al., 2016)에서 바톤반도의 주요 식생 13종에 대해 380 - 1000 nm 대역에서 분광반사특성 연구를 수행하였는데, 본 연구결과에서는 SWIR를 이용했을 경우 분광학적 분리도가 좋아지는 케이스가 총 136개의 조합 중 78개의 조합으로 더 많았으며, 400 - 2500 nm의 분광대역을 이

용하면 98개의 식생 종간 구분 케이스에서 분리도 향상이 일어났다. 또한 분리도가 안 좋아진 경우에도 분리도가 크게 나빠지지는 않은 결과를 얻을 수 있었다. 특히 SWIR 파장대역을 활용하면, 색상이 비슷한 식생 종간 분광학적 구분이 더 좋아지는 사실을 확인하였다.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	Avg.
Andreaea	0	0.1881	0.1694	0.2626	0.2168	0.1655	0.3651	0.1938	0.4943	0.3182	0.1786	0.2249	0.2863	0.3925	0.2749	0.2399	0.2314	0.2634
Chorisodontium		0	0.3133	0.0952	0.0496	0.0371	0.3099	0.2725	0.4466	0.2785	0.2384	0.1823	0.2606	0.3488	0.0987	0.0821	0.0767	0.2049
Dead moss			0	0.3936	0.3524	0.2997	0.3452	0.1288	0.4407	0.2989	0.1391	0.2655	0.2775	0.3376	0.4018	0.3343	0.3646	0.3047
Polytrichastrum				0	0.0536	0.1059	0.3623	0.3305	0.4890	0.3340	0.3176	0.2505	0.3182	0.4042	0.0257	0.1176	0.0417	0.2450
Polytrichum					0	0.0616	0.3450	0.3136	0.4387	0.3145	0.2805	0.2197	0.2976	0.3846	0.0637	0.1021	0.0391	0.2233
Samonia						0	0.3290	0.2707	0.4688	0.2931	0.2370	0.1922	0.2738	0.3668	0.1150	0.1117	0.0850	0.2131
Cladonia							0	0.2349	0.1563	0.0807	0.2162	0.1715	0.0970	0.0372	0.3532	0.2494	0.3568	0.2519
Himantormia								0	0.3317	0.1865	0.0421	0.1766	0.1678	0.2817	0.3545	0.2630	0.3249	0.2412
Ochrolechia									0	0.1833	0.3269	0.3059	0.2022	0.1309	0.4801	0.3806	0.4864	0.3637
Placopsis										0	0.1662	0.1274	0.0345	0.1240	0.3287	0.2241	0.3259	0.2262
Psoroma											0	0.1386	0.1462	0.2384	0.3208	0.2305	0.2939	0.2194
Sphaerophorus												0	0.1199	0.2134	0.2481	0.1514	0.2395	0.2017
Stereocaulon													0	0.1377	0.3140	0.2100	0.3090	0.2164
Usnea														0	0.3935	0.2914	0.3958	0.2817
Colobanthus															0	0.1092	0.0543	0.2460
Deschampsia																0	0.1115	0.2007
Prasiola																	0	0.2335

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	Avg.
Andreaea	0	0.3481	0.2261	0.4405	0.3630	0.2468	0.1296	0.3733	0.1421	0.1892	0.2263	0.0930	0.1296	0.1141	0.4007	0.2394	0.1339	0.2942
Chorisodontium		0	0.1945	0.2166	0.1421	0.0998	0.1243	0.5314	0.2017	0.3205	0.4212	0.1944	0.1729	0.2664	0.1751	0.0926	0.1329	0.2008
Dead moss			0	0.2392	0.1787	0.1809	0.1299	0.6215	0.3149	0.4212	0.4838	0.2814	0.2867	0.3525	0.2130	0.1408	0.2358	0.2937
Polytrichastrum				0	0.0788	0.2100	0.3896	0.7631	0.4165	0.5360	0.6314	0.4044	0.3888	0.4799	0.0509	0.2232	0.3280	0.3623
Polytrichum					0	0.1190	0.3166	0.6906	0.3442	0.4648	0.5566	0.3293	0.3163	0.4059	0.0470	0.1485	0.2547	0.2566
Samonia						0	0.1909	0.5389	0.2100	0.3274	0.4265	0.1982	0.1793	0.2728	0.1700	0.0914	0.1287	0.2214
Cladonia							0	0.3819	0.0281	0.1507	0.2512	0.0460	0.0209	0.1013	0.3465	0.1968	0.1023	0.1947
Himantormia								0	0.3531	0.3427	0.1516	0.3696	0.3847	0.2941	0.7177	0.5377	0.4626	0.4674
Ochrolechia									0	0.1229	0.2225	0.0785	0.0985	0.0960	0.3753	0.2245	0.1372	0.2062
Placopsis										0	0.1428	0.1529	0.1497	0.0923	0.4937	0.3484	0.2332	0.2749
Psoroma											0	0.2302	0.2549	0.1574	0.5865	0.4215	0.3214	0.3632
Sphaerophorus												0	0.0505	0.0788	0.3612	0.2014	0.1029	0.1971
Stereocaulon													0	0.1027	0.3470	0.2041	0.0988	0.1962
Usnea														0	0.4369	0.2798	0.1703	0.3079
Colobanthus															0	0.1775	0.2992	0.3541
Deschampsia																0	0.1592	0.2514
Prasiola																	0	0.2034

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	Avg.
Andreaea	0	0.3920	0.2699	0.5939	0.4932	0.3796	0.3295	0.3903	0.4133	0.5719	0.2298	0.2220	0.2847	0.2641	0.5693	0.4043	0.3142	0.3632
Chorisodontium		0	0.3333	0.2209	0.1316	0.0296	0.2335	0.6809	0.3096	0.3471	0.5339	0.2297	0.2199	0.3173	0.1938	0.0911	0.1247	0.2734
Dead moss			0	0.1927	0.3958	0.3366	0.3749	0.6257	0.4479	0.4305	0.4721	0.3446	0.3425	0.3836	0.4792	0.3496	0.3501	0.4036
Polytrichastrum				0	0.1057	0.2220	0.4467	0.8919	0.4609	0.5354	0.7466	0.4405	0.4210	0.5172	0.0419	0.2213	0.3099	0.4164
Polytrichum					0	0.1133	0.3401	0.8038	0.4008	0.4733	0.6539	0.3487	0.3376	0.4343	0.0907	0.1381	0.2298	0.3443
Samonia						0	0.2844	0.6290	0.3219	0.3499	0.5298	0.2278	0.2289	0.3208	0.2029	0.1025	0.1210	0.2765
Cladonia							0	0.3433	0.1137	0.1779	0.4024	0.1369	0.0665	0.1208	0.3863	0.2243	0.2128	0.2691
Himantormia								0	0.5791	0.3792	0.1716	0.4771	0.5165	0.4357	0.8397	0.6932	0.6006	0.5830
Ochrolechia									0	0.2284	0.4593	0.2343	0.1666	0.1783	0.4319	0.2880	0.3049	0.3321
Placopsis										0	0.2529	0.1500	0.1324	0.1060	0.5245	0.3609	0.2895	0.3942
Psoroma											0	0.3294	0.3709	0.2953	0.7156	0.5431	0.4540	0.4465
Sphaerophorus												0	0.0867	0.1230	0.4108	0.2373	0.1740	0.2574
Stereocaulon													0	0.1192	0.3924	0.2278	0.1888	0.2867
Usnea														0	0.4861	0.3143	0.2631	0.2924
Colobanthus															0	0.1881	0.2824	0.3910
Deschampsia																0	0.1528	0.2833
Prasiola																	0	0.2226

Figure 4. 바톤반도 주요 식생 17종간 파장대역별 분광학적 분리도. 상, 400 - 1000 nm; 중, 1000 - 2500 nm; 하, 400 - 2500 nm.

실제 원격탐사영상에서 식생 종 분류시 전체적인 분류 성능 확인을 위해 파장대역별 RSDE를 계산한 결과, 400 - 1000 nm에서는 2.7723, 1000 - 2500 nm에서는 2.2262, 400 - 2500 nm에서는 2.0693을 보여 원격탐사영상을 이용해 바톤반도 식생의 종 구분을 적절히 하기 위해서는 VNIR보다는 SWIR 파장대역이 더 효과적이고, VNIR와 SWIR 대역을 모두 이용했을 경우 가장 좋은 분류결과를 얻을 수 있을 것으로 예상하였다.

# 제 3 절 원격탐사 기술을 활용한 식생 분포와 눈 피복의 상관관계 규명

## Impacts of snow cover on distribution of vegetation using remote sensing techniques

### 1. 서론

최근 남극반도에서 관측되는 지역적인 온난화 현상은 지표 환경에도 다양한 형태의 변화를 가져온다(Vaughan et al., 2003). 남극의 지표 환경을 구성하는 요소 중 하나인 눈 피복은 기후 변화에 따라 분포 면적과 유지 기간이 바뀌게 되며, 이는 지의류와 이끼 등 남극 육상 식생의 분포에도 영향을 미친다(Fox and Cooper, 1998).

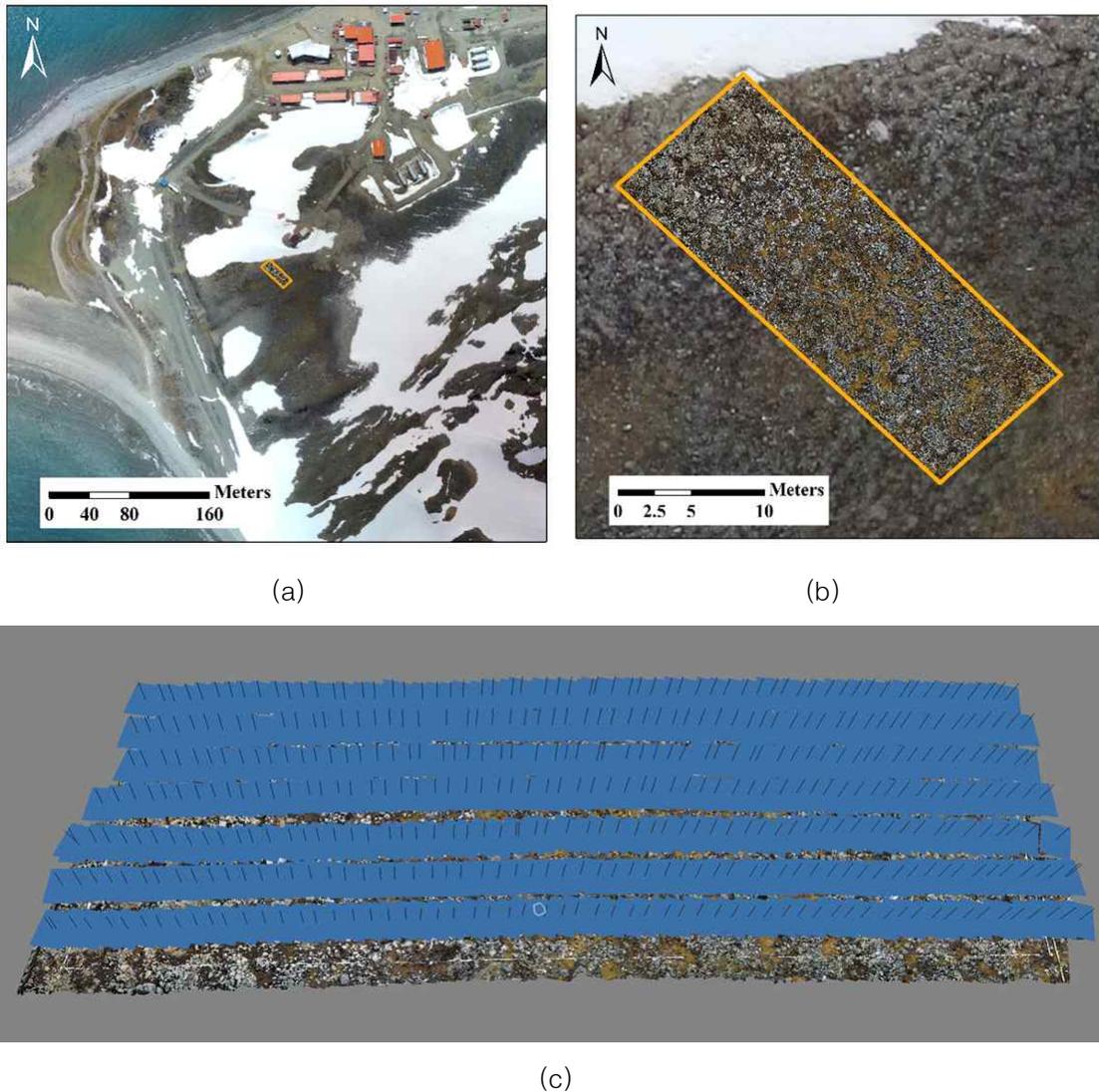
극지에서는 극한 환경 특성과 광역의 공간 규모로 인하여 현장 조사 시기와 지점 선택이 매우 제한적이다. 이러한 환경적 제약들의 극복을 위해 식생 분포 탐지를 목적으로 원격탐사 기법이 효과적으로 활용되고 있다(Fretwell et al., 2011). 남극에 분포하는 식생은 개별 개체의 크기가 작고 분포 밀도가 낮기 때문에 분석을 위해서는 수 cm 또는 그 이하의 높은 공간해상도의 원격탐사 자료가 필요하다(Turner et al., 2018).

본 연구에서는 원격탐사 기법을 적용하여 세종과학기지가 위치한 남극 킹조지섬 바톤반도 내에서 눈 피복에 인접한 지의류 및 선태류 분포 지역의 고해상도 영상 자료를 획득하고, 기후 변화로부터 영향 받을 수 있는 환경 인자 중 눈 피복과 식생 분포와의 상관성을 분석하고자 하였다.

### 2. 재료 및 방법

#### 가. 고해상도 다중분광 영상 획득

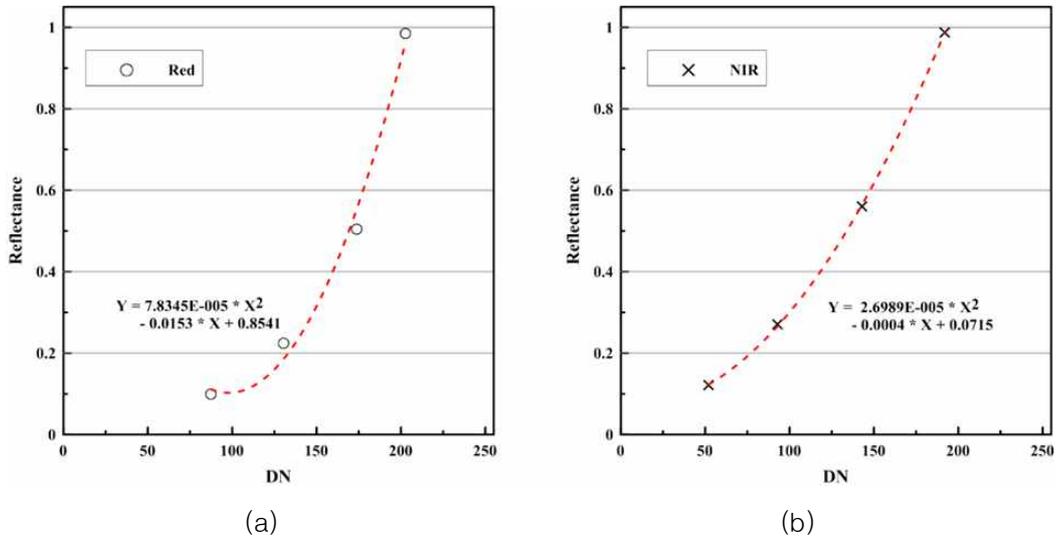
세종과학기지 인근의 지속적으로 존재하는 것으로 알려진 눈 피복에서 인접한 10 m × 30 m의 직사각 영역을 분석 대상 지역으로 선정하였다(Figure 1a-b). 대상 지역에서 금속 프레임에 고정시켜 안정적인 자세로 촬영이 가능한 디지털 카메라 및 근적외선 밴드 패스 필터를 이용하여 가시광과 근적외선 파장 영역의 4개 밴드로 구성된 영상을 인접 영상 사이에 최소 60% 이상의 영역이 중첩되도록 획득하였다. 획득된 영상들과 Structure-from-Motion(SfM) 기법(Westoby et al., 2012)을 이용하여 약 0.5 mm 공간해상도의 고해상도 다중분광 모자이크 영상 생성을 수행하였다(Figure 1c). 모자이크 영상은 사전 획득된 무인기 획득 영상을 기준으로 정밀하게 위치를 정합하였다.



**Figure 1.** The study area in Barton Peninsula, King George Island, Antarctica: (a) location of the study area indicated as a yellow rectangle, (b) overview of land cover in the study area, and (c) the result of multispectral image acquisition over the study area.

#### 나. 영상 전처리 및 분석

고해상도 다중분광 모자이크 영상을 정량적인 식생지수(normalized difference vegetation index, NDVI) 분석에 입력 자료로 활용하려면 개별 영상 화소 값(digital number, DN)을 분광반사도(spectral reflectance)로 변환하는 과정이 필요하다. 식생지수에 입력되는 red와 NIR(near-infrared) 밴드 영상을 대상으로 4단계의 반사도로 구분된 표준 반사 패널(spectral reference panel)을 이용하여 분광반사도 변환식을 산출(Levin et al., 2005) 후 각각의 밴드 영상에 적용하였다(Figure 2).



**Figure 2.** Radiometric calibration of digital numbers (DNs) in multispectral mosaic image for converting to spectral reflectance using spectral reference panel: (a) conversion of DNs to spectral reflectance in red and (b) NIR bands

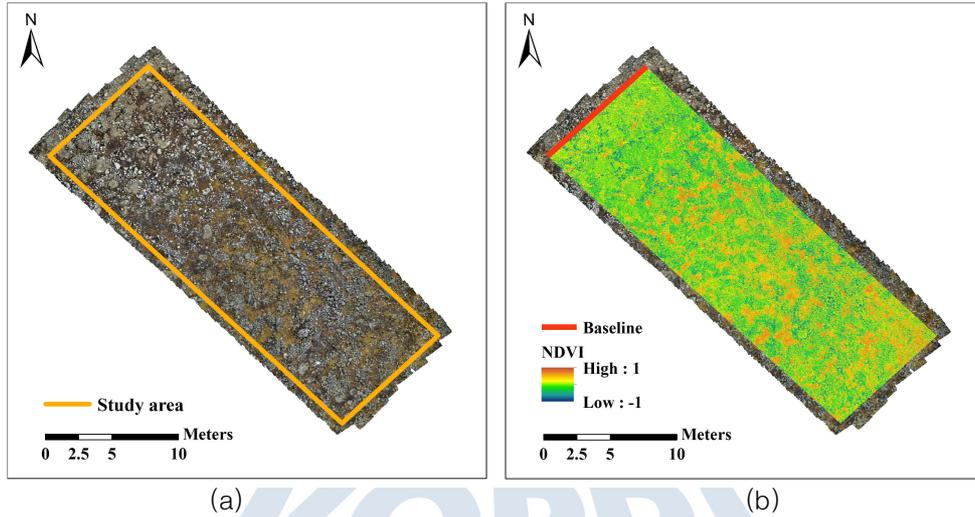
식생지수는 다음의 식을 이용하여 식생의 활력도와 밀도에 따라서 정규화된 +1과 -1 사이의 수치로 변환 후(Hunt et al., 2010), 눈 피복으로부터의 거리 사이의 상관관계 분석에 활용하였다. 식생지수는 다양한 육상 환경에서 식생 탐지와 분류를 목적으로 사용되어 왔으며, 남극 반도의 지의류와 선태류 매핑을 위한 정량 정보 제공에도 적용된 바 있다(Andrade et al., 2018).

$$NDVI = (\rho_{NIR} - \rho_{Red}) / (\rho_{NIR} + \rho_{Red})$$

ρ: spectral reflectance

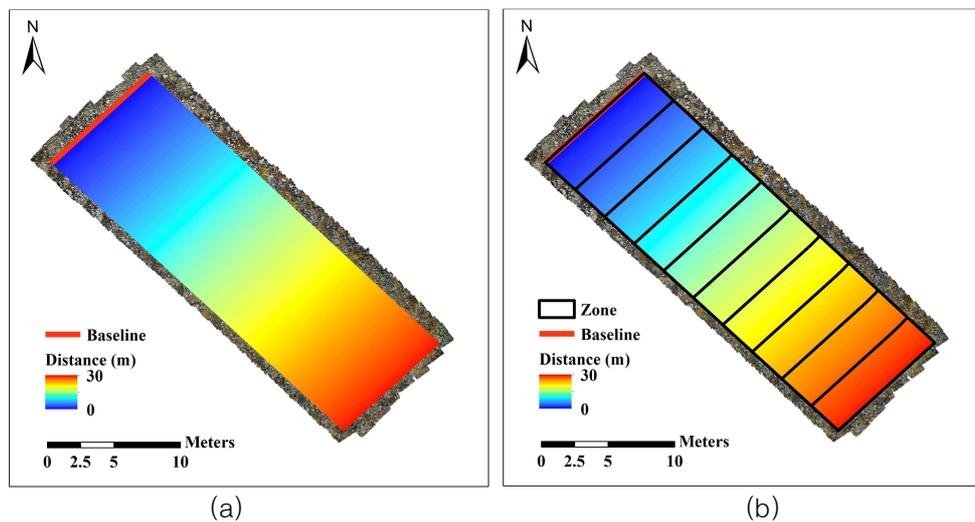
### 3. 결과 및 토의

분광반사도로 변환된 고해상도 다중분광 모자이크 영상(Figure 3a)을 기반으로 식생지수 지도를 생성하였다(Figure 3b). 식생지수 수치가 +1에 가까울수록 식생 밀도 및 활력도가 큰 지점을 의미한다.



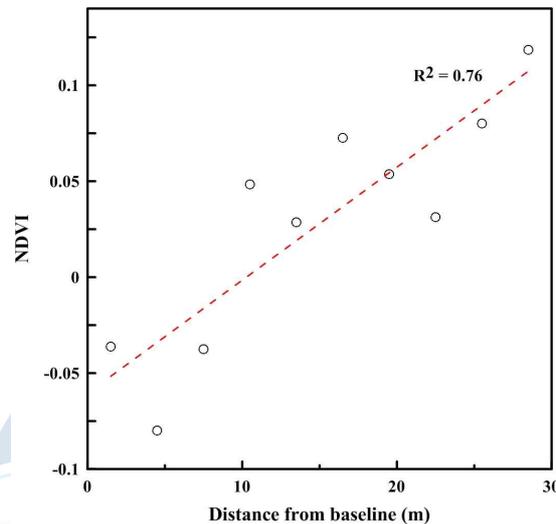
**Figure 3.** Mosaic image of the study area: (a) High-resolution RGB mosaic image and (b) NDVI map using the radiometrically calibrated mosaic image.

눈 피복으로부터의 거리와 식생지수 사이의 상관관계 분석을 위해 먼저 직사각형 형태로 구성된 분석 영역에서 눈 피복에서 근접한 모서리를 거리 계산을 위한 기준선(baseline)으로 지정하였다. 영상을 구성하는 각각의 화소에 대해 기준선으로부터의 거리 계산 후 3 m 폭의 총 10개의 지역(zone)을 생성하였다(Figure 4).



**Figure 4.** Calculation of distances between predefined baseline and every pixels in the study area: (a) the result of distance analysis and (b) divided zones for further zonal analysis of NDVI.

분석 영역 내에서 사전 지정된 총 10개의 지역에 대해 눈 피복으로부터의 거리와 식생지수 사이의 상관관계 분석을 수행하였다(Figure 5). 분석 결과 눈 피복에서 거리가 멀어질수록 높은 식생지수가 나타나는 것으로 평가되어( $R^2 = 0.76$ ) 눈 피복이 지의류와 선태류 등 식생의 분포에 영향을 미치며, 이는 식생의 밀도와 활력도가 복합적으로 반영된 결과로 판단된다. 이러한 결과는 향후 남극 반도에서 눈 피복 변화 발생 시 식생의 공간 분포 변화를 예측하는 데에 활용될 수 있을 것으로 기대된다.



**Figure 5.** Correlation between distribution of normalized difference vegetation index (NDVI) and distance from snow cover using predefined zones.

## 제 4 절 바톤반도 선대류의 수분 변화에 따른 생리 변화 분석

### Physiological analysis of the moss *Sanionia uncinata* under reduced relative water content in Antarctic habitat

#### 1. 서론

남극반도는 지구상에서 가장 급격하게 온난화가 진행된 곳 중 하나이다(Royles et al. 2013). 20세기 후반 50년 동안 남극반도의 급속한 온난화는 빙봉의 붕괴와 빙하의 대량 손실을 유발하여 빙하후퇴지역이 확대되었다(Mulvaney et al. 2012). 빙하는 육상생물이 이용 가능한 물의 주요 공급원이기 때문에, 단기적으로 여름철 빙하 녹음이 증가하고 육상 생태계에 물의 공급이 증가할 것으로 예상된다(Robinson et al. 2003). 하지만, IPCC의 시뮬레이션을 바탕으로 장기적으로 건조도가 증가할 것으로 예상되는데, 남극반도에서 빙하후퇴 지역은 3배까지 증가할 것으로 예측된다(Lee et al. 2017).

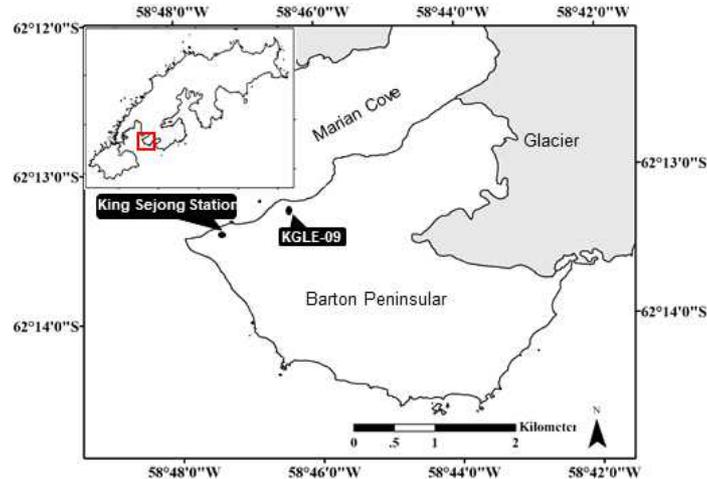
남극의 육상생태계는 극심한 건조와 저온 등의 조건으로 인해 식생의 생존에 관한 생리학적 한계에 있으며, 환경 요인의 사소한 변화조차 큰 영향을 미칠 수 있다(Robinson et al. 2003). 결과적으로, 남극 선대류는 기후 변화에 의해 크게 영향을 받을 것이기 때문에, 이들의 분포와 생태생리학적 적응을 예측하기 위해 그들의 생리적 반응을 이해하는 것이 중요하다. 낮깃털이끼(*Sanionia uncinata*)는 남극반도에서 가장 풍부하게 분포하는 선대식물이다(Nakatsubo 2002; Putzke et al. 2015). 이 종은 자외선 및 급속 오염과 같은 환경 요인의 영향을 연구하기 위한 실험 대상으로 연구되어 왔다(Fernandes et al. 2017; Lud et al. 2002; Samecka-Cymerman et al. 2011). 건조환경에서 수분 손실을 방지하는데 도움이 되는 카펫 형태의 콜로니를 형성하고 수분을 장기간 유지함으로써 탈수에 대한 내성을 나타낸다(Zúñiga-González et al. 2016). 또한 암석 표면의 건조한 곳에서부터 개울과 늪 근처의 습한 곳까지 다양한 남극의 환경에 서식한다(Ochyra et al. 2008).

생태적 중요성에도 불구하고, 환경 변화에 대한 낮깃털이끼의 내성에 관한 자세한 기작은 아직 밝혀지지 않았다. 건조 내성에 대한 생리적 기작을 이해하고 온난화로 인한 환경 변화에 대한 반응을 예측하기 위해, 본 연구에서는 여러 가지 수분 환경에 대한 반응을 이해하는 것을 목표로 했다.

#### 2. 재료 및 방법

### 가. 낮깃털이끼 샘플링

자연조건에서 성장한 남극 낮깃털이끼(*Sanionia uncinata*)를 킹조지섬 바톤 반도의 대한민국 남극세종과학기지 KGLE-09 site (62°13'13"S; 58°46'18"W)에서 채집하였다 (Figure 1). 다습, 중간 및 건조의 3가지 서로 다른 수분구배에 서식하는 식물체를 각 조건별 3 회씩 수집하였다. 조직을 액체 질소로 즉시 동결시키고 막자사발로 갈아서 1.5 ml Eppendorf 튜브에 옮기고 -80°C에서 보관하였다.



**Figure 1.** Location and pictures of the research site (KGLE-09) on King George Island (Barton Peninsula, Antarctica, 62° 13'13"S; 58° 46'18"W) and the Korean Antarctic King Sejong Station (62° 13' 22" S 58° 47' 18" W).

### 나. 미소기후 측정

여름 동안 남극의 미소기후 측정장치를 사용하여 자연 환경 내 낮깃털이끼 주변의 공기 온도, 식물체 표면 온도, 상대습도, 그리고 광도를 측정하였다. 데이터 로거(Hobo, Onset, Bourne, MA, USA)를 사용하여 각 센서의 판독 값을 10 분 단위로 기록하였다.

### 다. 광합성 및 엽록소 측정

광합성 분석을 위한 엽록소 형광 측정은 현장에 서식하는 식물체를 대상으로 수행되었다. 최적 광화학 효율( $F_V/F_M$ ), RLC, 퀀칭 계수 및 엽록소 형광 방출 스펙트럼 등의 파라미터가 포함되었다. 측정 과정에는 휴대용 펄스 진폭 변조(PAM) 형광 측정기(Mini PAM, Walz, Germany)를 사용하였다. 표준화된 프로토콜을 따라서 각각 다른 조직에 대해 5회 반복 수행하였다.  $F_V/F_M = (F_M - F_0)/F_M$ 의 식으로 구하였다. 이 방정식에서,  $F_0$ 는 암순응 후 최소 형광값,  $F_M$ 은 암순응 샘플에서 포화 후 최대 형광값을 의미하고, 연속적으로 RLC가 측정되었다. 빛은 8 단계(PAR 0, 127, 192, 288, 424, 634, 833, 1161 및 1514  $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )에서 최대 1514  $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 로

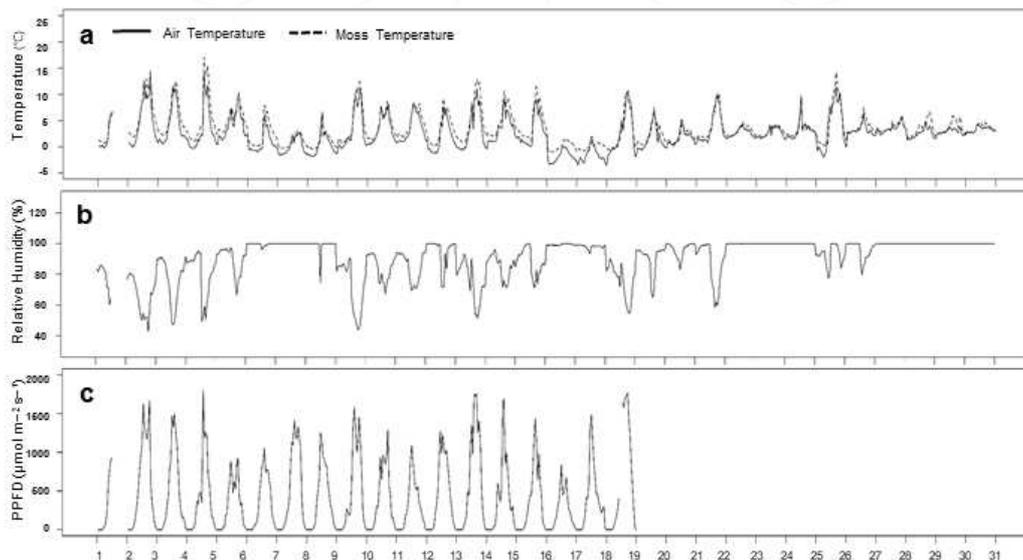
연속적으로 증가하도록 설정하고, 각 단계마다 10 초 동안 지속되는 동안 광계 II의 상대 전자 수송율(ETR)을 측정하였다. RLC는 Platt 등(1981)의 방법에 따라 광량에 대한 ETR 값의 그래프로 피팅하였다. 그 후  $\alpha$ ,  $ETR_{max}$ ,  $E_k$  값을 계산하였다.  $ETR=Y(II)\times PPFD\times 0.84\times 0.5$ 의 식으로 구하였다. 이 식에서  $Y(II)$ 는 광계 II의 유효 광자 수율, PPFD는 광량, 0.84는 광계에 의해 흡수된 광량의 평균율(Ehleringer 1981), 0.5는 두 광계에 흡수된 광자를 설명하는 상수이다(Roberts et al. 1996). 총 엽록소 양은 CCM-300 Chlorophyll Content Meter(Opti-Sciences Inc., Hudson, NH, USA)를 이용하여 측정하였다.

#### 라. 통계적 유의성 검증

통계적 유의성은 GraphPad Prism 5 소프트웨어의 일원 분산 분석 및 Tukey 검정을 사용하여 검증했다(\*  $p<0.05$ , \*\*  $p<0.01$ , \*\*\*  $p<0.001$ , ns 유의하지 않거나  $p>0.05$ ). Pearson's correlation test를 사용하여 매개 변수간의 상관 관계를 분석했다.

### 3. 결과 및 토의

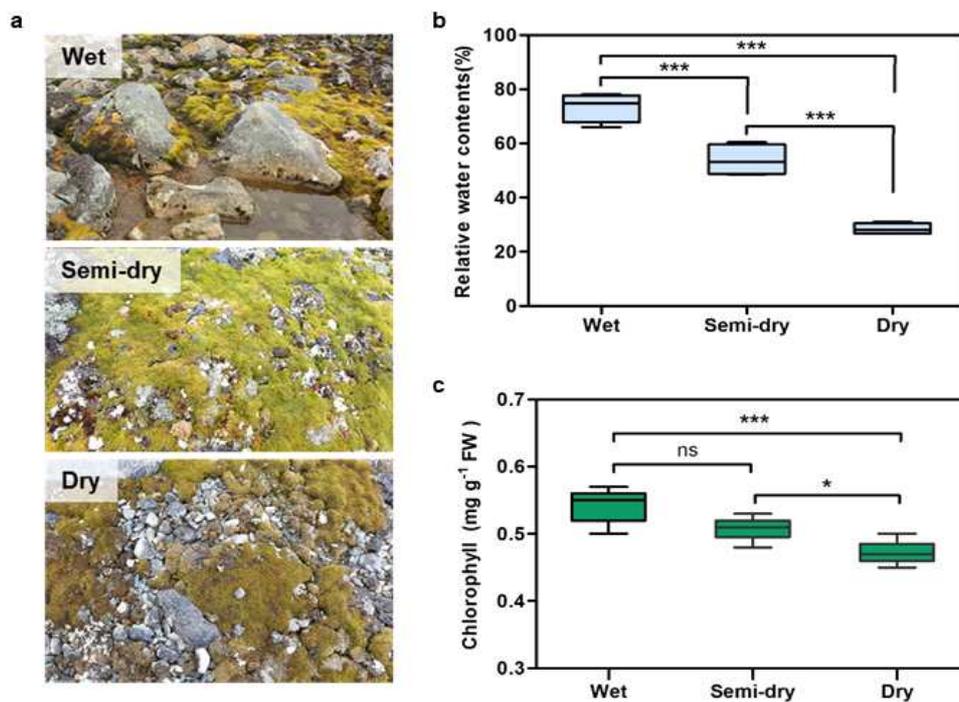
중간 환경에 서식하는 낮깃털이끼 개체군에 대한 미기후 조건(식물체 온도, 기온, RH 및 PPFD)을 측정하였다(Figure 2).



**Figure 2.** Daily course of microclimatic variables in *Sanionia uncinata* habitats measured at research site KGLE-09 (62° 13' 13" S 58° 46' 18" W) near the King Sejong Antarctic Station (Barton Peninsula, King George Island). Data averaged over 10-min intervals include (a) temperatures (°C) of the air and moss thallus, (b) relative humidity (RH, %), and (c) photosynthetic photon flux density (PPFD,  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ).

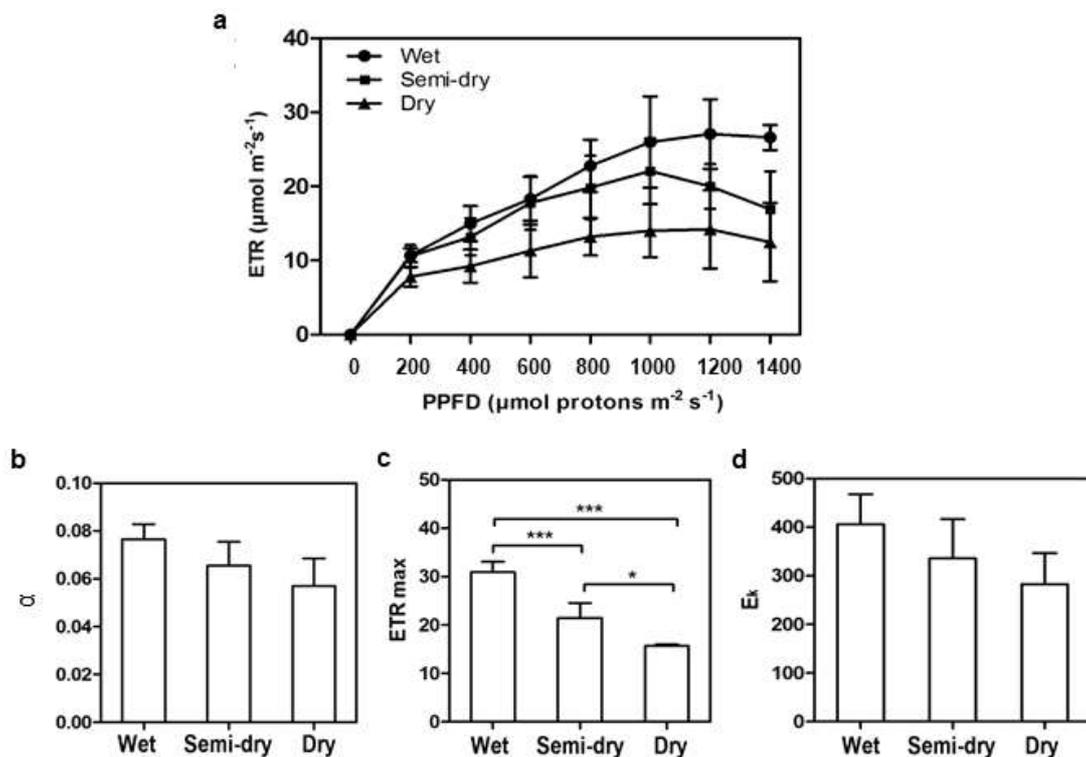
이 기간 동안 식물체 온도의 일일 최고값은 1.1°C에서 17.1°C까지 상당히 큰 폭의 변화를 나타냈다. 반대로, 최저값은 -0.9°C에서 2.8°C로 변화폭이 상대적으로 작았다. 식물체 온도의 평균값은 낮에는 4.4°C, 밤에는 1.6°C로, 주변 공기 온도에 비해 낮에는 1.1°C, 밤에는 0.9°C 더 높았다. 상대습도는 일반적으로 온도가 상승함에 따라 감소하지만 40 % 이하로 떨어지지 않았으며, 식물체 온도가 5°C로 떨어질 때 거의 포화되었다. 평균 광량은 관찰 기간 동안  $426 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 이었다. 한편, 맑은 날에는  $1,700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 보다 높아지기도 했으며, 부분적으로 흐린 날에는  $1,000 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 보다 낮았다.

낮깃털이끼 개체군을 서식지의 수분 구배에 따라 3가지로 구분하였다. 작은 웅덩이 근처에서 자라는 개체군은 다습 개체군으로 지정하고, 평평한 땅에서 뻗뻗한 카펫으로 자라는 녹색 개체군은 중간 개체군, 돌이 많은 땅에서 자라는 갈색 개체군은 건조 개체군으로 지정하였다(Figure 3a). 예상대로 각 개체군의 RWC는 다습(평균 73.4%) > 중간(53.9%) > 건조(28.5%) 순서로 감소했다(Figure 3b). 엽록소 함량은 다습에서 건조로 점진적으로 감소하면서 RWC와 유사한 패턴을 보였지만, 그 차이는 RWC만큼 유의하지는 않았다(Figure 3c).



**Figure 3.** Distinguishing characteristics of the selected *Sanionia uncinata* colony types used in this study. (a) Photos of microhabitats of the three colonies designated Wet, Semi-dry, and Dry, (b) relative water contents (RWC), and (c) total chlorophyll contents of the three colony types. All data are presented as the mean  $\pm$  SD ( $n = 4$ ). Statistically significant differences are represented by different letters above the boxplot (analysis of variance and Tukey test,  $*p < 0.05$ ,  $***p < 0.001$ , ns:  $p > 0.05$ ).

RLC는 광량 차이에 따른 식물의 광합성 반응을 해석하는 데 사용될 수 있기 때문에, 광 포화점까지 광량을 변화시키는 동안 ETR 변화를 그래프로 나타내었다(Figure 4a). 이 과정에서 RWC가 감소함에 따라 ETR 값도 감소했다. 식물에서 건조 스트레스는 빛의 입력과 광합성 효율 사이의 불균형을 유발하여 식물의 광합성 활동을 억제한다(Foryer and Noctor 2000). 낮깃털이끼의 경우, 이러한 광합성 억제는 전형적인 광량 의존적 방식으로 발생하였으며, RWC 감소에 따라 모든 광량 범위에서 ETR이 감소하였다. 또한 RLC에서 몇 가지 중요한 매개 변수를 추출하였다(Figure 4b-d). 파생된 모든 매개 변수들인  $\alpha$ , ETR<sub>max</sub> 및  $E_k$ 는 건조도가 증가함에 따라 모두 유사하게 감소하는 패턴을 보였다. 다습 개체군과 비교하여, 중간과 건조 개체군에서 ETR<sub>max</sub>가 각각 15% 및 26% 감소하였다. 동시에  $\alpha$ 는 각각 26%와 46%,  $E_k$ 는 17%와 30% 감소하여 낮깃털이끼의 광포화에 대한 시작 임계값이 낮아짐을 알 수 있었다.



**Figure 4.** Changes in the photosynthetic parameters of *Sanionia uncinata* among the Wet, Semi-dry, and Dry colonies. (a) Rapid light curve (RLC) plotted as the electron transport rate vs. the photosynthetic photon flux density (PPFD), (b) photosynthetic efficiency ( $\alpha$ ), (c) maximum electron transport rate (ETR<sub>max</sub>,  $\mu\text{mol electrons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), and (d) saturation irradiance ( $E_k$ ,  $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ). All data are presented as the mean  $\pm$  SD ( $n = 5$ ). Statistically significant differences are represented by different letters above the bar (analysis of variance and Tukey test,  $*p < 0.05$ ,  $***p < 0.001$ ).

결론적으로, 낮깃털이끼의 경우 RWC의 감소는 중간과 건조 개체군의 광합성 특성을 일부 변화시켰다. 첫째, RWC 감소에 따라 엽록소 함량이 감소하였다. 이러한 현상은 애기장대(Senthil-Kumar et al. 2010), 벼(Wang, et al. 2010), 양치식물 *Vittaria lineata* (Minardi et al. 2014), 이끼 *Atrichum androgynum* (Guschina et al. 2002)를 포함한 다양한 식물에서 건조 스트레스로 인한 광합성 손상의 지표로 사용된 것과 일치한다. RWC 감소는 또한  $\alpha$ , ETRmax, Ek 및 결과적으로 RLC의 감소를 초래했다. Maxwell and Johnson (2000)에 따르면, 스트레스 조건에서 RLC의 감소는 전자의 생성과 이용 사이의 불균형의 결과로 인한 광계 II의 광억제 현상을 나타낸다(Foryer and Noctor 2000). 이 연구에서 얻은 데이터로부터, 이용 가능한 물의 감소는 낮깃털이끼의 광합성 활성화에 부정적인 영향을 미칠 것으로 추측할 수 있다. 본 연구 결과와 달리 Nakatsubo (2002)는 킹조지섬 낮깃털이끼의 순광합성량은 수분 함량에 의해 크게 영향을 받지 않았다고 지적했다. 그 논문에서 적용된 가장 낮은 수분 함량은 280%였는데, 본 연구에 적용된 RWC 73.7%로 치환될 수 있으며, 이는 다습 개체군과 동일한 수치이다. 따라서 두 연구 결과 간 불일치는 본 연구가 이전 연구보다 더욱 건조한 환경 조건에서 실험을 수행했기 때문인 것으로 판단된다.

킹조지섬을 포함한 남극반도는 20세기 후반에 가장 극심한 온난화를 경험했으며 21세기 후반에 더 따뜻해질 것으로 예상된다(Lee et al. 2017). 그러므로 낮깃털이끼와 같이 상대적으로 많은 양의 물이 필요한 식물의 경우 온난화가 계속되고 강수가 불충분한 환경에서는 성장이 둔화되고 생체량이 감소할 가능성이 높다(Stanton et al. 2014).

## 제 5 절 바톤반도 지의류 *Cladonia borealis*의 온도와 수분 관련 광합성 특성 분석

### Assessment of Photosynthetic performance of the Antarctic fruticose lichen *Cladonia borealis* in response to microclimate changes

#### 1. 서론

남극은 일조량이 높고 강한 바람과 낮은 온도로 인해 이 지역의 광합성 생물체는 반복적인 건조-재수화 과정을 겪기 때문에 남극의 식생은 주로 poikilohydric 특성을 갖는 지의류와 이끼로 구성된다(Bewley 1979). Poikilohydric 기능은 오랜 기간 동안 상대 습도 10% 미만의 건조한 환경에서 생존할 수 있게 하며, 지의류와 이끼는 이 기능으로 인해 육상식물이 적응하지 못한 사막, 북극 및 남극 생태계와 같은 극한 환경을 차지할 수 있다(Kappen 1988). 또한 지의류와 이끼를 포함한 비관속식물은 극심한 건조 이후 빠르게 회복할 수 있는 건조내성 기작을 갖고 있다. 특히 1시간 이내의 급속건조 과정 후 수분 내 호흡 및 광합성 기작을 회복할 수 있다.

남극 환경에서 지의류는 반복되는 건조-재수화과정을 겪으며, 이 과정에서 엽록체 및 미토콘드리아에 반응성 산소종(ROS)이 발생한다. 건조 조건에서 광계의 반응센터는 낮은 빛에서도 쉽게 손상되는데 빛 에너지를 광화학 또는 형광반응에 사용하는 것보다 열 방출의 형태로 사용하는 것이 빠르기 때문에 열 소산(thermal dissipation)은 효과적인 광보호 기작으로 알려져 있다(Heber 2008; Komura et al. 2010; Veerman et al. 2007). NPQ(non-photochemical quenching)라는 열 소산 진행률은 다른 카로티노이드와 가역적 크산토펴 사이클을 이용하여 광산화 손상으로 인한 ROS 형성을 어느 정도 예방하는 것으로 알려져 있다.

지의류는 균류(곰팡이)와 공생광합성생물 (조류 및 남세균)로 구성된 복잡한 공생 유기체이기 때문에 지의류의 NPQ 반응은 균류와 공생 광합성생물 또는 다른 공생생물 사이의 상호작용으로 인해 다양하게 나타난다. 몇몇 지의류의 NPQ 반응은 일조량(빛 세기 및 지속 시간) 및 건조 정도에 의해 다르게 조절되는 것으로 나타났다. 분자 수준에서 NPQ 과정동안 일어나는 자세한 생리학적 반응연구가 더 수행되어야 하지만, 이전까지의 연구는 지의류가 아마도 그들의 서식지에 적응된 종 특이적 생리반응을 갖고 있음을 시사한다.

최근 수십 년 간 지의류는 환경 모니터링, 특히 대기 오염의 영향을 연구하는 데 널리 사용되었다. 그러나 최근 남극 지역의 기후 변화를 연구하기 위한 생물 지표로서의 역할이 재평가되었다(Sancho et al. 2017; 2019). 약 400 종의 지의류가 남극 반도의 건조하고 바위가 많은 지역에 서식하고 있다. *Cladonia* 속은 수상 지의류로 킹조지 섬에 11종, 남극 대륙에 27종이 보고되어 있다(Stenroos, 1993). 이 중 *Cladonia borealis* S. Stenroos는 극지방과 안데스 산맥의 고산 지대에서 발견되며 남극 식생의 우점종 중 하나이다(Kim et al. 2006; Osyczka and Olech 2005; Park 2012). 현재까지 *C. borealis*에 대한 연구는 종 동정, 지의체 내 균류 및 공생광합성생물의 종 다양성, 진화과정 및 지리적 분포에 중점을 두어왔다(Park et al. 2012; 2015; Lee et al. 2008). 그러나 남극 *C. borealis*의 미기후 변화에 따른 광합성 반응에 초점을 둔 생리생태연구는 없었다.

본 연구는 2019년 남극 하계연구 기간 동안 KGL01 지역(62°14'24''S, 58°44'36''W, 고도 39 m)의 미기후 변화에 반응하는 *Usnea* sp.와 *C. borealis*의 광합성능을 관측하고 비교하였다. 또한 *C. borealis*가 건조-재수화 과정에 어떻게 반응하는지 이해하기 위해, 통제된 실험실 조건에서 광계II(PSII)의 광화학 변화를 조사했다. 이를 통해 현장 모니터링 및 실험실 연구를 통해 밝혀진 *C. borealis*의 광합성 특성이 남극기후 변화가 광합성생물에 미치는 영향을 평가하기 위한 생물지표자(bio-indicator)로 활용가능한지를 논의하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 미소기후의 측정

현장 관찰은 2019년 1월 23일부터 30일까지 킹조지섬 바톤반도 KGL01 현장 (KGL01: 62°14'24''S, 58°44'36''W)에서 수행되었다. 토양수분량은 토양수분 스마트센서(미국 WA, Decagon Devices, #EC-5)를 깊이 10 cm에 설치하여 10분 간격으로 측정하였고 HOBO Micro Station Data Logger(#H21-002, 미국 MA, 미국 매사추세츠)로 기록했다. 누적 강우기록(10분 간격)은 세종기지 AWS(Automatic Weather System) 자료를 활용했다.

### 나. 남극현장에서 지의류 엽록소 형광 측정법

*C. borealis*와 *Usnea* sp.의 엽록소 형광 측정을 하였고, 주변 이끼의 형광 간섭을 제거하기 위해 신중하게 개체를 선별하였다. 엽록소 형광 측정은 데이터 수집 시스템(MONI-DA)과 3개의 형광 검출기(MONI-head/485)로 구성된 HEX-PAM을 연결한 MONI-PAM (MONITORING-PAM Multi-Channel Chlorophyll Fluorometer, Germany Walz, Germany)을 사용하였다. MONI-PAM의 작동방법 및 그 적용은 Porcar-Castella

et al. (2008)를 참고하였다. 광포화 펄스 및 측정광의 광원은 청색 LED(발광 최대값:  $455 \pm 9$  nm)를 사용하였다. 이 연구에서 측정을 위한 강도는  $0.9 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이고 포화 펄스는 약  $2,500 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이며 지속시간은 최대 2초로 설정하였다. 샘플에 대한 actinic light의 영향을 줄이기 위해 측정 포인트 사이에서 조명을 끄고 펄스 분석을 포화시키기 전에 몇 초 동안 자동으로 켜지도록 하였다. 20분 간격으로 포화 펄스가 공급되기 전후의 형광(F 및 Fm')이 검출되었다. 동시에 PPFD와 온도도 기록되었다. 총 6개의 형광 검출기를 수평축의  $120^\circ$ 각도로 지의류 샘플에 고정하여 설치하였으나, 2개 장비에서 데이터가 불규칙하게 측정되어 추후 연구에서 제외되었다.

#### 다. 건조 및 재수화 처리

공기 건조 실험은 바튼반도의 세종기지 실험실에서 수행되었다. 재수화는 증류수를 사용하였다. 건조된 *C. borealis* 개체는 약 10분 내에 재수화 상태에 도달하여 총 중량이 더 이상 증가하지 않음을 확인하였다. 이 결과를 바탕으로 다음 방법을 사용하여 지의류 샘플의 재수화 과정을 수행하였다. 증류수를 샘플 전체에 고르게 스프레이하고 10분 뒤 Kimwipes를 사용하여 개체에 남은 여분의 물을 제거한다. 공기 건조 실험 전에, 위의 방식으로 10개 샘플의 재수화를 진행하였다. 공기 건조 실험은 공기 습도는 50%, 실내 온도  $16^\circ\text{C}$ , 광 강도는  $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  실험실 조건에서 수행되었다. 지의류의 최대광합성 효율(Fv'/Fm')은 MINI-PAM-II 형광계 (Walz, Effeltrich, Germany)를 사용하여 측정하고, 중량의 변화가 없을 때까지 10분 간격으로 기록하였으며 약 3시간이 걸렸다. 완전한 건조 이후 추가적인 21시간 공기 건조 후, 형광은 더 이상 검출되지 않았다. 스프레이로 증류수를 공급한 이후 약 10분과 3시간 후 형광을 측정하였다. 건조과정 중 중량의 변화는 분석저울(#PG503-S, METTER TOLEDO, Greifensee, Switzerland)을 사용하여 0.1 mg의 정밀도로 기록하였다.

남극 지의류 *C. borealis*는 KGL01 지역에서 채집하여 극지연구소의 실험실로 옮겼다. 샘플을 성장 챔버에서 3일마다 수분을 공급하였고, 명 : 암 = 18 : 6 시간,  $8^\circ\text{C}$ ,  $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  빛 세기에서 안정화시켰다. 느린 건조(slow desiccation, SD) 및 빠른 건조(rapid desiccation, RD)는 20 ml의 증류수를 포함한 박스(RH 85%, SD) 또는 실리카 겔을 포함한 박스(RH < 5 %, RD)에서 처리되었다. 지의류 샘플은 건조박스(20 cm × 15 cm × 20 cm)의 바닥으로부터 10 cm 위의 메쉬 플레이트에 놓았다.  $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 에서 2시간의 광활성화 후 10개의 샘플을 각각의 SD 및 RD 처리에 사용하였다. 건조 처리 후 재수화는 증류수를 스프레이로 제공하였고, 과량의 물을 제거한 후 재수화 샘플을 SD 박스(RH 85%)로 옮겼다. 건조-수화 실험은 동일한 처리 하에서 새벽 빛( $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ), 또는 주

간 빛( $220 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) 조건에서 수행되었다. 엽록소 형광 측정 실험은 3회 생물학적으로 반복하였다.

#### 라. 실험실에서 엽록소 형광 측정

엽록소 형광은 건조-재수화 처리 후 IMAGING-PAM(Walz, Effeltrich, Germany)을 사용하여 측정하였다. 어두운 곳에서 6시간 후, 강한 포화 펄스에 의해 유발된 최소 엽록소 형광( $F_0$ ) 및 최대 엽록소 형광( $F_m$ )을 측정한 다음, 최대 광화학 양자수율( $F_v/F_m$ )을 계산하는 데 사용했다:  $F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$  (Genty et al. 1989). 암조건에서 *C. borealis* 샘플의 평균  $F_v/F_m$  값은  $0.62 (\pm 0.03)$ 였다. 건조 및 재수화 처리는 2시간의 광활성화 후 수행되었다. 유효 PSII 양자 수율( $Y_{II}$ ) 또는  $F_v'/F_m' = (F_m' - F) / F_m'$ 은 광활성화 샘플로부터 계산되었다(Genty et al. 1989).  $F_m'$  값은 빛에 적응된 샘플의 최대 형광 수율을 나타내고  $F'$  값은 포화 펄스를 적용하기 직전의 형광 수준을 나타낸다(Genty et al. 1989). RLC(Rapid Light Curve)는 전자 수송의 포화 특성과 식물의 전체 광합성능을 보여준다(Ralph and Gademann 2005). 건조-재수화 사이클의 RLC 실험은 30분마다  $50 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  및  $220 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  조건에서 수행되었다. 광화학적 형광 소광 계수  $q_P$ 는  $(F_m' - F) / (F_m' - F_0)$ 에서 추론되었다(Kooten and Snel 1990; Schreiber et al. 1986). 비-광유도된 비-광화학적 형광 퀸칭  $Y(\text{NO})$ 의 양자 수율은  $1 / [\text{NPQ} + 1 + q_L x (F_m/F_0 - 1)]$ 에서 계산되었다(Kramer et al. 2004). 광-유도된 NPQ의 양자 수율은  $Y(\text{NPQ}) = 1 - Y(\text{II}) - Y(\text{NO})$ 로부터 추론되었다(Kramer et al. 2004). 곡선 피팅 방법은 Ralph and Gademann (2005)의 방법을 따라 수행되었다.

#### 마. 지의류 DNA 추출 및 종 동정

비슷한 크기와 무게를 가진 40개의 지의류 샘플을 KGL01 현장에서 수집하여 세종기지 실험실로 옮겼다. DNA 추출 전에, 2개의 개체를 70% 에탄올 및 0.1% 트윈 20으로 2회 세척하고 증류수로 행구었다. 건조된 샘플을 액체 질소로 분쇄하고 DNA를 CTAB 방법으로 추출했다. 지의류의 동정은 균류 특이적 ITS1 및 ITS4 프라이머를 사용하였다(White et al. 1990). 정제된 PCR 산물의 염기서열을 시퀀싱분석(Bionics, Seoul, Korea)에 사용하였고 시퀀싱 결과를 NCBI에서 BLAST 검색에 사용하였다.

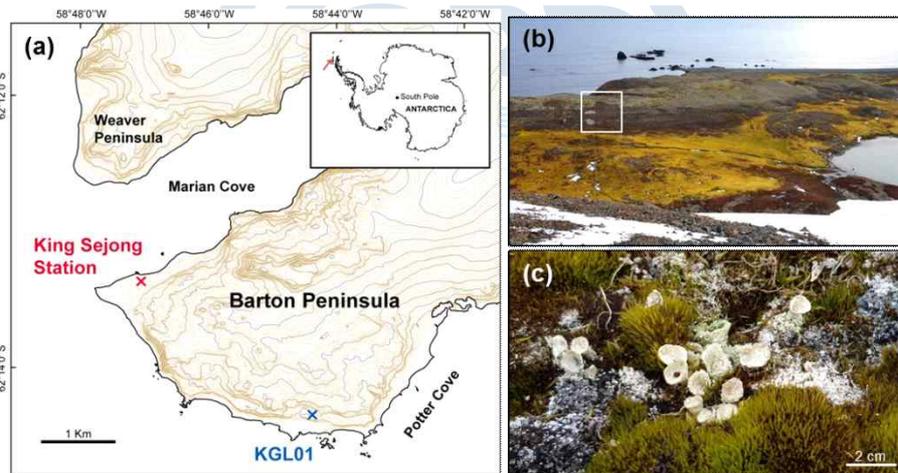
#### 바. 통계 분석

Figure 3의 데이터는 Origin 8.5(OriginLab Corp. MA, USA)를 사용하여  $Y(\text{II})$ 와 3개의 미소기후 파라미터 사이의 선형 피팅 분석을 수행하였다. 이 선형 피팅 분석으로부터 기울기, 표준 오차(SE) 및  $R^2$ 를 계산 하였다.

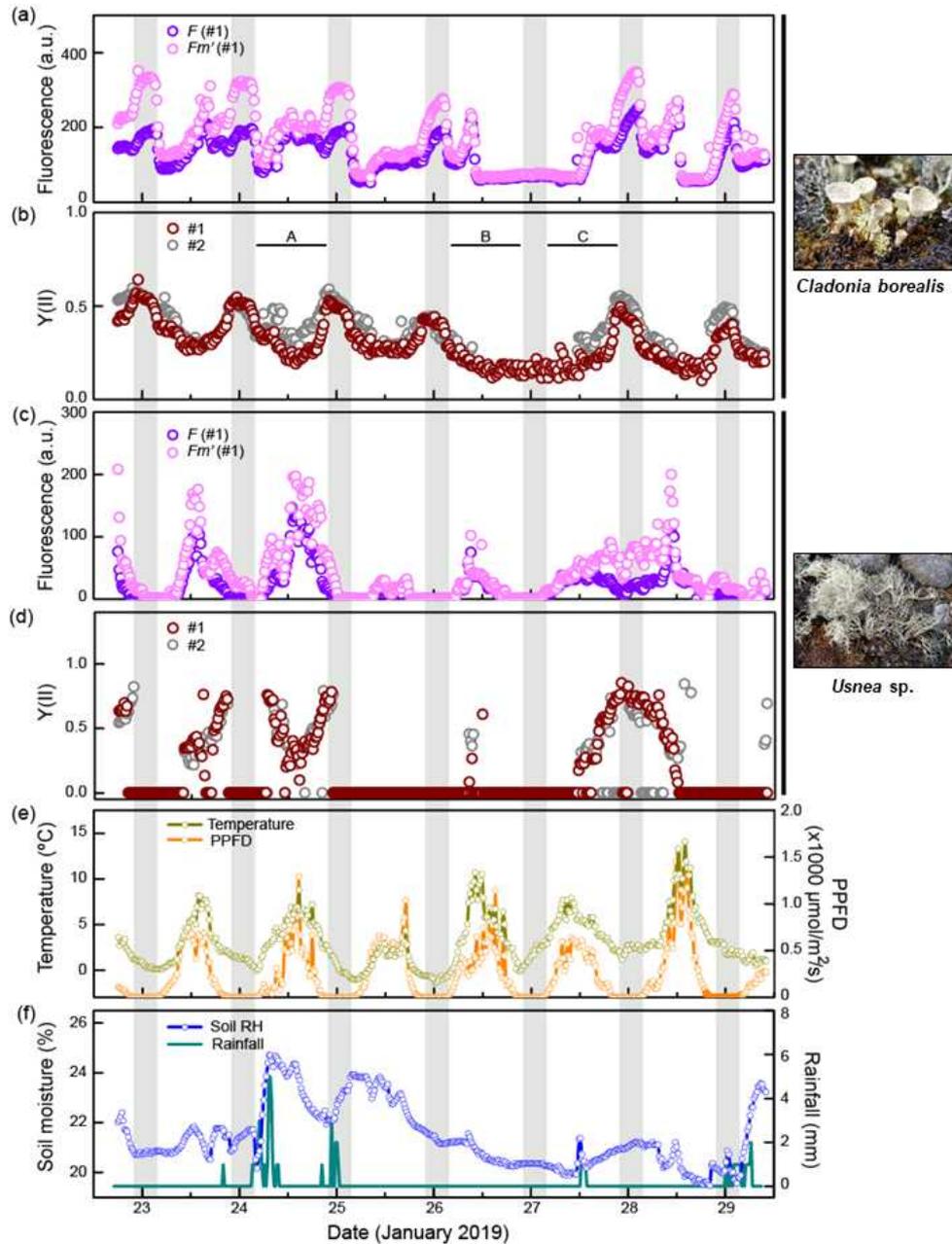
### 3. 결과 및 논의

#### 가. 사이트 설명 및 지의류 종 동정

연구 지역(KGL01 : 62°14'24''S, 58°44'36''W, 고도 39 m)은 킹조지섬 바튼반도의 포터코브 근처 해변에서 바람이 부는 언덕이다. 이 지역 연평균 기온과 강수량은 -1.1°C와 42.8 mm이며, 12월에서 2월까지 여름철 평균 기온은 2.1°C, 평균 누적 강수량은 27.3 mm로 연간 평균 강수량보다 낮다. 이곳의 식생은 다양한 지의류와 이끼가 나타나고, 녹은 눈, 강우 또는 이슬에서 물이 공급된다. 지형적 특징에 의한 수분구배로 식생이 뚜렷이 구분되며, 하천에 가까운 지역에 이끼류 (*Sanionia uncinata*, *Corisodontium acyphyllum*) 및 지의류 (*Cladonia*, *Psoroma*, *Ochrolechia*)가 우점하고 먼 곳에 *Usnea*가 우점한다. *Cladonia borealis*는 중간지역에서 건조지역에 걸쳐 분포하고, 종의 성숙한 모양은 키 3 - 5 cm, 지름 1 - 2 cm의 줄기를 가지고 있다. 상부 피질은 곡선형 덮개를 형성한다 (Figure 1).



**Figure 1.** Location and landscape of the study site (KGL01: 62° 14' 24" S, 58° 44' 36" W), and an image of *C. borealis* at the field. (a) KGL01 on the map, placed near Potter Cove in Barton Peninsula. (b) This site had the well-distinguished vegetation that consisted of mosses and lichens. The area spanning from brown to grey parts were composed of lichens, and the observation was performed at the area indicated by the white box. (c) Several thalli of *C. borealis* accompanied by the moss *Chorisodontium acyphyllum*.

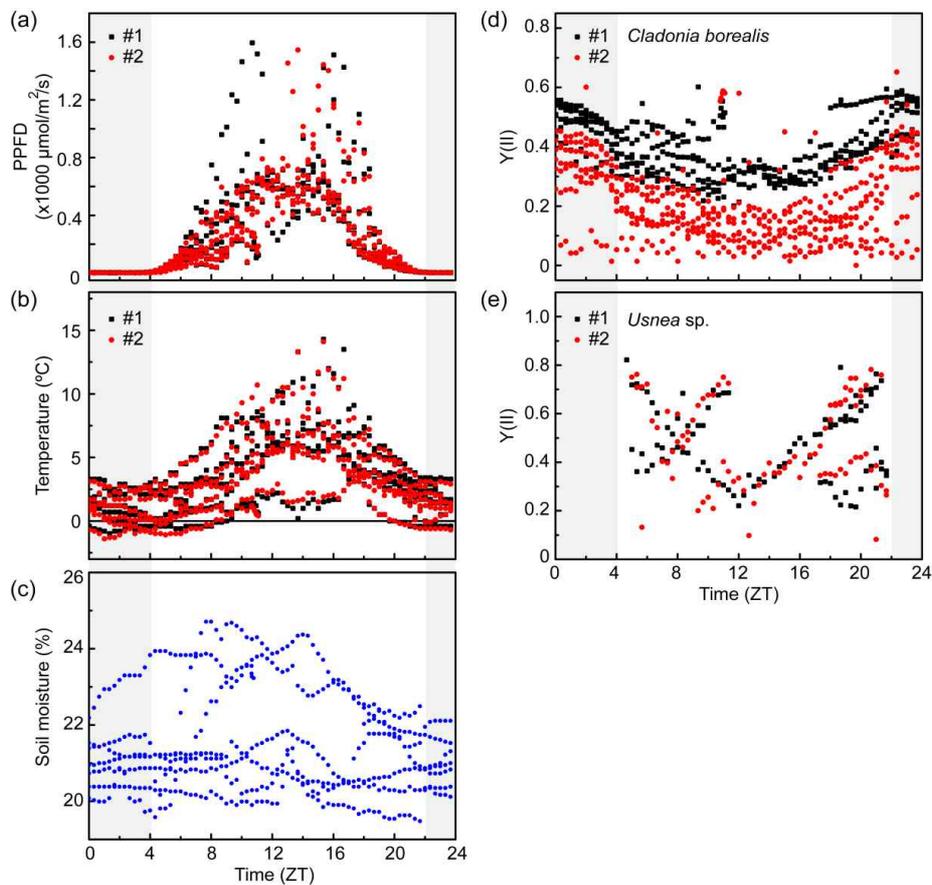


**Figure 2.** Field observation of the fluorescence ( $F$  and  $Fm'$ ) and  $Y(II)$  value of *C. borealis* and *Usnea sp.* and microclimates at the site. Grey background indicates night time (10 PM to 4 AM) when PPFD was less than  $10 \text{ mol}/\text{m}^2/\text{s}$ . (a, b) Fluorescence and  $Y(II)$  value of *C. borealis* (c, d) Fluorescence and  $Y(II)$  value of *Usnea sp.* Data were obtained from two individual thalli (Sample #1, #2). Patterns of fluorescence ( $F$  and  $Fm'$ ) of *C. borealis* and *Usnea sp.* were similar between the two samples. (e) Changes in temperature ( $^{\circ}C$ ) and photosynthetic photon flux density (PPFD,  $\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ). (f) Changes in volumetric soil moisture (%) and rainfall (mm) during observation.  $F$ , current fluorescence;  $Fm'$ , maximum fluorescence.

*C. borealis*와 *Usnea* sp.의 광합성능 모니터링 현장 조사는 2019년 1월 22일부터 30일까지 수행되었다(Figure 2). 광량(PPFD), 기온( $^{\circ}\text{C}$ ), 강우(mm) 및 토양 수분량(%)과 같은 미기후 요인도 10 분마다 기록되었다. 지의류 샘플은 현장에서 형태학적 및 해부학적 특징에 기초하여 동정하였고, 이후 ITS 시퀀싱에 의해 종을 최종 확인하였다. 지의류 종 동정은 곰팡이 특이적 ITS 영역 (~900 bp)을 증폭시켜 시퀀스를 분석하였고, BLAST 분석을 통해 98%의 쿼리 적용 범위, E값 = 0 및 99.3% 동일성을 갖는 *C. borealis*(NCBI accession: DQ534459)로 식별하였다.

나. 밤과 새벽 시간에 활발한 *C. borealis* 광합성 활동

밤은 PPFD값이  $10 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$  미만인 시간대로 설정하였고, 관찰기간 동안 일몰과 일출시간은, 오후 10시와 오전 4시로 밤의 길이는 약 6시간이었다(Figure 3).



**Figure 3.** Diurnal dynamics of (a) PPFD ( $\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$ ), (b) temperature ( $^{\circ}\text{C}$ ), (c) volumetric soil moisture (%), (d) the Y(II) of *C. borealis* and (e) the Y(II) of *Usnea* sp. These data were prepared from the observation during 22<sup>th</sup> to 30<sup>th</sup> of January in 2019. The grey shading indicates the night time (from 10 PM to 4 AM) defined by less than  $10 \mu\text{mol/m}^2/\text{s}$  of PPFD.

온도와 PPFD는 일주일 리듬에 따라 변했다. 온도 범위는  $-1^{\circ}\text{C} \sim 14^{\circ}\text{C}$ 였으며 밤에는  $3^{\circ}\text{C}$  아래로 떨어졌다. 낮 동안의 평균 기온은  $0.9^{\circ}\text{C} \sim 6.0^{\circ}\text{C}$ 였으며 가장 추운 날은 1월 25일( $-1.1^{\circ}\text{C} \sim 4.3^{\circ}\text{C}$ )이었다. 평균 일일 PPFD 값은 일반적으로  $300 - 350 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이고, 가장 강한 일조량은 1월 28일에 기록되었으며, 평균값은  $466 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이고 최대  $1,595 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 이다(Table 1; Figure 2e). 토양 수분의 범위는  $19.5 \sim 24.7\%$ 였고 평균값은 3일(1월 23일~25일)동안  $21 \sim 23\%$  높았지만, 1월 26일 ~ 28일은  $21\%$  미만이었다. 누적 강우는 10 분마다 기록되었고, 총 일일 강우는 무작위로 변했습니다. 비가 가장 많이 온 날은 1월 24일(60 mm)과 1월 25일(18 mm)이었고, 다른 모든 날 동안 비가 내리지 않았거나 비가 10mm 미만이었다(Table 1; Figure 2f). 당시 지의류 주변의 상대 습도(RH) 데이터를 직접 얻을 수 없었으나, 대신에 용적 토양 수분량과 누적 강우량 기록에 근거하여 건조함을 예상할 수 있었다(Inoue et al. 2014).

**Table 1.** The mean, min and max values of Y(II) of *C. borealis* and the microclimates. These data were excluded night time. Character in parentheses indicates Region in Figure 2.

Date	Y(II)	PPFD	Temp.	Soil moisture	Air RH	Rainfall*	
		$\mu\text{mol/m}^2/\text{s}$	$^{\circ}\text{C}$	%	%	mm	
23 <sup>th</sup>	Mean	0.335	323	3.37	0.213	90.34	2
	SD	( $\pm 0.044$ )	( $\pm 260$ )	( $\pm 2.47$ )	( $\pm 0.004$ )	( $\pm 3.04$ )	
	Min	0.263	10	0.10	0.206	83.50	
	Max	0.433	730	8.20	0.219	94.20	
24 <sup>th</sup> (A)	Mean	0.287	319	4.41	0.233	87.11	60
	SD	( $\pm 0.061$ )	( $\pm 300$ )	( $\pm 1.97$ )	( $\pm 0.011$ )	( $\pm 1.36$ )	
	Min	0.190	5	0.10	0.202	84.60	
	Max	0.480	1295	8.80	0.247	90.40	
25 <sup>th</sup>	Mean	0.288	355	0.92	0.231	78.27	18
	SD	( $\pm 0.033$ )	( $\pm 275$ )	( $\pm 1.38$ )	( $\pm 0.007$ )	( $\pm 5.64$ )	
	Min	0.241	5	-1.10	0.217	69.94	
	Max	0.362	1040	4.30	0.239	90.70	
26 <sup>th</sup> (B)	Mean	0.189	342	4.32	0.208	82.96	0
	SD	( $\pm 0.042$ )	( $\pm 256$ )	( $\pm 3.06$ )	( $\pm 0.004$ )	( $\pm 3.16$ )	
	Min	0.115	4	-0.60	0.203	77.41	
	Max	0.294	1146	10.50	0.216	90.80	
27 <sup>th</sup> (C)	Mean	0.205	300	4.77	0.204	89.31	9
	SD	( $\pm 0.069$ )	( $\pm 210$ )	( $\pm 1.51$ )	( $\pm 0.003$ )	( $\pm 4.00$ )	
	Min	0.114	4	2.10	0.199	81.20	
	Max	0.447	641	7.90	0.214	95.10	
28 <sup>th</sup>	Mean	0.202	466	5.99	0.204	90.06	1
	SD	( $\pm 0.043$ )	( $\pm 447$ )	( $\pm 3.37$ )	( $\pm 0.006$ )	( $\pm 5.66$ )	
	Min	0.100	3	2.20	0.195	80.10	
	Max	0.284	1545	14.10	0.212	96.60	

\* This is the sum of accumulated rainfall during one day.

광합성 형광값은 포화 펄스 이전(F)과 이후(Fm')에 엽록소 a에서 방출된 형광값을 나타내고, F와 Fm'의 차이는 효과적인 광합성 수율 Y(II)와 직접적으로 관련이 있다( $Y(II) = (Fm' - F) / Fm'$ ; Genty et al. 1989). 따라서 광합성 수율은 지의류가 미기후 변화에 어떻게 반응하는지 나타내는 지표가 된다. *Usnea* sp.의 광합성 수율은 토양 수분보다 PPFD 및 온도와 유의한 상관관계( $R^2 > 0.5$ )를 보였지만, *C. borealis*는 미기후요소와 낮은 상관 관계를 보였다(Table 2; Figure 4). 또한 *C. borealis*의 최대 Y(II) 값은 약 0.6으로 *Usnea* sp.의 값 0.8보다 낮다. 반면, *C. borealis* Y(II)의 비활성화 시간은 전체의 12%(57/491)로 *Usnea* sp.보다 약 6배 짧았다(69%, 340/490). 광합성의 비활성화 상태는 F(현재 상태)와 Fm'(최대 여기 용량) 값 사이에 차이가 없는 경우로 정의되며, 이는 광시스템이 광자를 획득하지 않음을 의미한다. 비활성화는 광억제 동안 또는 활성화 조건이 불충분한 경우에 발생한다. 그러나 *Usnea* sp.와는 달리 *C. borealis* 광합성능은 남극 지역에서 지속적이고 규칙적으로 반복되었다(Figure 2). 지의류의 광합성 활동시간대는 빛의 세기와 온도에 따라서 새벽(4:00-6:00), 주간 (6:00-22:00) 및 밤(22:00-4:00)으로 나눌 수 있다. *Usnea* sp.의 광합성 활동은 밤과 새벽에 거의 사라졌으며(90% 비활성화), 낮에는 가장 높았으나 활성화 시간은 58%에 불과했다. 그러나 *C. borealis*는 평균 Y(II)값이 밤에 가장 높았으며 새벽부터 낮까지 점차 감소했고, 비활성화 시간은 새벽과 밤에 약 7%, 낮에 약 14%로 현저히 낮았다(Table 3).

**Table 2.** Linear regression of Y(II) with three microclimate factors during all period of field observation.

Y(II) vs.		<i>C. borealis</i>		<i>Usnea</i> sp.	
		Slop (SE)	R <sup>2</sup>	Slop (SE)	R <sup>2</sup>
PPFD	#1	-2.163E-4 (1.53E-5)	0.344	-3.50E-4 (2.92E-5)	0.504*
	#2	-2.068E-4 (1.76E-5)	0.217	-6.27E-4 (3.22E-5)	0.713*
Temperature	#1	-0.013 (0.002)	0.104	-0.033 (0.004)	0.255
	#2	-0.023 (0.001)	0.261	-0.060 (0.004)	0.555*
Soil moisture	#1	-0.884 (0.400)	0.010	0.837 (0.999)	-0.002
	#2	1.664 (0.440)	0.026	-1.946 (1.221)	0.010

**Table 3.** The mean value of photosynthetic efficiency Y(II), PPFD and temperature changes by time ranges of dawn, daytime and night.

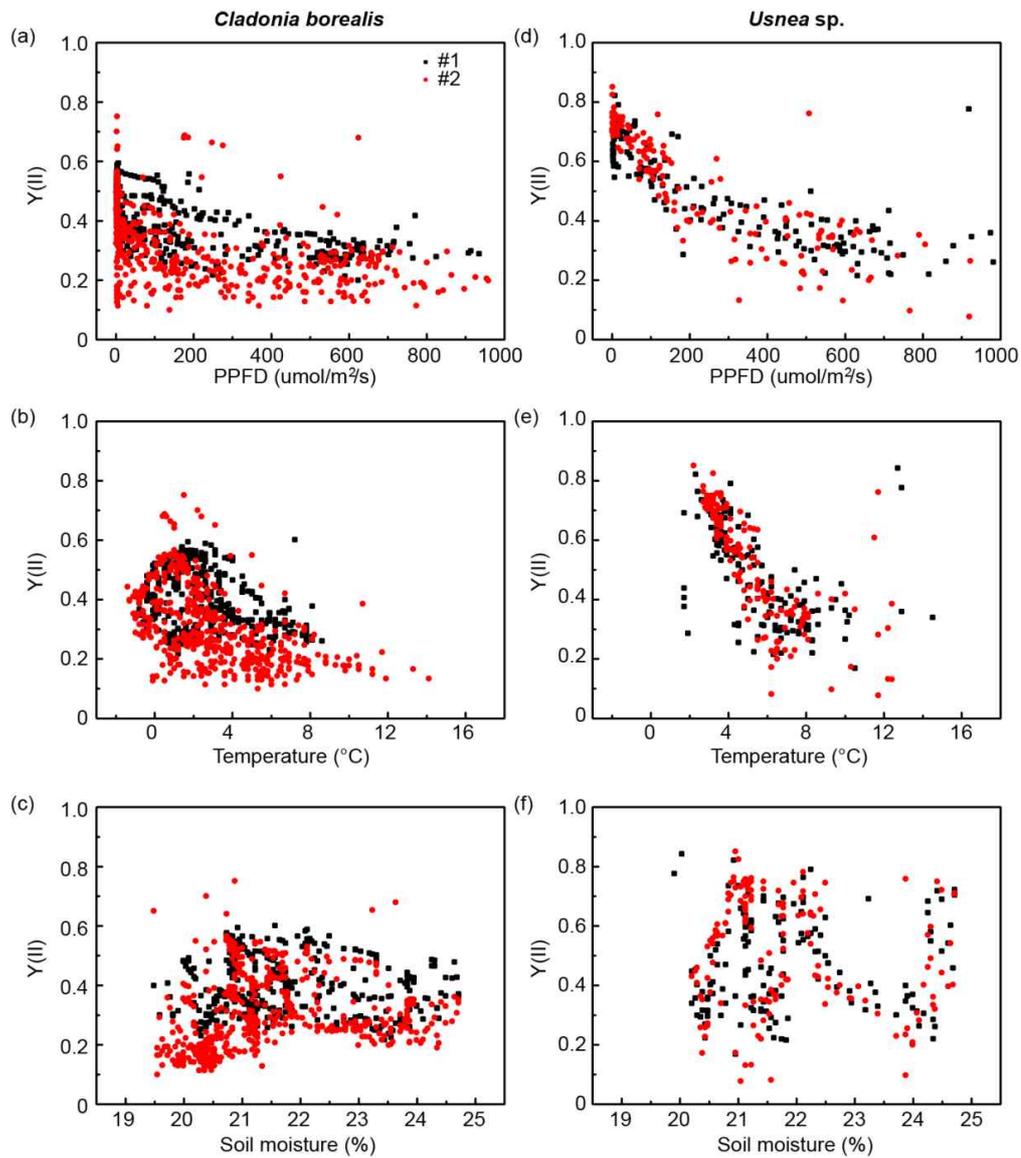
	Night	Dawn	Daytime
Time range	22:00-4:00	4:00-6:00	6:00-22:00
Total data points	133	42	316
PPFD (mol/m <sup>2</sup> /s)	4 (± 2)	47 (± 37)	357 (± 289)
Temperature (°C)	1.5 (± 1.3)	1.5 (± 1.5)	4.7 (± 2.9)
<i>C. borealis</i>			
Y(II)	0.41 (± 0.16)	0.31 (± 0.12)	0.26 (± 0.15)
Inactivation (%)*	7.1%	7.1 %	14.1%
<i>Usnea</i> sp.			
Y(II)	0.09 (± 0.23)	0.06 (± 0.19)	0.19 (± 0.25)
Inactivation (%)	87.6%	91.7%	58.9%

\* Percent of inactivation indicates a proportion of Y(II) = 0 in a total of data points, because of no difference between  $F$  and  $F_m'$  value.

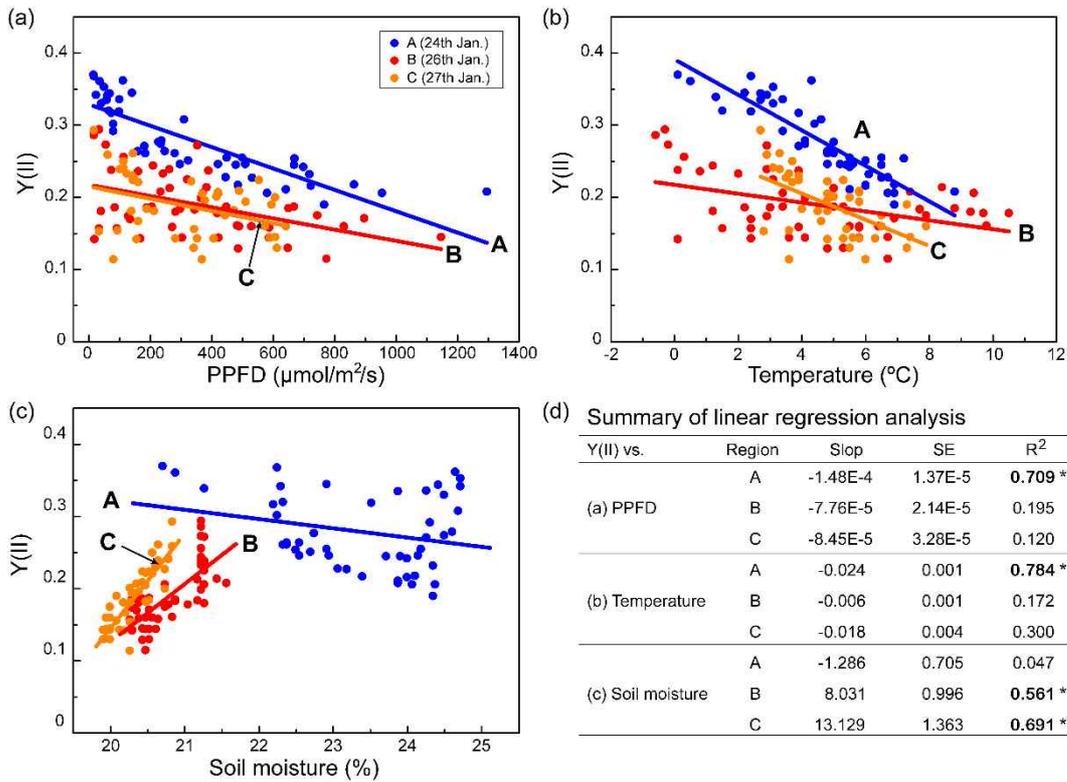
#### 다. *C. borealis*의 광합성 제한 요소 - 건조

*C. borealis*의 광합성 효율은 전반적으로 리듬을 보였으나, 흥미롭게도 1월 26일 야간의 최대 Y(II)값이 사라지는 불규칙한 패턴을 보였다. 이 날은 토양의 수분이 적은 건조한 날이었고, 약 이틀간 비가 오지 않은 조건이었다. 그러나 다음날 오후 비가 내렸고 그날 밤 Y(II)가 회복되었다. *C. borealis*의 Y(II)와 미기후와의 영향을 평가하기 위해, 토양 수분량에 따라 Y(II)의 관찰 기간을 습식(지역A, 1월 24일), 건조(지역B, 1월 26일) 및 재수화(지역C, 1월 27일)로 나누었다(Figure 2b and 5).

지역 A에서 Y(II) 값은 PPFD 및 온도와 강한 음의 상관성을 보였지만 토양 수분은 그렇지 않았다. 그러나 B지역과 C지역의 Y(II)는 PPFD 또는 온도의 일주기 리듬보다 낮은 수준의 토양 수분에 영향을 받는 것으로 보였다(Figure 5). 낮은 토양 수분과 *C. borealis*의 개체의 수분 함량과의 직접 연관성을 측정하진 못했지만, 1월 25일부터 26일까지 토양수분의 급격한 감소와 비 부족은 지의체가 건조되었음을 암시한다(Inoue et al. 2014). 또한, Y(II)와 토양 수분 사이의 강한 상관관계( $R^2 > 0.5$ )는 *C. borealis*에서의 건조가 높은 빛 또는 저온 조건보다 더 제한적인 요인임을 시사한다. 추가적으로 *Usnea* sp.는 건조 상태(1월 25일 - 26일)의 2일 동안의 형광( $F$  및  $F_m'$ )값이 다소 습한 기후의 1월 24일보다 상당히 낮았으며, 결국 비활성화되었다. 게다가 Y(II)는 1월 25일에 완전히 비활성 상태였으며, 아마도 이것은 평균 온도가 4°C이기 때문이다. 그러나 *C. borealis*의 Y(II)는 토양 수분이 21% 이하에 도달 할 때까지 활성화가 유지되었으며 이는 *C. borealis*가 *Usnea* sp.보다 건조된 조건에 더 잘 견딜 수 있음을 나타낸다.



**Figure 4.** Plots of Y(II) with three microclimate factors recorded during all period of field observation. (a–c) Data from two samples of *Cladonia borealis* (d–f) Data from two samples of *Usnea sp.* Black and red symbols indicate the sample #1 and #2, respectively.



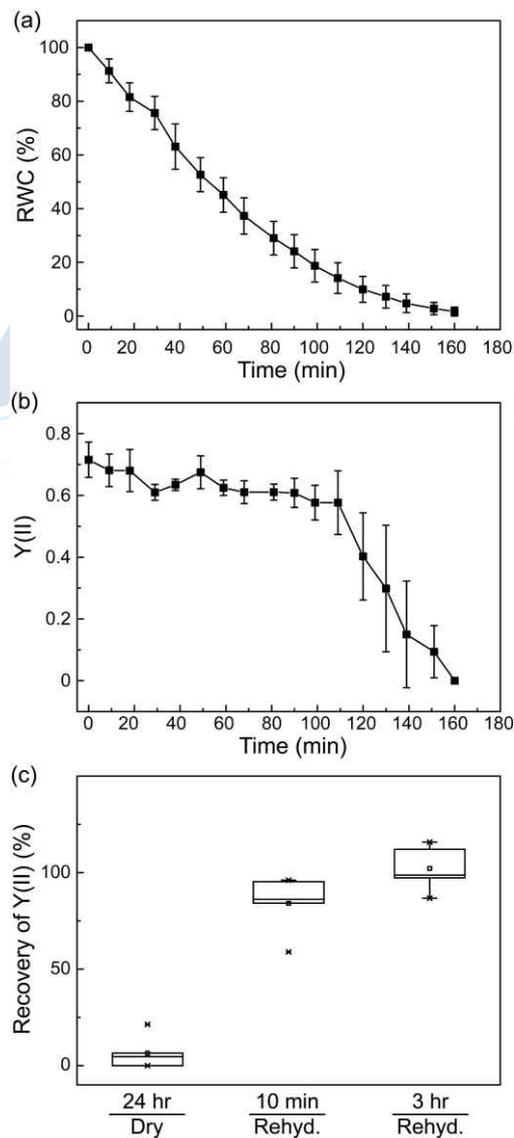
**Figure 5.** Correlation between Y(II) of *C. borealis* and PPFD (a), temperature (b), and volumetric soil moisture (c) parameters. Data were extracted from Regions A, B, and C in Figure 2b. A fitting analysis for linear regression was performed for each dataset. (d) The linear regression parameters are presented in a tabular format. Asterisks indicate  $R^2 > 0.5$ . SE, standard error.

라. 미기후 조건에서 *C. borealis*의 광 억제 반응

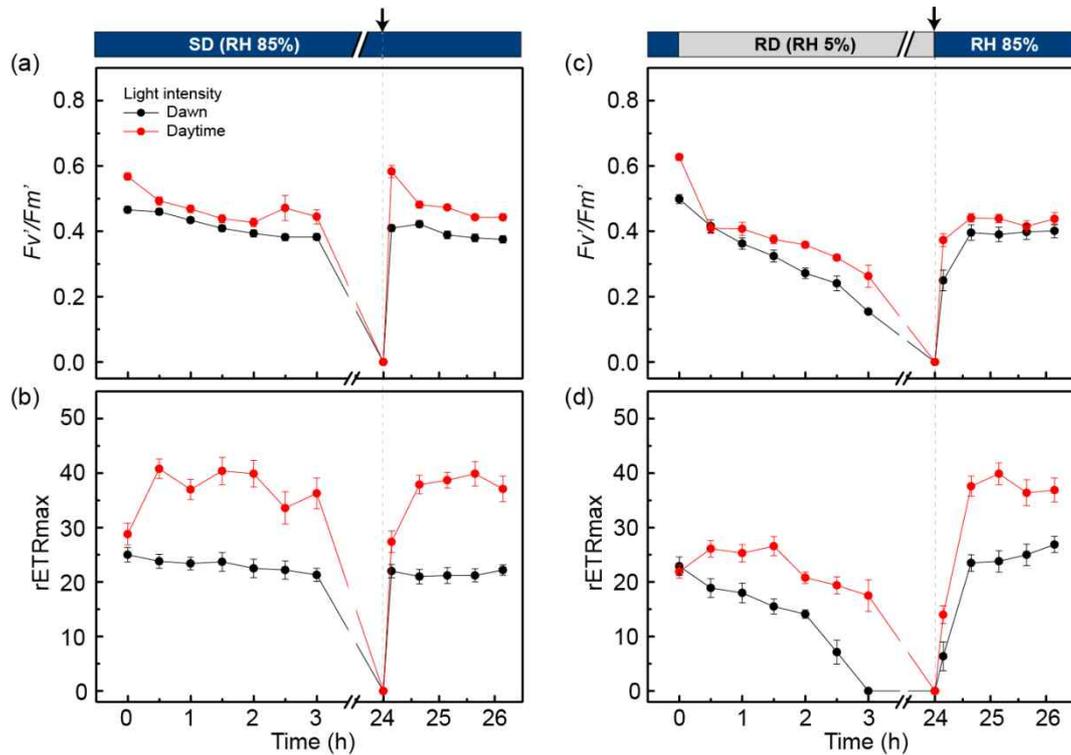
현장 모니터링 결과는 *C. borealis*의 광합성능이 빛과 온도의 변화에 강하지만 건조 조건에서 강하게 하향 조절되었다(Region B in Figure 2). 공기 중 건조실험을 통해 *C. borealis*는 poikilohydric 기능을 가지고 있으며, 건조에 의한 손상으로부터 수 분 내에 회복할 수 있는 신속한 수리 메커니즘을 갖고 있다는 것을 확인하였다 (Figure 6). 현장 모니터링 결과에서 관찰한 *C. borealis*의 건조-재수화 과정 동안의 광합성 손상과 수리기작을 좀 더 자세히 살펴보기 위해, 자연 서식지의 미기후 조건을 실험실에서 재현하고 상기 조건에서 RLC(Rapid Light Curve) 관찰을 통해 *C. borealis*의 광합성 시스템이 건조 (Region B) 및 재수화(Region C) 조건에서 어떻게 조절되었는지를 설명하고자 하였다 (Figure 2).

3시간 동안 SD 조건에서, 새벽 빛 샘플의 최대 광합성 수율( $F_v'/F_m'$ ) 및  $rETR_{\max}$ 는 초기 상태의 대략 90%로 약간 감소되었다(Figure 7a, b). 증류수로 10 분간 재수화한 후,

Fv'/Fm' 및 rETR<sub>max</sub>는 초기 상태로 완전히 회복되었다. 주간 빛 샘플의 경우 Fv'/Fm' 값은 처리 3시간 동안 초기 상태의 ~80%로 점차 감소한 반면, rETR<sub>max</sub>는 처리 30분 후 초기 상태의 1.5배로 증가했다. 그런 다음 최대값의 ~90%로 약간 감소했다. 10분의 재수화 후, 주간 빛 샘플의 Fv'/Fm' 및 rETR<sub>max</sub>는 초기 상태로 완전히 회복되었다. 이 결과는 *C. borealis*의 광 시스템이 SD 내성과 재수화 후 빠른 복구 메커니즘을 가지고 있음을 나타낸다. 또한, 광 강도의 증가는 광 시스템에서 PSII 효율 및 전자 이동 속도를 개선시키는 데 도움이 될 수 있다.



**Figure 6.** Air-drying of field *C. borealis* samples with changes of (a) RWC (%), (b) the Y(II) value, and (c) the relative recovery rate of Y(II) after rehydration ( $n=10$ ).



**Figure 7.** Changes in maximal photosynthetic yield ( $F_v'/F_m'$ ) (a,c) and rETRmax (b,d) with dawn–light ( $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ) and daytime–light ( $220 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ) under a desiccation–rehydration cycle in *C. borealis*. Before desiccation, samples were activated with light ( $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ) for 2 h under fully hydrated conditions with distilled water. The thalli were treated under slow desiccation (SD, 85% RH) (a,b) and rapid desiccation (RD, 5% RH) (c,d) for 24 h (until indicated by the dashed line), and then rehydrated with a water spray of distilled water (black arrow). After the removal of excess water, both samples were kept under SD conditions for an additional 2 h. The ten biological replicates were used for each treatment ( $n = 10$ ). Experiments were repeated at least two or three times using the same thalli after re–stabilizing at  $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  light with an 18:6 light:dark cycle at  $8^\circ\text{C}$  with hydration for a week. Results are the means with  $\pm$  standard deviation shown by vertical bars.

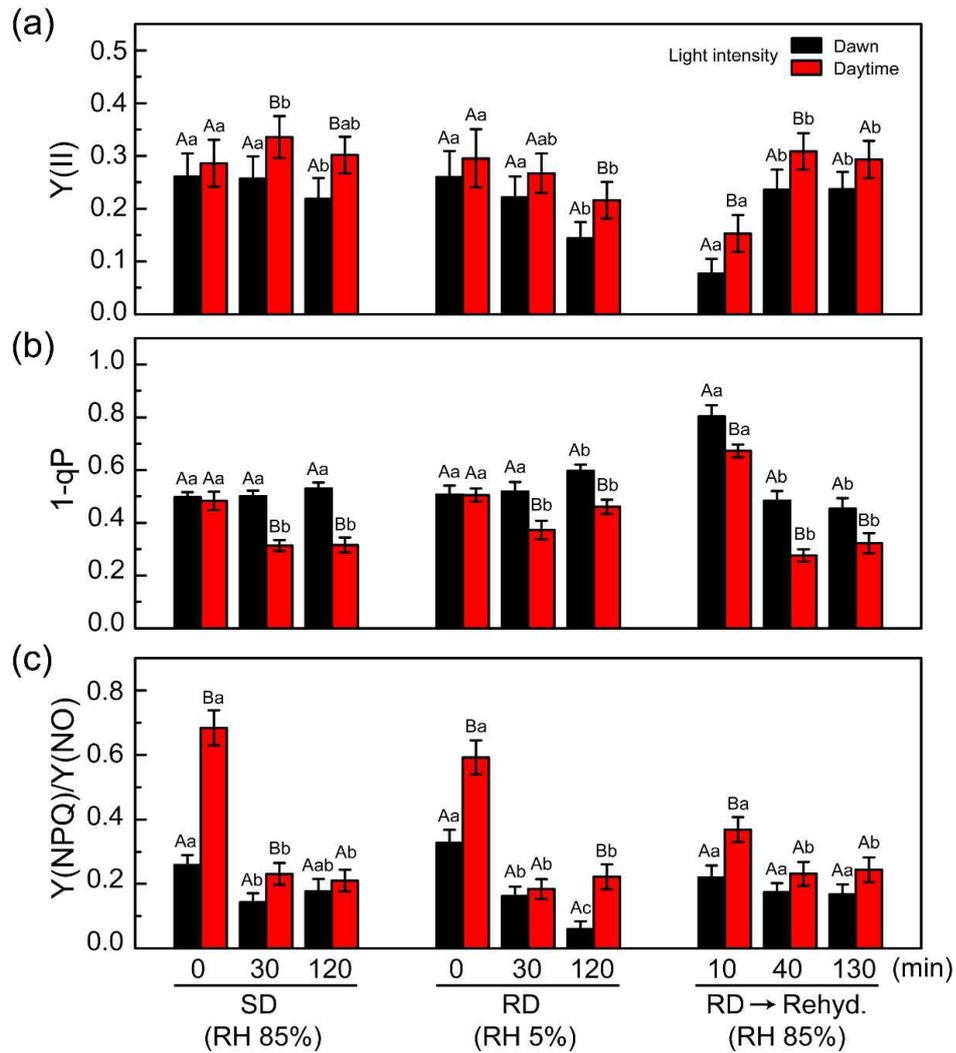
RD 조건은 SD로 처리한 샘플과 비교하여 *C. borealis*의 광 시스템에서 약간의 산화적 손상을 일으킨 것으로 나타났다(Figure 7c, d). RD로 3시간 동안 처리된 새벽 빛 샘플의 경우  $F_v'/F_m'$  값이 초기의 ~20%로 감소하고 rETR<sub>max</sub>가 사라졌다. 24시간 탈수된 샘플의 재수화 후,  $F_v'/F_m'$ 은 초기 값의 ~80%로 복원되었고, rETR<sub>max</sub>는 재수화 1시간 이내에 완전히 회복되었다. RD 조건에서 주간 빛 샘플의 경우, 3시간의 처리에서  $F_v'/F_m'$

이 초기 상태의 ~50%로 감소되었다. 대조적으로,  $rETR_{max}$ 는 30분 처리 후 약간 증가하였으나(~1.1배), 초기 상태의 ~80%로 감소하였다. 24시간 탈수된 주간 빛 샘플의 재수화 후,  $Fv'/Fm'$  값은 초기 값의 ~80%에 도달했으며, 이 패턴은 재수화 반응의 새벽 빛 샘플과 동일했다. 이러한 반응은 새벽부터 낮까지 빛 세기 증가가 SD 처리와 마찬가지로 PSII 효율과 PSI 로의 전자 이동을 향상시키는 데 긍정적인 역할을 한다는 것을 암시한다.

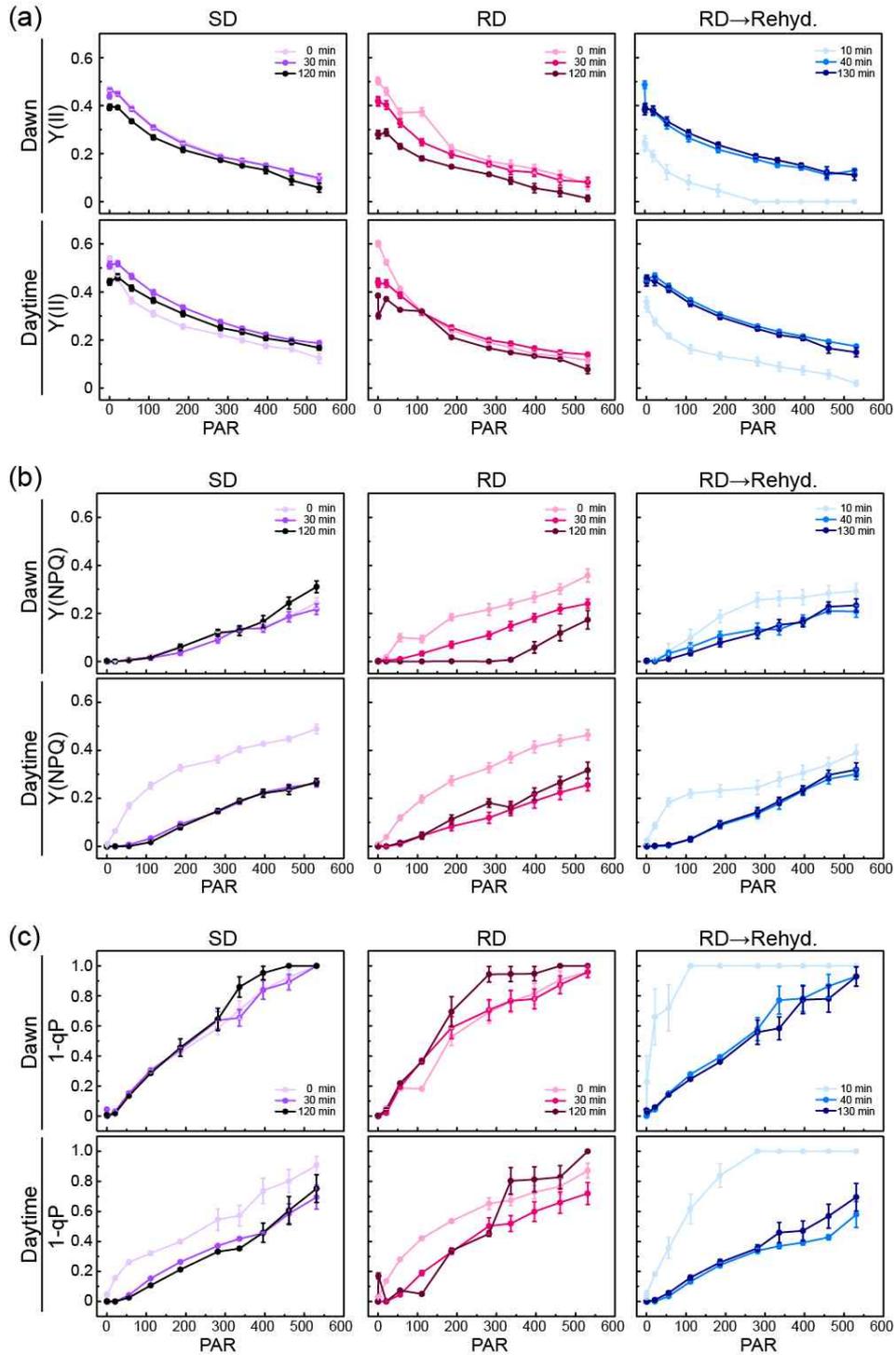
#### 마. 탈수 반응에서 *C. borealis*의 PSII 광화학 변화

*C. borealis*의 광 시스템은 SD 및 RD 처리 후 재수화를 통한 신속한 복구 시스템을 보여 주었다. 특히, 광 강도 증가( $50 \sim 220 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ )는 PSII 효율 ( $Fv'/Fm'$ ) 및 전자 전달 속도의 복구를 향상시켰으므로 PSII의 보호 메커니즘은 새벽부터 낮까지의 빛의 강도 변화에 의해 유도된다고 가정하였다. RLC 실험을 통해 우리는 빛 조건에서 광 시스템 성능이 어떻게 변했는지 알 수 있었다(Ralph and Gademann 2005). SD, RD 및 재수화 반응 동안, 흡수된 광 에너지는 PSII 상태에 따라 다른 방식으로 사용될 수 있다. PSII의 반응 센터, 열 방출로서 NPQ, 및 형광의 재 방출에서 흡수된 광 에너지가 광화학에 경쟁적으로 사용될 수 있다. 광 에너지 사용의 효율은 광화학 반응 Y(II), 열 방출로서 조절된 비광화학 반응, Y(NPQ) 및 비조절된 비광화학 반응, Y(NO)에 의해 계산된다 :  $Y(II) + Y(NPQ) + Y(NO) = 1$  (Kramer et al. 2004). 따라서, 주어진 조건에서 *C. borealis*의 PSII 광화학 변화는 낮 동안 건조-수화 사이클에 대한 광 시스템 반응을 나타낸다(Figure 8).

주간 빛 처리 동안, Y(II) 값은 SD, RD 및 RD 조건 후의 재수화 하에서 새벽 빛 샘플보다 약간 더 높았다. 그러나 패턴의 변화는 두 빛 조건에서 동일했다(Figure 8a). PSII 반응 센터의 압력을 나타내는  $1-qP$  값(Kooten and Snel 1990; Schreiber et al. 1986)은 SD 및 RD 조건의 개시 상태에서 동일했지만, 두 조건 모두에서 처리하는 동안 주간 빛 샘플의 값은 감소되었다(Figure 8b). 이 현상은 주간 광 샘플의 PSII 반응 센터가 개시 후 처리 동안 유도된 압력으로부터 보호되었음을 나타낼 수 있다. 재수화 반응은 또한 새벽 빛 샘플이 낮 빛 샘플보다 약간 더 높은 압력을 가짐을 보여 주었다. 게다가, 새벽 빛 샘플에 대해 새벽 빛 샘플의  $Fv'/Fm'$  및  $rETR$ 의 회복 속도가 주간 빛 샘플에 비해 지연되었다는 것은 합리적이었다(Figure 7). 따라서, 우리는 *C. borealis*의 광 시스템이 주간 광선 노출(30 분 이내)에 의해 빠르게 유도되는 보호 메커니즘을 가지고 있으며, 이 메커니즘은 PSII 반응 센터의 압력을 낮추는 기능을 할 수 있다고 제안했다. 결과적으로 이 보호 메커니즘은 SD 및 RD 조건에서도 주간 빛 샘플의 PSII 효율 향상과 관련이 있다 (Figure 7 and 8).



**Figure 8.** PSII photochemistry changes during RLC experiments under the given conditions. (a) Effective photosynthetic yield  $Y(II)$ , (b)  $1-qP$  value, and (c)  $Y(NPQ)/Y(NO)$  ratio. Each value indicates the average score  $\pm$  standard deviation, calculated from the data in Figure S6. The average was calculated by two-way ANOVA, and its significant differences among the data were analyzed based on the Tukey's HSD test (at  $p < 0.05$ ) which was displayed with different letters; upper case letters indicate the effects of light intensity at the same time of desiccation (or rehydration) treatment, and lower case letters indicate the effects of desiccation (or rehydration) treatment at the same light condition. The ten biological replicates were used for each treatment ( $n = 10$ ). Experiments were repeated at least two or three times using the same thalli after re-stabilizing at  $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$  light with an 18:6 light:dark cycle at  $8^\circ\text{C}$  with hydration for a week. Black and red bars represent dawn light ( $50 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ) and daylight ( $220 \mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$ ), respectively.  $Y(NPQ)$ , the efficiency of the regulated non-photochemical quenching reaction;  $Y(NO)$ , the efficiency of the nonregulated non-photochemical quenching reaction; SD, slow desiccation; RD, rapid desiccation; RD→Rehyd., rehydration after 24 h of RD treatment.



**Figure 9.** Changes of Y(II), Y(NPQ) and 1-qP of *C. borealis* during rapid light curve experiment under the slow desiccation (SD), rapid desiccation (RD) and rehydration after 24hr-RD treatment (RD→Rehyd.) with different light intensity, Dawn (50 mol/m<sup>2</sup>/s) and Daytime (220 mol/m<sup>2</sup>/s). ( $n=10$ ).

## 4. 논의

가. *C. borealis*의 shade-adapted 특징: 광합성 활동 시간대와 건조내성

지의류의 광합성 성능은 일반적으로 일출 1-2 시간 후에 증가한 다음 높은 일조량과 온도 상승으로 인해 건조된 조건에서 CO<sub>2</sub> 교환이 중단되기 때문에 급격히 감소한다(Kranner et al. 2008). 실제로 *Usnea antarctica*의 성장 속도는 평균 온도의 감소에 민감했으며, 약 1,000  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 의 광도는 광억제를 유도하기에 충분하지 않았다(Sancho et al. 2017; 2019). *Usnea* 종의 이러한 광합성 특징은 아마도 이 연구에서 관찰된 많은 불활성화 상태와 관련이 있을 것이다. 그러나 *C. borealis*에서 평균 Y(II) 값은 밤에 가장 높았으며 새벽부터 낮까지 점차 감소했다. 밤과 새벽 (약 7%) 및 낮(약 14%)에도 낮은 수준의 비활성화가 관찰되었습니다.

지의류는 sun-adapted 또는 shade-adapted 종이라고 불리는 빛의 강도에 의해 구별되며 이는 서식지와 2차 화합물 생산과 관련이 있다(Gauslaa and Solhaug 2004; Solhaug et al. 2003). Sun-adapted 지의류 종은 강한 빛을 억제하지 않는 대신 이차 화합물을 생산하여 이를 차단하며, *Usnea* 종은 이러한 특성을 갖는다고 보고되었다(Lange and Green 1996; Bartak et al. 2012). 대조적으로, shade-adapted 지의류 종은 강한 빛의 조사에 대한 광 억제력을 가지고 있으며, 건조 스트레스를 받지 않으면 정오 이전에 최대 광합성 활동을 보여 주었다(Inoue et al. 2014; Demmig-Adams 1990). *C. borealis*의 광합성 성능은 새벽과 밤의 저온 및 어두운 조명 조건에서도 활발하게 활성화 될 수 있음을 나타내며, 이는 shade-adapted 지의류의 특징이 있음을 시사한다.

지의류는 비, 안개, 이슬 및 습한 공기 또는 기질 습기로부터 물을 흡수 할 수 있지만, 비가 내리지 않으면 이끼의 수분 함량은 강한 빛에 의한 증발을 통해 빠르게 감소한다. 수상 지의류는 표면적이 넓기 때문에 습한 공기로부터 물을 포획 할 수 있는 장점이 있지만, 이끼류와 그 기질에 따라 수분 보유 능력이 다르다. *C. borealis* 개체는 서로 가깝게 자라며 일반적으로 이끼류 군락지 또는 그 근처에서 발견된다. 그러나 *Usnea* 종은 서로 분리되어 있는 암석에서 발견됩니다. 이러한 기질 특이성 및 개체의 분포 패턴은 또한 습한 습기 및 수분 보유 능력으로부터 물을 얻는 데 크게 영향을 미칠 것이다(Inoue et al. 2014; Budel and Scheidegger 1996).

종합하여, 남극 *C. borealis* 자연 서식지에서 강한 빛, 낮은 온도 및 물 부족 조건에 대한 매우 민감한 광억제 메커니즘을 통해 효과적으로 광합성 성능을 조절한다. 이러한 광 억제 감도는 기후 변화에 대응하여 주요 생산성 변화를 추적하는 데 사용될 수 있고, 특히 *C. borealis*는 남극 대륙의 다른 현화식물 및 이끼류와 함께 발견된다(Kim et al. 2006; Osyczka and Olech 2005). 따라서 이 지의류는 비생물적 스트레스 반응을 상대평

가하기 위한 종으로 사용될 수 있다. 특히, 심각한 건조 스트레스에 대처할 수 있는 능력으로 인해 남극 대륙의 건조 서식지의 변화를 장기간 모니터링 하는 지표로 사용하기에 적합하므로 이 종을 남극지역 기후모니터링 종으로 제안한다.

#### 나. *C. borealis*의 광합성II 반응센터의 건조반응

흥미롭게도, *C. borealis*의 광계 II의 반응센터는 빠른 건조조건에서도 매우 잘 보호되는 것으로 나타났다. RD-처리샘플의 재수화 반응에서  $rETR_{max}$ 는 SD-처리 샘플의 것과 유사한 값인 초기 상태의 2배로 증가 하였다(Figure 7d). 이 결과로부터 본 실험에서의 RD 조건은 PSII의 oxygen-evolving complex(OEC)을 손상시킬 수 있지만 플라스토퀴논(PQ) 및 PSI를 통한 전자 이동 과정은 손상시키지 않을 수 있다고 추론했다. 실제로 OEC 부분은 빛 에너지를 사용하여 물 분자에서 전자 및 산소 분자로 전하 분리하여 전자 구배를 생성하는 데 중요한 역할을 하기 때문에 ROS에 쉽게 노출된다(Kranter et al. 2008). 게다가, 건조 스트레스는 물 분자의 고갈로 인해 PSII의 OEC 부분에 심각한 영향을 줄 수 있으며, 광 여기된 보조색소는 저조도 조건에서도 쉽게 ROS를 생성한다(Nabe et al. 2007). 전자 흐름의 순차적 진행에 의해 산화 압력은 P680+에 의해 산화되는 첫 번째 분자인 PQ와 PSI 측면을 손상시킬 수 있다(Tyystjaervi 2013). 과도하거나 통제되지 않은 ROS 수준은 핵산, 단백질 및 지질을 포함한 필수 분자에 유해하다(Kranter et al. 2008). 그러나 *C. borealis*에서 재수화에 의한 ETR 반응은 완전히 회복되었지만 PSII의 광합성 효율은 그렇지 않았다. 따라서, 적용된 건조 조건은 PQ 또는 PSI 측이 아니라 PSII를 손상시키는 것으로 가정하였다.

주간 빛 유도 광보호 메커니즘의 한 가지 가능성은 *C. borealis*의 NPQ 프로세스이다. Y(NPQ) 및 Y(NO) 값은 NPQ 공정을 나타내지만 전자는 일반적으로 크산토펠 사이클 및 일부 카로티노이드에 의한 열 소산을 나타내는 조절된 반응이며, 후자는 빛의 재방출을 포함하여 조절되지 않은 반응이다. Y(NPQ)/Y(NO) 비율은 PSII 반응 센터에서 과도한 빛 에너지가 어떻게 사용되는지 보여준다. SD 및 RD 처리를 시작할 때 주간 광 샘플의 Y(NPQ) / Y(NO) 값은 새벽 광 샘플보다 2배 높았습니다(Figure 8c). 이러한 발견은 NPQ 공정이 주간-광 노출에 의해 추가로 유도되었지만, 치료 개시 후 SD 및 RD 조건 하에서 안정화되었음을 나타낸다. 일반적으로, NPQ 공정은 PSII의 안테나에서 pH-조절된 에너지 소산, PSII와 PSI 사이의 상태 전이 및 광 억제성 quenching process (각각 qE, qT 및 qI)의 세 가지 구성 요소를 갖는다(Krause et al. 1982). 이러한 담금질 과정은 다른 반응 시간 척도를 가지며 qE는 보통 빠른 완화 단계를 갖는다. 본 연구의 결과로는 광억제 메커니즘에 어떤 NPQ 구성 요소가 주요 역할을 지정할 수 없다. 하지만 qE 요소

가 *C. borealis*에서 PSII 압력을 빠르게 감소에 기여할 수 있다고 추측할 수 있다. 이 qE inhibitory 과정은 xanthophyll cycle이라고 하는 효소전환 과정에서 violaxanthin을 zeaxanthin으로 전환과정과 관련이 있다. xanthophyll cycle은 일반적으로 지의류의 건조 내성과 관련이 있다. 예를 들어, *Lobaria pulmonaria*에서, 빛-의존적 xanthophyll cycle는 건조내성을 향상시킬 수 있고, 빛-의존적 zeaxanthin의 생성은 막을 안정화시키고 광합성 효율을 하향 조절하는데 항산화 역할을 한다 (MacKenzie et al. 2002).

실험실 내 건조 실험은 남극 환경에서 *C. borealis*의 연속적이고 리듬 광합성 성능을 이해하는 단서를 제공할 수 있습니다. PSII 광화학에서의 이러한 변화는 광 강도 증가에 의한 빠른 NPQ 유도가 건조 허용 오차를 향상시킬 수 있으며, 이러한 현상은 아마도 남극 지역의 소기후 변화와 관련이 있음을 보여 주었다. 이 지역 광합성 유기체는 성장기 (12월에서 2월까지)가 짧기 때문에 성장 확산과 환경 스트레스 요인의 피해 감소 사이에 균형을 이루어야합니다. 자연 서식지에서 빛, 온도 및 습도의 변동은 PSII에서 더 높은 압력을 생성하여 과도한 ROS 형성을 초래한다. 또한 햇빛에 노출된 PSII에 물 분자가 부족하면 조명이 낮더라도 PSII의 반응 센터를 과도하게 자극할 수 있어 광합성 효율이 떨어질 수 있다(Heber et al. 2006). 지금까지 *C. borealis*의 환경 조건 변화에 민감한 광합성 성능은 복잡한 미기후 변화의 영향을 평가하기 위한 생물 지표로 사용할 수 있다고 제안한다.

극지연구소

## 제 6 절 바톤반도 지의류 분포와 미환경 데이터 상관관계 규명 Relationship between Lichen distribution and microenvironmental factors on Barton Peninsula

### 1. 서론

지의류는 지의류 형성 곰팡이와 지의류 형성 조류(또는 남세균) 그리고 지의류 내에서 함께 서식하는 내생 조류, 곰팡이, 세균의 복합체이다(De Bary 1879; Nash 2008). 이들은 환경변화에 민감하여 생물 지표종으로 이용되고 나출지의 초기 정착에도 중요한 역할을 하며 세계적으로 널리 분포하는 육상 생태계의 중요한 일원이다. 식물과 지의류가 함께 우점하는 북극과 달리 남극에서는 두 종의 현화식물과 선대류를 제외하면 지의류가 주요 식생으로 자리잡고 있다. 남극은 열대나 온대지역과 비교하였을 때 비교적 단순화된 육상식생을 가지고 있고, 기후변화가 빠르게 일어나기 때문에 변화하는 환경과 지의류의 연관성을 연구하기에 적합한 장소이다. 지구온난화가 가속화되면서 기온, 강수량, 풍량, 풍속 등의 변화가 발생하고 이것은 지의류가 서식하는 미소지역에 직접적인 영향을 미칠 수 있는 온도, 습도, 광량 등의 변화를 야기할 수 있다. 이런 효과는 지의류가 서식하는 지역의 미환경의 차이를 야기하며, 지의류의 공생 미생물들에게 직접적인 영향을 주어 지의류의 분포와 지의류 내생 미생물들의 공생 관계에 영향을 미칠 수 있다.

지의류의 분포는 열대와 온대 지역에서 임관의 구조, 숲의 연속성, 지의류 기질 나무의 종류, 온도, 수분 이용도, 빛 이용도 등의 기후 특징과의 상관관계에 대한 연구가 이루어져 왔다(Werth et al. 2005; Giordani and Incerti 2008; Moning et al. 2009; Ódor et al. 2013; Gauslaa 2014; Janssen et al. 2019). 다양한 지역에서의 연구가 이루어졌음에도 불구하고, 극지역의 지의류 분포에 대해서는 일부 연구만이 이루어져 왔다(Kappen and Schroeter 1997; Pannewitz et al. 2003; Sancho and Pintado 2004). 본 과제의 일환으로 수행된 이전 연구에서는 바톤반도 내의 지의류의 분포는 적설량의 변화와 연관이 있음을 밝혔고 장기간의 적설은 식생 분포에 부정적인 영향을 미친다는 결과를 도출하였다. 또한 정성적 자료를 통해 식생의 분포와 환경과의 연관성을 확인하고자 하였다(Shin et al. 2014). 그럼에도 불구하고, 지의류의 분포와 환경과의 연관성에 대해 지형, 미기후, 식생 분포를 모두 고려한 연구가 부족한 실정이다. 극지 지의류의 분포 특징을 연구하는 것은, 그들이 선호하는 환경에 대해 좀 더 이해할 수 있고, 이것은 향후 기후변화에 따른 지의류 분포의 변화를 예측하기 위한 기반이 될 수 있기 때문에 추가적인 연구가 필요하다.

*Cladonia* 속 지의류는 전 세계적으로 500여 종이 존재하며, 바톤반도를 포함한 남극에

넓게 분포한다(Stenroos 1993; Osyczka and Olech 2005; Kim et al. 2006; Lee et al. 2008). 그 중 *Cladonia squamosa* (Scop.) Hoffm와 *Cladonia gracilis* (L.) Willd는 토양, 자갈, 이끼 위에서 서식하는 것으로 알려져 있으며, 이끼 위에서 서식하는 경우 주로 *Andreaea gainii*, *Barbilophozia hatcheri*, *Ceratodon purpureus*, *Chorisodontium aciphyllum*, *Polytrichum strictum*, *Polytrichastrum alpinum*, *Sanionia uncinata* 를 기질로 삼아 서식하고, *Cetraria aculeata*, *Psoroma hyponorum*, *Stereocaulon alpinum*, *Usnea antarctica* 등과 유사한 환경에서 발견된다(Øvstedal and Smith 2001; Olech 2004; Osyczka and Olech 2005). 두 *Cladonia* 종은 모두 긴 엽체가 모여 콜로니를 형성하고 유사한 형태적 특징을 가지고 있기 때문에 현장에서는 분류가 어려울 수 있으나 분자적 기법을 사용하면 분류가 가능하다.

본 연구에서는 기후변화에 따른 지의류 분포의 변화를 예측하기 위하여 기후 변화가 급격하게 일어나고 있지만 다른 지역에 비해 비교적 단순한 육상 환경을 가지고 있는 서남극의 킹조지섬 바톤반도 지역에서 종다양성이 높은 *Cladonia* 속 지의류 중 *C. squamosa*와 *C. gracilis*에 대해 지의류 연관 미생물과 환경과의 연관성을 이해하고자 하였다. 이를 위해, 바톤반도의 환경적 특징을 이해하고자 지형, 미기후, 그리고 식생에 대해 조사하였다. 또한 바톤반도에 분포하는 *Cladonia* 속 지의류와 이들의 공생조류에 대해 지역적 분포특징과 환경과의 연관성을 살펴보고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 식생 분포 조사

바톤반도 내 지의류 분포를 확인하기 위하여 하나의 셀이 10 cm x 10 cm로 이루어진 25셀로 구성된 방형구를 이용하여 장기모니터링 지역을 포함한 147개 지역에서 지의류의 분포를 조사하였다. 하나의 지역에서 9회 반복으로 조사를 수행하였고 이들의 평균치를 분석에 사용하였다. 바톤반도에 주요하게 분포하며 형태로 동정이 가능한 분류군인 10개의 분류군에 속하는 지의류(*Cetraria aculeata*, *Himantormia lugubris*, *Placopsis contortuplicata*, *Pseudephebe pubescens*, *Sphaerophorus globosus*, *Stereocaulon alpinum*, *Cladonia* 속, *Psoroma* 속, *Umbilicaria* 속, *Usnea* 속), 10개의 분류군에 속하는 선태류(*Bartramia patens*, *Bryum pseudotriquetrum*, *Chorisodontium aciphyllum*, *Sanionia uncinata*, *Andreaea* 속, *Ditrichum* 속, *Syntrichia* 속, *Warnstorfia* 속, *Polytrichaceae* 과, *Hepaticae* 문), 2종의 현화식물(*Colobanthus quitensis*, *Deschampsia antarctica*)에 대해 조사를 수행하였다.

#### 나. 장기모니터링 사이트의 지형 분석

바톤반도 내 지형 데이터를 확보하기 위하여 GeoExplorer 6000(Trimble, California) 장비를 이용하여 위도, 경도, 고도를 측정하였고, 5 m 해상도의 수치 표고 모델로 ArcGIS(ESRI, California) 프로그램을 사용하여 사면(aspect), 굴곡도(cultivation), 그늘진 정도(hillshade), 유속지수(stream poser index), 습도 지수(topographic wetness index), 15 m 반경, 1 km 반경의 지형노출도지수(topographic exposure, TOPEX)를 계산하였다(Hwang 2018).

#### 다. 장기모니터링 사이트의 미기후 분석

바톤반도 내 미기후 데이터를 확보하기 위하여 24개의 하위사이트를 포함하는 11개의 장기모니터링 사이트에서 대기온도(AT), 대기상대습도(RH), 광합성유효파장(PAR), 기질온도(ST), 기질습도(WC)를 지속적으로 측정하였다. 대기온도와 대기습도 센서는 지표로부터 10 cm 높이에 설치하였고, 광합성유효파장 센서는 지표로부터 15 cm 높이에 설치하였다. 기질온도와 기질습도 센서는 지표로부터 5 cm 아래에 설치하였다. 미기후 데이터는 10 분에 한 번씩 기록하였고, 2013년 2월부터 2019년 1월까지 측정하여 2015년 1월부터 2016년 3월까지의 데이터를 본 분석에 사용하였다. 미기후 데이터의 비교데이터로써 세종기지(S 62°13'23", W 58°47'21")에 설치되어 있는 자동기상관측장비(AWS)의 대기온도, 대기상대습도, 광량, 풍향, 풍속 데이터를 사용하였다(Choi et al. 2006). 미기후 데이터는 봄(9-11월), 여름(12-2월), 가을(3-5월), 겨울(6-8월)로 정의하여 분석하였다(Olivia et al. 2017). 미기후데이터의 월/일평균, 월/일최대값, 월/일최소값, 일교차 데이터를 통계분석을 위해 사용하였다.

#### 라. *Cladonia*속 지의류의 시료 채취 및 염기서열 데이터 분석

바톤반도에 넓게 분포한 *Cladonia* 속 지의류 중, 갈색의 긴 엽체로 구성되어 있는 총 177개의 시료를 11개의 장기모니터링 사이트(KGL01, KGL02, KGL03, KGL04, KGL05, KGL06, KGL07, KGL09, KGL13, KGL14, KGL15)에서 채취하였다. 시료는 현장에서 바로 100% EtOH에 고정하였고, -20°C로 한국으로 운반하였다. 시료에 붙어있는 선류, 태류, 흙 등의 잔해물을 현미경하에서 제거한 후, 0.85% NaCl로 세척하였다(Lee et al. 2014). 이후 동결건조를 거친 시료를 TissueLyser II(Qiagen, Germany)를 이용하여 파쇄하였고, Exgene Soil DNA mini kit(GeneAll, Korea)을 이용하여 DNA를 추출하였다. *Cladonia* 시료의 LSU rRNA(nucLSU) 유전자의 염기서열 분석을 위해 LSU26f-LSU657r 프라이머를 이용하여 유전자를 증폭하였다(Park et al. 2015). 증폭된 염기서열은

454-GS-FLX Titanium platform(454 Life Sciences, Connecticut)와 PacBio RSII platform(Pacific Bioscience, California)를 통하여 염기서열을 획득하였다. PyroTrimmer(Oh et al. 2012) 프로그램을 이용하여 프라이머, 링커, 바코드 서열을 제거하고, 300 bp 이하의 짧은 염기서열들을 제거하였다. Clustom을 통하여 nuLSU 시퀀스의 클러스터링을 수행하였다(Hwang et al. 2013). Genbank의 nuLSU 염기서열 정보를 참고하여 분류군 정보를 할당하였다. *Cladonia* 시료의 nuLSU 유전자의 염기서열을 ClustalW를 참고하여 정렬한 뒤, maximum parsimony(MP), maximum likelihood(ML), Bayesian 분석방법을 이용하여 MEGA-X와 MrBayes ver.3.2 프로그램을 사용하여 phylogenetic tree를 작성하였다. *Cladonia* 속 지의류의 조류 군집의 다양성을 확인하고자, richness(S), Shannon diversity index(H'), equitability(J')의 다양성 지수를 계산하였다. TCS ver. 1.2.1을 사용하여 Haplotype network 분석을 수행하였고, tcsBU로 시각화하였다.

#### 마. 통계 분석

*Cladonia* 속 지의류의 분포와 미기후, 식생분포, 지형 데이터의 연관성을 확인하기 위해서 Primer6와 R 프로그램을 통하여 주성분 분석(PCA), Pearson의 상관관계 분석, 중복 분석(RDA), 일원 분산분석, Kruskal-Wallis 검정분석, Sceffe 사후검정, Games-Howell 사후검정을 수행하였다. 강한 상관관계를 보이는 요인들( $R > |0.7|$ )은 통계분석에서 제외하였다.

### 3. 결과 및 토의

10 분류군의 지의류, 10 분류군의 선태류, 2 종의 현화식물을 147개의 지점에서 분포양상 조사를 수행하였다. *Usnea* 속, *H. lugubris*, *P. controtuplicata*는 주로 돌들이 많은 지역에 분포하였고, *S. alpinum*, *P. pubescens*, *Psoroma* 속은 선류인 *Andereaea* 속, *C. aciphyllum*, *S. uncinata*, *Polytrichaceae* 과에 속하는 이끼들이 주로 분포하는 지역에 함께 분포하였다(Table 1 and Figure 1).

수치표고모델을 통하여 바톤반도 지형의 양상을 확인하였다(Table 2). 바톤반도는 해안가에서부터 북동 쪽 내륙으로 갈수록 고도가 높아지는 형태이기 때문에, 바톤반도의 북쪽 부분은 주로 북서쪽 방향을 향해 있고, 서쪽, 남쪽 부분은 주로 남동쪽 방향을 향해 있었다(Figure 2). 북동쪽 해안가에 위치한 KGL13, KGL14, KGL15 지역은 북쪽, 북서쪽, 서쪽의 15 m, 1 km 반경 내 지형노출도가 낮았고, 북서 사면에 위치한 KGL03은 동쪽, 남동쪽, 남쪽의 지형노출도가 낮았다(Figure 2).

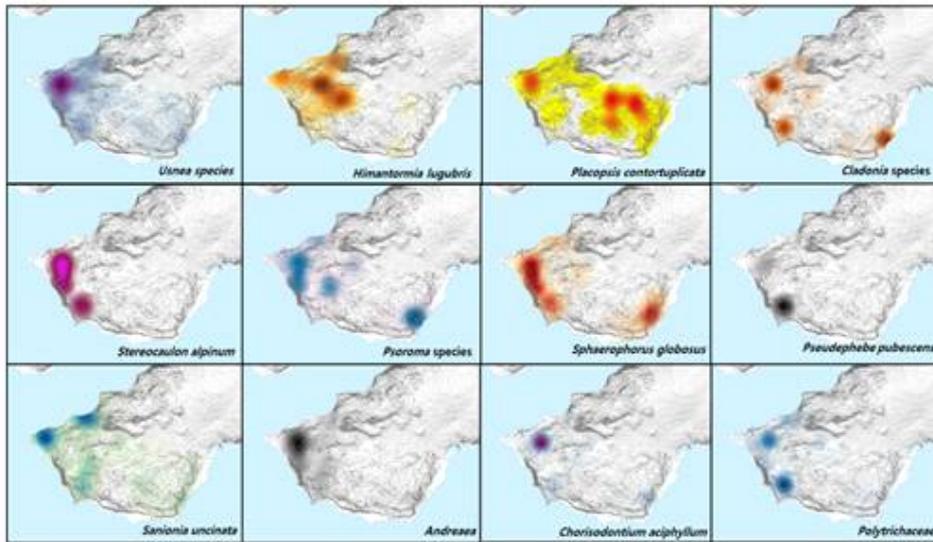
Table 1. Vegetation frequencies at sampling sites

Sites	Sub-sites	Usnea species	Himantornia ligabryis	Placopsis contorniolicata	Pseudophebe pubescens	Sphaerophorus globosus	Cetraria aculeata	Stereocaulon alpinum	Cladonia borealis complex	Psoroma species	Andreaea species	Chorisodontium aciphyllum	Polytrichaceae	Sanionia uncinata	Ditrichum	Deschampsia antarctica	Colobanhus quitensis
KGL01	KGL01-06	0.98	0.04	0.00	0.00	0.73	0.00	0.06	0.03	0.59	0.76	0.11	0.38	0.05	0.00	0.00	0.00
KGL02	KGL02-02	0.30	0.00	0.00	0.00	0.42	0.00	0.01	0.02	0.60	0.26	0.98	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00
	KGL02-03	0.61	0.00	0.04	0.00	0.01	0.00	0.50	0.02	0.77	0.95	0.22	0.01	0.11	0.00	0.00	0.00
	KGL02-04	0.78	0.00	0.08	0.00	0.02	0.00	0.24	0.02	0.95	1.00	0.17	0.03	0.19	0.00	0.00	0.00
	KGL02-06	0.96	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.42	0.00	0.18	0.28	0.49	0.11	0.01	0.00	0.00	0.00
	KGL02-07	0.35	0.03	0.00	0.00	0.05	0.00	0.05	0.02	0.72	0.92	0.55	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00
	KGL02-08	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.02	0.03	0.93	0.24	0.90	0.00	0.81	0.00	0.00	0.00
KGL03	KGL03-01	0.90	0.06	0.00	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	0.00	0.48	0.57	0.07	0.00	0.00	0.00	0.00
	KGL03-02	0.91	0.00	0.00	0.00	0.06	0.00	0.00	0.07	0.00	0.50	0.58	0.20	0.00	0.00	0.00	0.00
	KGL03-03	0.65	0.02	0.00	0.00	0.04	0.00	0.00	0.01	0.00	0.04	0.94	0.04	0.00	0.00	0.00	0.00
	KGL03-04	0.87	0.02	0.00	0.00	0.01	0.00	0.01	0.01	0.00	0.31	0.62	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
	KGL03-05	0.93	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.40	0.39	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
	KGL03-06	0.87	0.06	0.00	0.00	0.03	0.00	0.00	0.05	0.00	0.65	0.38	0.09	0.02	0.00	0.00	0.00
KGL04	KGL04-02	0.97	0.00	0.00	0.04	0.36	0.02	0.01	0.02	0.08	0.77	0.00	0.50	0.12	0.00	0.00	0.00
	KGL04-03	0.93	0.00	0.00	0.02	0.22	0.04	0.04	0.00	0.36	0.49	0.02	0.36	0.40	0.00	0.00	0.00
	KGL04-04	0.90	0.00	0.00	0.00	0.18	0.01	0.51	0.02	0.41	0.65	0.00	0.36	0.37	0.01	0.00	0.00
KGL05	KGL05-03	0.93	0.00	0.00	0.23	0.14	0.00	0.00	0.01	0.00	0.12	0.46	0.89	0.00	0.00	0.00	0.00
	KGL05-04	0.66	0.00	0.00	0.03	0.04	0.00	0.00	0.01	0.00	0.14	0.47	0.81	0.11	0.00	0.00	0.00
KGL06	KGL06-03	0.87	0.02	0.01	0.00	0.33	0.00	0.00	0.00	0.10	0.00	0.86	0.15	0.10	0.00	0.00	0.00
KGL07	KGL07-01	0.75	0.09	0.28	0.00	0.00	0.00	0.00	0.01	0.33	0.00	0.08	0.53	0.77	0.00	0.00	0.00
KGL09	KGL09-01	0.95	0.31	0.00	0.00	0.68	0.00	0.00	0.01	0.14	0.00	0.00	0.03	0.78	0.00	0.00	0.00
KGL13	KGL13-01	0.84	0.01	0.02	0.00	0.28	0.00	0.00	0.02	0.17	0.17	0.07	0.07	0.49	0.00	0.13	0.00
KGL14	KGL14-01	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04	0.24	0.01	0.34	0.34	1.00	0.00	0.00	0.00
KGL15	KGL15-01	0.73	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.07	0.01	0.10	0.05	0.42	0.48	0.85	0.00	0.00	0.04

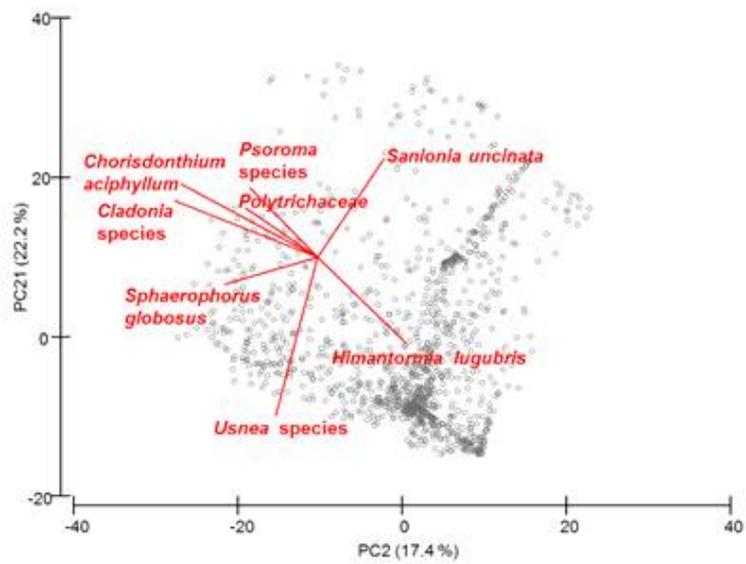
Table 2. Topographic index in sampling sites

Sites	Sub-sites	Latitude	Longitude	Elevation	Northness	Eastness	Topographic exposure (1km)										Topographic exposure (15 m)									
							N	NE	E	SE	S	SW	W	NW	Total	N	NE	E	SE	S	SW	W	NW	Total		
KGL01	KGL01-06	-62.24055002	-58.74226298	24.69	-0.60	-0.80	12.84	13.17	5.97	-1.89	-2.97	-2.17	5.99	7.84	38.77	3.07	3.58	2.42	-1.93	-3.77	-3.58	-5.59	-0.95	-6.75		
KGL02	KGL02-02	-62.23807758	-58.72913002	72.74	0.90	0.43	4.77	3.85	-0.40	6.13	12.02	12.05	20.47	8.67	67.57	-11.84	-9.98	-4.54	6.13	12.02	11.19	9.75	-5.01	7.73		
	KGL02-03	-62.2380302	-58.72906616	83.79	0.93	0.38	4.77	3.85	-0.40	6.13	12.02	12.05	20.47	8.67	67.57	-11.84	-9.98	-4.54	6.13	12.02	11.19	9.75	-5.01	7.73		
	KGL02-04	-62.23801846	-58.72903898	70.89	0.97	0.24	4.84	4.16	0.01	5.25	11.10	11.18	20.15	8.35	65.03	-12.18	-9.45	-4.15	5.25	11.10	10.86	8.47	-6.00	3.90		
	KGL02-06	-62.23827727	-58.72894786	74.51	0.91	0.42	4.59	3.39	-1.84	3.48	8.73	10.23	18.67	6.71	53.98	-8.73	-8.80	-7.09	3.48	8.73	9.51	8.64	-3.53	2.22		
	KGL02-07	-62.23810064	-58.7287253	70.82	0.98	0.19	5.06	4.24	1.14	4.59	7.87	9.51	19.15	8.01	59.57	-9.13	-8.10	-5.17	3.77	7.84	8.42	4.15	-6.98	-5.20		
	KGL02-08	-62.23799117	-58.72865712	81.96	0.99	0.12	5.32	5.12	3.10	6.43	10.08	10.42	19.71	9.51	69.69	-2.32	-2.55	-0.80	6.43	10.08	7.44	-1.70	-2.55	14.04		
KGL03	KGL03-01	-62.22504029	-58.77743882	102.86	0.91	-0.41	-5.05	-2.21	22.29	15.61	8.95	-3.19	-4.96	-5.06	26.39	-21.48	-14.02	22.29	15.61	8.95	-5.59	-15.06	-18.98	-28.27		
	KGL03-02	-62.22499104	-58.77753186	76.15	0.92	-0.39	-4.64	1.76	14.23	23.67	25.31	16.48	-5.38	-4.65	66.78	-22.50	-15.22	8.57	21.45	25.31	16.48	-12.93	-24.67	-3.51		
	KGL03-03	-62.22498117	-58.77784344	80.33	0.99	-0.16	-4.55	-0.52	14.07	25.47	29.47	21.63	-2.07	-4.55	78.94	-24.27	-17.25	12.93	25.47	29.47	21.63	-12.21	-22.80	12.98		
	KGL03-04	-62.22495935	-58.77783566	75.32	0.98	-0.20	-4.55	-0.52	14.07	25.47	29.47	21.63	-2.07	-4.55	78.94	-24.27	-17.25	12.93	25.47	29.47	21.63	-12.21	-22.80	12.98		
	KGL03-05	-62.22493417	-58.7778691	74.08	0.98	-0.18	-4.55	-0.52	14.07	25.47	29.47	21.63	-2.07	-4.55	78.94	-24.27	-17.25	12.93	25.47	29.47	21.63	-12.21	-22.80	12.98		
	KGL03-06	-62.22489357	-58.77790864	71.87	0.98	-0.18	-4.49	-0.57	14.64	27.60	32.79	23.74	1.77	-4.49	90.99	-23.51	-16.40	12.41	27.60	32.79	23.74	-6.27	-21.48	28.89		
KGL04	KGL04-02	-62.22991093	-58.78172933	109.23	0.95	0.30	0.00	1.96	7.34	8.26	2.19	0.00	0.00	0.00	19.75	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
	KGL04-03	-62.22993694	-58.78171199	108.31	0.95	0.30	0.00	2.03	7.28	10.07	2.73	0.00	0.00	0.00	22.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
	KGL04-04	-62.22996612	-58.78169017	92.91	0.84	0.54	0.00	2.03	7.28	10.07	2.73	0.00	0.00	0.00	22.11	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
KGL05	KGL05-03	-62.23455639	-58.77227194	104.65	0.96	-0.28	5.30	6.43	7.97	0.00	0.00	0.00	0.00	7.97	27.67	-3.81	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-3.47	-7.28		
	KGL05-04	-62.23451603	-58.77232479	103.44	1.00	-0.06	5.30	6.54	7.93	0.00	0.00	0.00	0.00	7.98	27.74	-4.74	-1.12	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	-2.39	-8.24		
KGL06	KGL06-03	-62.22805588	-58.76001068	205.45	0.97	0.26	2.24	4.23	-1.11	6.85	17.24	17.02	5.40	-5.47	46.39	-14.57	-13.10	-12.15	6.85	16.90	16.15	5.40	-11.39	-5.90		
KGL07	KGL07-01	-62.22653242	-58.75348443	186.92	1.00	0.09	8.12	8.94	3.71	8.75	13.65	7.38	2.22	-3.48	49.31	-7.19	-6.01	-2.23	4.38	9.49	6.02	2.22	-4.59	2.10		
KGL09	KGL09-01	-62.2203646	-58.77192477	9.96	0.96	-0.27	-0.37	-0.33	23.32	13.42	15.31	6.60	-0.58	-0.35	57.02	-8.04	-4.76	4.56	7.71	8.33	5.02	-1.32	-7.00	4.51		
KGL13	KGL13-01	-62.23775128	-58.72147384	13.05	-0.07	1.00	10.47	-0.45	-0.98	-0.45	4.00	8.82	35.85	19.69	76.94	1.38	-5.69	-16.98	-3.11	4.00	8.82	17.44	6.87	12.74		
KGL14	KGL14-01	-62.23920108	-58.72478163	15.92	-0.49	0.87	18.66	0.41	-1.37	-0.76	-1.04	9.36	32.84	24.18	82.27	9.50	-2.25	-21.33	-13.73	-8.27	5.02	30.60	17.20	16.73		
KGL15	KGL15-01	-62.24074778	-58.72617972	14.27	0.12	0.99	10.57	-0.33	-0.99	-0.75	3.08	27.13	51.04	22.74	112.49	-3.01	-14.78	-27.29	-8.77	3.08	25.68	47.44	13.53	35.83		

(A)



(B)



**Figure 1.** Vegetation distribution (A) Vegetation distribution map in Barton Peninsula (B) Principal component analysis plots of 147 research sites. Vectors indicate that the correlation value is more than 0.4.

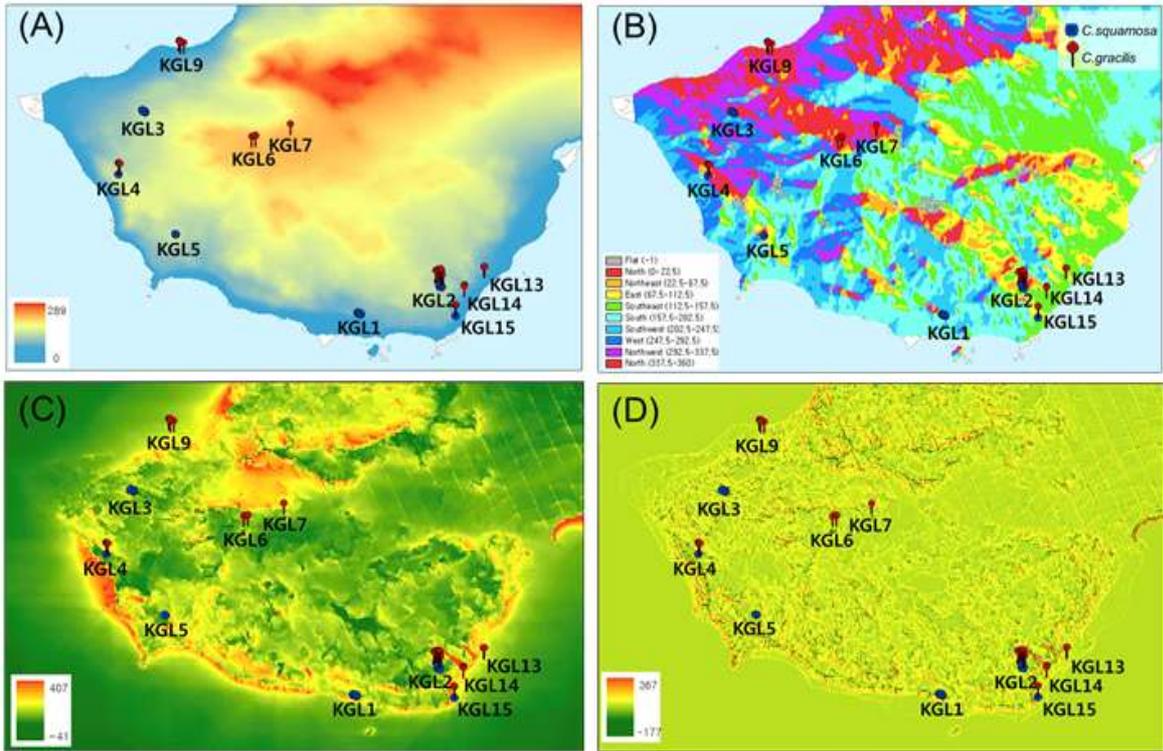


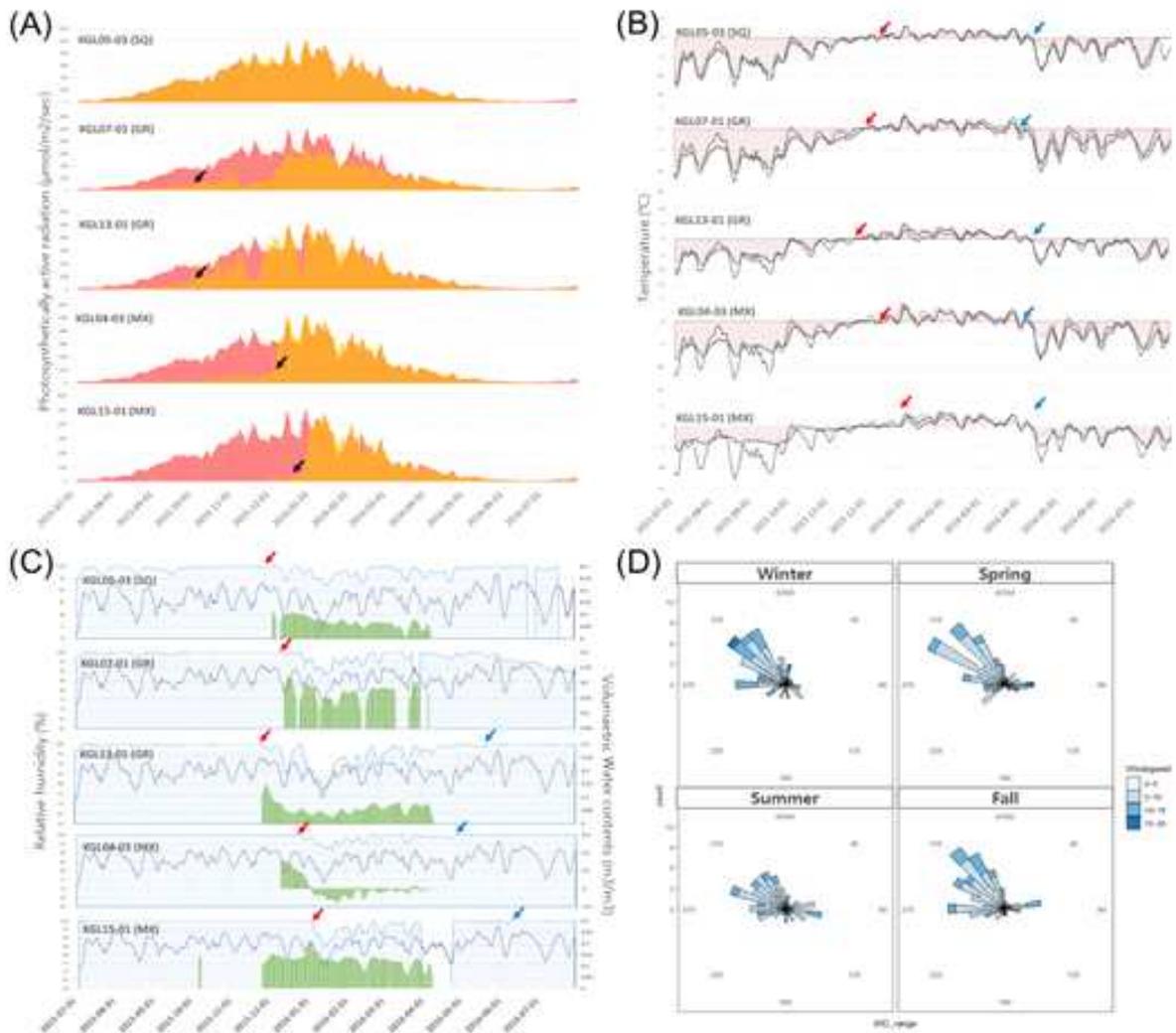
Figure 2. Topography in Barton Peninsula (A) Altitude (B) Aspect of Barton Peninsula. Topographic exposure within 1 km (C) and 15 m (D).

장기모니터링 사이트의 대기온도, 대기습도, 광합성유효과장, 기질온도, 기질습도의 미기후 데이터와 AWS 데이터를 비교하여 분석하였다(Table 3 and Figure 3). 연평균광합성유효과장은 KGL03에서 가장 높았고, KGL15에서 가장 낮았다(Table 3). KGL05-03은 계절과 관계없이 AWS의 패턴과 유사한 광량 값을 나타냈고, KGL07-01과 KGL13-01은 2015년 10월부터 점진적으로 태양에 노출되어 11월부터 AWS의 광합성유효과장 값과 유사한 양상을 보였다(Figure 3A). KGL04-03은 2015년 12월 초부터 외부에 노출되었고, KGL14-01과 KGL15-01은 12월 말부터 1월 초에 외부에 노출되었다는 것을 데이터를 통해 확인할 수 있었다. KGL07-01은 여름동안에 낮은 광합성유효과장 값을 유지한 반면 다른 사이트들은 눈이 녹은 이후에는 AWS데이터와 유사한 양상을 보였다. 연평균 대기온도는 KGL15가 가장 높았고, KGL07 이 가장 낮았다(Table 3). 대기온도와 기질온도는 KGL13-01은 11월 말 경에, KGL04-03, KGL05-03, KGL07-01은 12월 초 경에, KGL14-01, KGL15-01은 12월 말 경에 상온의 온도를 유지하였다(Figure 3B). 대기온도와 기질온도는 대기에 노출된 AWS의 데이터에 비해 겨울기간동안 매우 안정적으로 유지되었다. 봄에 KGL03-03, KGL04-03, KGL05-03, KGL07-01은 -15도에서 -5도의 온도

를 유지하였다. 연구지역의 눈이 녹고 노출된 이후에는 AWS 데이터와 유사한 온도 양상을 보였다. 연평균 대기상대습도는 KGL01이 가장 높았으며 KGL15가 가장 낮았다(Table 3). AWS의 대기상대습도는 일년간 항시 변동폭이 컸지만 기질 습도는 겨울기간동안 안정적으로 유지되다가 12월 초에서 1월 초에 대기 중에 노출되었다(Figure 3C). KGL04-03은 4월 말부터 다시 눈에 쌓이면서 100% 상대습도를 유지하였고, KGL13-01, KGL14-01, KGL15-01은 6월 말경부터 100% 습도를 유지하였다. KGL05-03과 KGL07-01은 여름 이후에 안정적으로 습도가 유지되지 않았다. 대기 중에 노출된 AWS의 일평균상대습도는 80-90%를 유지하였으며 장기모니터링 사이트의 경우는 100%를 유지하였다. KGL05-03과 KGL07-01은 95-100% 습도를 유지하는 기간이 다른 사이트보다 길었다. 2015년 7월부터 2016년 6월까지 바톤반도는 모든 계절동안 주로 북서풍과 서풍이 불었고, 때때로 북동풍이 불었다(Figure 3D).

**Table 3.** Climate data of sampling sites from July 2015 to June 2016 (The numbers in parentheses indicated the average of monthly minimum/ maximum. \*Environmental data from February 2016 to March 2016. †Environmental data from July 2015 to March 2016.)

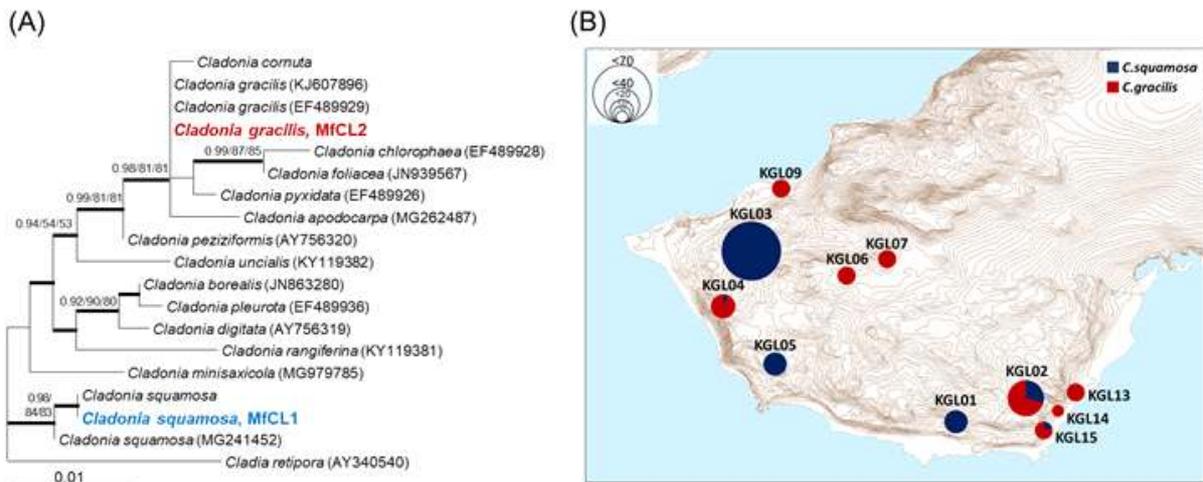
Site	Annual mean photosynthetic active radiation ( $\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{sec}$ )	Annual mean air temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Annual mean relative humidity (%)	Annual mean substrate temperature ( $^{\circ}\text{C}$ )	Mean substrate water content in Feb 2016 ( $\text{m}^3/\text{m}^3$ )
KGL01	118.62(361.99/1.59)	-1.52(2.09/-5.82)	95.7(100/78.98)	-1.23(2.64/-5.46)	-0.0669
KGL02	144.92(1153.49/1.2)	-1.84(4.44/-7.13)	98.75(100/86.76)	-0.74(4.95/-6.18)*	0.0236
KGL03	187.72(422.51/9.08)	-2.42(1.39/-7.63)	97.16(99.79/90.52)	-1.98(1.18/-6.38)	0.0545
KGL04	108.84(362.99/2.15)	-2.19(1.25/-6.51)	99.23(100/95.52)	-1.77(2.21/-6.11)	0.1325
KGL05	164.33(380.23/8.97)	-2.49(1.11/-7.95)	98.5(100/96.04)	-2.03(0.97/-7.37)	0.0615
KGL06	161.11(407.22/6.69)	-2.01(0.32/-4.12)*	98.9(99.9/97.29)*	-2.34(1.99/-7.66)	0.0568
KGL07	91.27(252.54/3.31)	-2.94(0.85/-7.77)	97.71(100/93)	-2.68(1.48/-7.1)	0.1889
KGL09	143.78(382.12/2.85)†	-1.13(2.73/-4.95)	96.66(100/86.2)†	-0.53(4.46/-4.53)	0.1594
KGL13	129.19(363.42/3.25)	-1.45(2.62/-6.71)	97.18(99.99/85.97)	-0.96(3.07/-5.7)	0.0679
KGL14	73.46(352.04/1.48)	-1.28(1.96/-4.66)	99(100/95.16)	-1.1(2.54/-4.24)	0.0566
KGL15	73.45(361.09/1.23)	-1.06(1.89/-4.14)	93.05(100/32.02)	-0.69(2.37/-3.47)	0.1082



**Figure 3.** Environmental data at study sites from July 2015 to July 2016. (A) PAR values that were measured at 15 cm above ground (yellow) were presented with reference PAR values measured at 10 m height above ground (pink), (B) Air temperature at 10 cm above ground (solid line) and at 10 m height (dashed line), and substrate temperature at 5 cm underground (brown shading) (C) Relative humidity at 10 cm above ground (solid line) and at 10 m height (dashed line), and volumetric water contents in substrate (green bar). (D) Seasonal trends of wind direction and wind speed at 10 m height from July 2015 to Jun 2016.

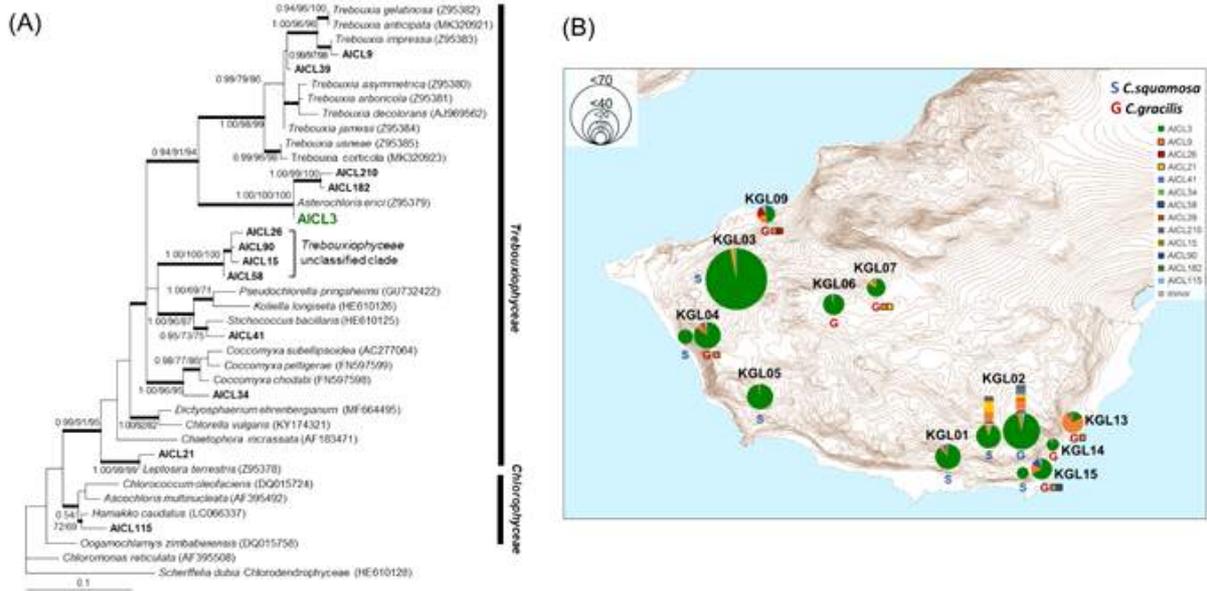
긴 엽체로 구성된 *Cladonia* 속 지의류 177개의 염기서열을 분석한 결과, 101개의 시료는 *C. squamosa*(MG241452)와 99.65%의 유사도를 보였고, 76개의 시료는 *C. gracilis*(KJ607896)와 99.8%의 유사도를 보였다(Figure 4A). 11개의 장기모니터링 사이트 중에서 KGL01, KGL03, KGL05는 *C. squamosa* 만이 발견되어 SQ사이트로 명명하였고, KGL06, KGL07, KGL09, KGL13, KGL14는 *C. gracilis*만이 발견되어 GR사이트로 명명하

였다. KGL02, KGL04, KGL15는 두 종 모두 서식하였고 MX 사이트로 명명하였다 (Figure 4B).



**Figure 4.** Phylogeny and distribution of mycobionts of *C. squamosa* (MfCL1 OTU) and *C. gracilis* (MfCL2 OTU) on Barton Peninsula (A) LSU rDNA phylogeny using maximum likelihood method with closely related reference sequences. Thick branches represent conserved nodes in Bayesian, ML, and MP analyses. Posterior probabilities and bootstrap values (over 0.9 and 70%, respectively) are shown on corresponding branches (Bayesian/ML/MP). (B) Distribution of *C. squamosa* and *C. gracilis* on Barton Peninsula. Circle size indicated number of samples.

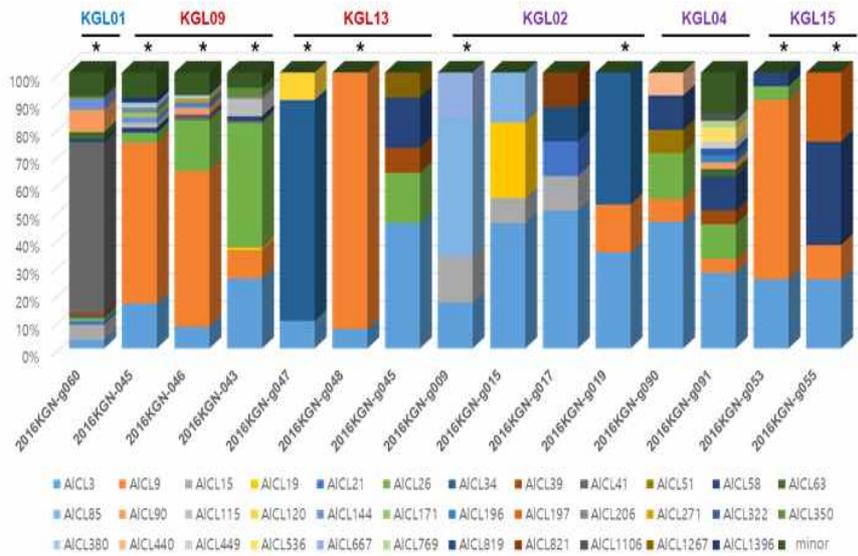
*C. squamosa*와 *C. gracilis*의 nuLSU유전자 염기서열을 통해 총 133개의 미세조류의 OTU를 확인하였다. 1% 상대빈도 이상을 가지는 주요 OTU 13개 중, 12개의 OTU는 Trebouxiophyceae 강에 속하였고, 1개 OTU는 Chlorophyceae 강에 속하였다(Figure 5A). *C. squamosa*와 *C. gracilis*는 모두 *Asterochloris erici*(AICL3)와 공생관계를 형성하였다. *Trebouxia impressa*와 98.3%의 유사도를 가지는 AICL9는 KGL13에서 주요하게 확인되었고, KGL09, KGL15에서 *A. erici* 다음으로 우점하게 나타났다(Table 4). 15개의 *Cladonia* 시료에서는 주요 공생 조류인 *A. erici*가 50% 미만으로 존재하였고 Trebouxiophyceae 강의 다른 조류(AICL9, AICL34, AICL41)와 공생형성 가능성을 확인하였다(Figure 6). 다양성 지수 분석을 통해 *C. squamosa*보다 *C. gracilis*의 조류 군집이 더 다양한 것을 확인할 수 있었다(Table 5).



**Figure 5.** Phylogeny and distribution pattern of algal OTUs of *C. squamosa* and *C. gracilis* on Barton Peninsula. (A) LSU rDNA phylogeny using maximum likelihood method with closely related reference sequences. Thick branches represent conserved nodes in Bayesian, ML, and MP analyses. Posterior probabilities and bootstrap values (over 0.9 and 70%, respectively) are shown on corresponding branches (Bayesian/ML/MP). (B) Distribution pattern and relative abundance of algal OTUs of *C. squamosa* and *C. gracilis* on Barton Peninsula. OTUs with high abundance (> 5%) were indicated by small squares next to the letters representing *C. squamosa* (S) and *C. gracilis* (G) samples. Circle size indicated number of samples.

**Table 4.** Relative abundance of major algal OTUs at each sampling site

OTU	SQ			GR					MX					
	KGL01	KGL03	KGL05	KGL06	KGL07	KGL09	KGL13	KGL14	C.squamosa only			C.gracilis only		
									KGL02	KGL04	KGL15	KGL02	KGL04	KGL15
AICL3	87.7	96.8	97.3	94.9	81	47.8	17.1	91.3	90.6	98.3	100	92.8	85.1	67.7
AICL9	4.4	0.6	0.5	0	5.8	20.8	73.3	0	1.9	0	0	1.6	7.8	15.1
AICL15	0.5	0	0	0	0.8	0.1	0.8	0	0.6	0	0	0.3	0.1	0
AICL21	0.6	1.1	0.6	0	5	0	0	1.1	2.3	0	0	0.8	0.3	0
AICL26	0.1	0	0.1	0	0	19.5	2	0	0	0	0	0.2	1.5	2.2
AICL34	0.3	0	0.2	0	0	0.1	3.2	0	0.2	0	0	1	0.1	0
AICL39	0.2	0.1	0.1	0	1.7	0.4	0.4	0	0	0	0	0.1	0.3	0
AICL41	3.8	0	0	0	0	0.7	0	0	0	0	0	0	0	0
AICL58	0.1	0	0	1.8	0.8	1.3	0.8	1.1	0	0	0	0	0.8	10.8
AICL90	0.5	0	0	0	0	0.8	0.4	1.1	0	0	0	0.2	0.1	0
AICL115	0	0	0	0	0	1.3	0	1.1	0	0	0	0	0.7	0
AICL182	0	0.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AICL210	0	0.2	0.2	0	0	0	0	0	0.4	0	0	0	0.1	0
Minor	1.8	0.8	0.9	3.5	5	7.2	1.6	4.3	4.1	1.7	0	3	3.2	4.3



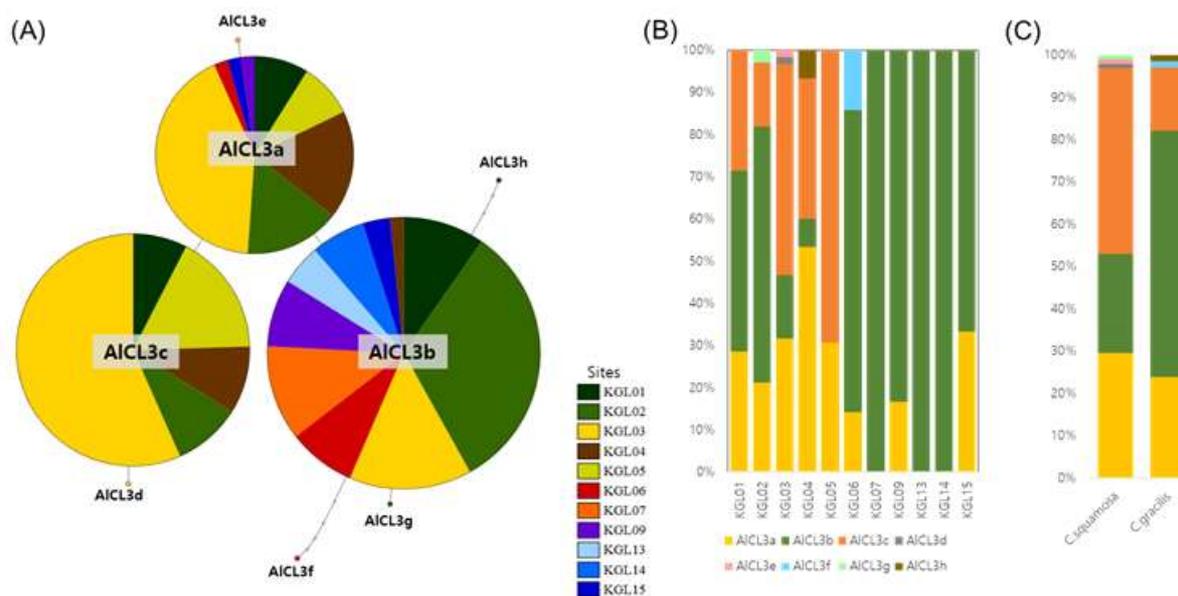
**Figure 6.** Algal diversity in 15 lichen samples in which *Asterochloris erici* (AICL3) was less than 50% abundance. Asterisks indicate samples that have other OTUs than *A. erici* as major photobionts.

**Table 5.** Diversity indices of algae that belonged to eukaryote Chlorophyta according to mycobiont type

Mycobiont	Chlorophyta						
	no. of samples	Richness (S)		Shannon (H')		Equitability (J')	
		mean	sd	mean	sd	mean	sd
<i>C. squamosa</i>	51	2.7	1.14	0.16	0.14	0.16	0.09
<i>C. gracilis</i>	15	5.22	3.94	0.5	0.49	0.33	0.17

*C. squamosa*와 *C. gracilis*와 공생관계를 형성하는 *A. erici*(AICL3)의 haplotype 분석을 수행한 결과 3개의 주요한 haplotype(AICL3a, AICL3b, AICL3c)과 4개의 소수 haplotype(AICL3d, AICL3e, AICL3f, AICL3g)을 확인하였다(Figure 7A). AICL3a는 KGL07, KGL13, KGL14를 제외한 사이트에 존재하였고, AICL3b는 KGL05를 제외한 사이트에서 확인되었다(Figure 7B). 45개의 AICL3a를 가지는 시료 중에서, 29개는 *C. squamosa*에서, 16개는 *C. gracilis*에 속하였다(Figure 7C). *A. erici*의 haplotype의 분포와 미환경과의 연관관계를 확인해보기 위하여, 가장 높은 빈도로 확인된 AICL3b를 기준으로 AICL3b가 80% 이상 분포하는 사이트를 AICL3bMajor 사이트, 20-80%로 분포하는 사이

트를 AICL3bMid 사이트, 20% 미만으로 분포하는 사이트를 AICL3bMinor사이트로 분류하였다.

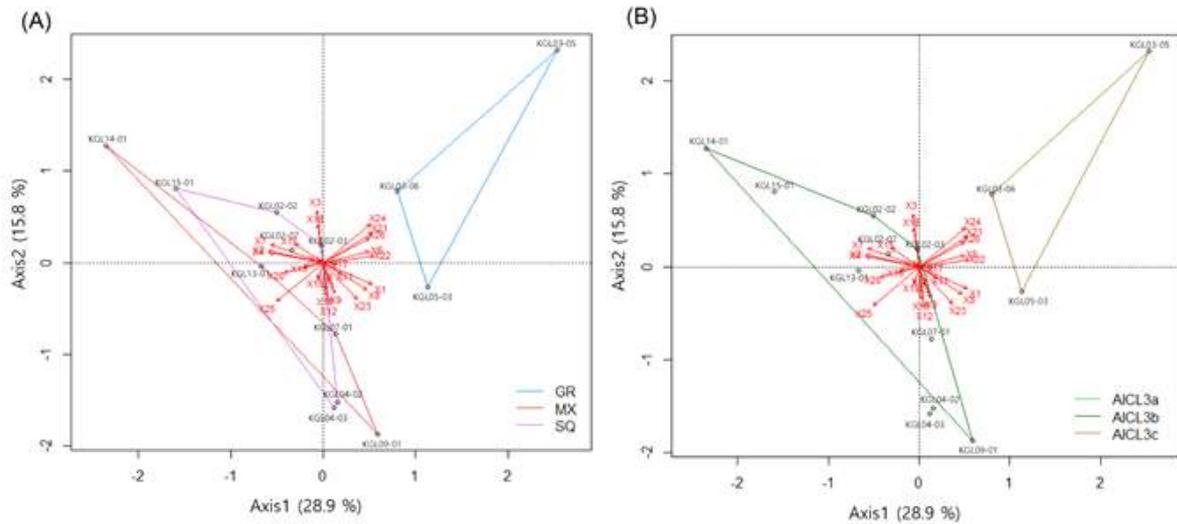


**Figure 7.** Haplotypes of *Asterochloris erici*. (A) Haplotype network of *A. erici* based on LSU sequences. (B) The composition of *A. erici* haplotypes in each study site and (C) The composition of *A. erici* haplotypes with mycobionts.

RDA 분석결과, Axis 1은 2015년 11월 대기온도의 일교차 평균(0.64), northness(0.62), 2015년 7월 대기온도의 일교차 평균(0.62), 2015년 7월 대기상대습도의 일교차 평균(0.59), 1km 내의 남동쪽 방향의 TOPEX(0.59), 봄 기간 영하 15도에서 영하 10도에 해당하는 날의 수(0.59), *Usena* 속의 분포(0.55)와 양의 상관관계를 가졌고, eastness(-0.69), 1km 내의 북쪽 방향의 TOPEX(-0.69), TOPEX\_NW(-0.67), 2015년 7월 최저 대기상대습도(-0.59)와 음의 상관관계를 가졌다(Figure 8). 상관관계 분석 결과, SQ 사이트는 eastness(-0.59)와 *S. uncinata*의 분포(-0.6)와 음의 상관관계를 가졌다(Table 6).

Eastness, 15 m 내 동쪽 방향의 TOPEX, 봄철의 -15도에서 -10도에 해당하는 날의 수, *Andreaea* 속의 분포, *S. uncinata*의 분포는 SQ 사이트와 다른 두 사이트가 유의미하게 차이가 있었다(Table 7, Table 8). 또한 1km 내의 북서쪽, 북쪽 방향의 TOPEX와 15m 내의 동쪽 방향의 TOPEX, *S. uncinata*의 분포는 AICL3bMajor와 다른 두 사이트가 유의미하게 차이를 보였다(Table 9, Table 10). 통계학적으로 유의미한 차이를 보이지 않았지만, AWS와 비교 하였을 때 SQ사이트는 GR사이트에 비해 2015년 7월부터 2016년 6월까지 대기 중에 노출되는 기간이 더 길었다(Figure 9). 또한 SQ사이트는 2015년 7월부

터 2016년 3월까지, 특히 12월에, 노출되는 빛의 세기가 GR사이트 보다 더 컸다. 또한 통계학적 차이는 보이지 않았지만, 2015년 7월부터 2016년 6월까지, 특히 봄철에, 대기 상대 습도 100%를 유지하는 날의 수에 차이가 있었다.



**Figure 8.** Ordination biplot of the redundancy analysis (RDA) of microenvironment with mycobiont type (A) and haplotype group of photobiont (B). X1, northness; X2, eastness; X3, slope, X4; TOPEX1k\_N, X5; TOPEX1k\_NE; X6, TOPEX1k\_SE; X7, TOPEX1k\_NW; X8, *Usnea* species; X9, *H. lugubris*; X10, *P. contortuplicata*; X11, *P. pubescens*; X12, *S. globosus*; X13, *C. aculeata*; X14, *S. alpinum*; X15, *C. borealis* complex; X16, *Psoroma* species; X17, *Andreaea* species; X18, *C. aciphyllum*; X19, Polytrichaceae; X20, *S. uncinata*; X21, diurnal range of air temperature in June 2015; X22, diurnal range of air temperature in November 2015; X23, diurnal range of air temperature in December 2015; X24, diurnal range of relative humidity in July 2015; X25, minimum relative humidity in July 2015; X26, number of days with air temperature in spring

**Table 6.** Correlation with mycobiont type and microenvironmental factors

variable	Positively correlated variables	Negatively correlated variables
<i>Cladonia gracilis</i>	Eastness (0.63)*, RHmi_1507 (0.68)*, <i>S. uncinata</i> (0.64)*, TOPEXik_N (0.57)*	<i>C. squamosa</i> (-1.0)*, RHdf_1507 (-0.68)*, TOPEXik_SE (-0.57)*
<i>Cladonia squamosa</i>		<i>C. gracilis</i> (-1.0)*, Eastness (-0.59)*, <i>S. uncinata</i> (-0.6)*
Curv_Plan	ATdf_1602 (0.56)*	
Curv_Stand	<i>C. aculeata</i> (0.64)*	Slope (-0.67)*, TOMEXik_SUM (-0.68)*
Eastness	ATmn_1509 (0.62)*, <i>C. gracilis</i> (0.63)*	ATdf_1511 (-0.57)*, <i>C. squamosa</i> (-0.59)*, TOPEXik_SE (-0.66)*
Elevation	Northness (0.63)*, <i>P. contortuplicata</i> (0.67)*	ATmn_1601 (-0.67)*, TOMEXik_SUM (-0.6)*, TOPEXik_NW (-0.62)*
Latitude	ATdf_1511 (0.62)*, ATdf_1602 (0.64)*, <i>H. lugubris</i> (0.64)*, Northness (0.56)*, <i>Ulna</i> species (0.63)*	
Longitude	ATmn_1510 (0.64)*, <i>Psarroma</i> species (0.56)*	Northness (-0.62)*, TOPEXik_SE (-0.66)*
Northness	Elevation (0.63)*, Latitude (0.56)*, TOPEXik_SE (0.55)*	ATmn_1510 (-0.59)*, Longitude (-0.62)*, <i>S. uncinata</i> (-0.64)*
Slope		Curv_Stand (-0.67)*
Stream power index		ATdf_1512 (-0.6)*
TOMEXik_SUM	ATmn_1602 (0.62)*	ATdf_1512 (-0.58)*, <i>C. aculeata</i> (-0.58)*, Curv_Stand (-0.68)*, Elevation (-0.6)*
TOPEXik_N	<i>C. gracilis</i> (0.57)*, <i>S. uncinata</i> (0.62)*	<i>Ulna</i> species (-0.66)*
TOPEXik_NE	<i>P. contortuplicata</i> (0.67)*, Topographic wetness index (0.65)*	ATmn_1509 (-0.65)*, ATmn_1601 (-0.57)*
TOPEXik_NW	ATmn_1509 (0.65)*	Elevation (-0.62)*, <i>Ulna</i> species (-0.57)*
TOPEXik_SE	Northness (0.55)*	<i>C. gracilis</i> (-0.57)*, Eastness (-0.66)*, Longitude (-0.66)*
Topographic wetness index	<i>P. pubescens</i> (0.59)*, TOPEXik_NE (0.65)*	
<i>Chorisodanthon acrophyllum</i>		<i>Ulna</i> species (-0.56)*
<i>Cetraria aculeata</i>	Curv_Stand (0.64)*	TOMEXik_SUM (-0.58)*
<i>Cladonia borealis</i> complex	ATmn_1602 (0.6)*	
<i>Colobanthus quitensis</i>	ATmn_1509 (0.59)*	ATdf_1512 (-0.57)*
<i>Himantornia lugubris</i>	ATdf_1602 (0.62)*, Latitude (0.64)*, <i>S. globosus</i> (0.6)*	
<i>Placopsis contortuplicata</i>	Elevation (0.67)*, TOPEXik_NE (0.67)*	ATmn_1511 (-0.64)*
<i>Pseudophebe pubescens</i>	Topographic Wetness Index (0.59)*	
<i>Psoroma</i> species	Longitude (0.56)*, <i>S. alpinum</i> (0.59)*	<i>Ulna</i> species (-0.58)*
<i>Psoroma alpinum</i>	<i>Psoroma</i> species (0.59)*	
<i>Sphaerophorus globosus</i>	<i>H. lugubris</i> (0.6)*	
<i>Saxionia uncinata</i>	<i>C. gracilis</i> (0.64)*, TOPEXik_N (0.62)*	<i>C. squamosa</i> (-0.6)*, Northness (-0.64)*
<i>Ulna</i> species	ATdf_1511 (0.55)*, ATdf_1512 (0.6)*, ATdf_1602 (0.64)*, Latitude (0.63)*	ATmn_1510 (-0.56)*, <i>C. acrophyllum</i> (-0.56)*, <i>Psarroma</i> species (-0.58)*, TOPEXik_N (-0.66)*, TOPEXik_NW (-0.57)*
ATdf_1507	ATdf_1511 (0.67)*	ATmn_1510 (-0.56)*
ATdf_1511	ATdf_1507 (0.67)*, Latitude (0.62)*, <i>Ulna</i> species (0.55)*	Eastness (-0.57)*
ATdf_1512	ATdf_1601 (0.56)*, ATdf_1602 (0.6)*, ATmn_1512 (0.57)*, <i>Ulna</i> species (0.6)*	<i>C. quitensis</i> (-0.57)*, Stream power index (-0.6)*, TOMEXik_SUM (-0.58)*
ATdf_1601	ATdf_1512 (0.56)*, ATmn_1512 (0.68)*, ATmn_1601 (0.6)*	
ATdf_1602	ATdf_1512 (0.6)*, ATdf_1603 (0.58)*, Curv_Plan (0.56)*, <i>H. lugubris</i> (0.62)*, Latitude (0.64)*, <i>Ulna</i> species (0.64)*	
ATdf_1603	ATdf_1602 (0.58)*, ATmn_1602 (0.61)*	
ATmn_1509	ATmn_1602 (0.6)*, <i>C. quitensis</i> (0.59)*, Eastness (0.62)*, TOPEXik_NW (0.65)*	TOPEXik_NE (-0.65)*
ATmn_1510	ATmn_1601 (0.65)*, ATmn_1602 (0.67)*, Longitude (0.64)*	ATdf_1507 (-0.56)*, Northness (-0.59)*, <i>Ulna</i> species (-0.56)*
ATmn_1511	ATmn_1512 (0.57)*, ATmn_1602 (0.67)*	<i>P. contortuplicata</i> (-0.64)*
ATmn_1512	ATdf_1512 (0.57)*, ATdf_1603 (0.68)*, ATmn_1511 (0.57)*, ATmn_1602 (0.58)*	
ATmn_1601	ATdf_1601 (0.6)*, ATmn_1510 (0.65)*	Elevation (-0.67)*, TOPEXik_NE (-0.57)*
ATmn_1602	ATdf_1603 (0.61)*, ATmn_1509 (0.6)*, ATmn_1510 (0.67)*, ATmn_1511 (0.67)*, ATmn_1512 (0.58)*	
RHdf_1507		<i>C. gracilis</i> (-0.68)*
RHmi_1507	<i>C. gracilis</i> (0.68)*	

갈색의 길다란 엽체를 가진 유사한 형태의 *C. squamosa* 와 *C. gracilis*의 바톤반도 내의 분포에 차이를 보인다는 것을 본 연구를 통해 확인하였다. 바톤반도 내에서 이들의 분포가 차이를 보이는 이유는 크게 지역적인 장애물로 인한 영향이거나 서식 장소의 미환경의 차이를 생각해 볼 수 있다. 지역적인 장애물이 영향을 미칠 가능성은 바톤반도에 분포하는 *C. borealis*의 단일 유전형이 바톤반도 내 다양한 곳에 분포하는 이전 결과와 본 연구에서 하나의 haplotype이 바톤반도 전역에 분포한다는 결과를 통해 지역적인 장애물로 인한 영향은 가능성이 낮다는 것을 확인할 수 있다(Park et al. 2012). 따라서 *C. squamosa*와 *C. gracilis*의 분포의 차이는 서식지의 미환경 요소의 차이에 의해 결정될 가능성이 높다. 두 종이 서식하는 사이트는 지형, 특히 동-서 사면방향의 차이가 있었다. 주로 북서풍이 불어오는 바톤반도에서 북서쪽 방향의 사면보다 남동쪽 방향의 사면에 눈이 더 많이 쌓일 것이고 이것은 겨울철 적설량의 차이를 야기한다. 실제로 서쪽 경사면에 위치한 SQ사이트는 주로 동쪽 경사면에 위치한 GR사이트 보다 적설량이 많지 않다는 것을 미기후 데이터를 통해 확인할 수 있었다. 이러한 요소는 SQ사이트와 GR사이트에서 여름철이 되어 눈이 녹기 시작하는 시기와 눈에 완전히 드러나는 시기의 차이를 유발하였고, 투과되는 빛의 양과 습도에 차이를 야기하였다. SQ사이트와 GR사이트는 식생의 분포에도 차이가 있었다. 특히 수분이 적게 공급되는 지역에서 주로 발견되는 건성의 이

끼인 *Andreaea*와 해안가의 습한 지역이나 수분공급이 원활한 지역에서 주로 발견되는 습성의 이끼인 *S. uncinata*의 분포의 차이가 있었는데, 건성의 이끼가 SQ사이트에, 그리고 습성의 이끼가 GR사이트에 더 많이 분포하는 것을 통해 *C. squamosa*와 *C. gracilis* 두 종의 서식지의 미환경 차이가 있는 것을 확인할 수 있었다. 이러한 결과로 *C. squamosa*는 저온에 노출되는 기간이 길고, 여름철 더 빨리 태양에 노출되며, 수분의 배출이 용이하여 상대적으로 건조한 환경에서 서식하고, *C. gracilis*는 이보다 습한 환경을 선호하는 것으로 추정된다. 이로써 적설량의 차이를 야기할 수 있는 사면의 방향과 온도는 지의류 형성 곰팡이와 지의류 형성 조류의 분포에 영향을 미치고 이들이 서식하는 지역의 식생 구조에도 영향을 줄 수 있다는 것을 확인하였다.

**Table 7.** Association between mycobiont differences and microenvironments by ANOVA and post hoc t-test. (One-way ANOVA of the complete data set with microenvironmental levels. Means followed by the different letter (a or b) are significantly different according to multiple comparisons with Scheffe post-hoc test ( $P < 0.05$ ). Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 )

category	factor	Df	Sum of square	Mean sq	F-value	Pr(>F)	dataset (site)	M	Sd
Topography Eastness		2	2.654	1.3267	13.44	0.000***	SQ	-0.296 <sup>b</sup>	0.221
	Rdsiduals	21	2.073	0.0987			MX	0.391 <sup>a</sup>	0.245
							GR	0.389 <sup>a</sup>	0.535
Topography TOPEX15m_E		2	1531	765.5	10.82	0.001***	SQ	9.387 <sup>a</sup>	7.405
	Rdsiduals	21	1486	70.7			MX	-5.358 <sup>b</sup>	8.122
							GR	-9.625 <sup>b</sup>	10.644

**Table 8.** Association between mycobiont differences and microenvironments by Kruskal–Wallis rank sum test and post hoc t–test. (Kruskal–Wallis rank sum test of the complete data set with microenvironmental levels. Means followed by the different letter (a or b) are significantly different according to multiple comparisons with Games–Howell post–hoc test (P<0.05). Signif. codes: 0 ‘\*\*\*’ 0.001 ‘\*\*’ 0.01 ‘\*’ 0.05 ‘.’ 0.1)

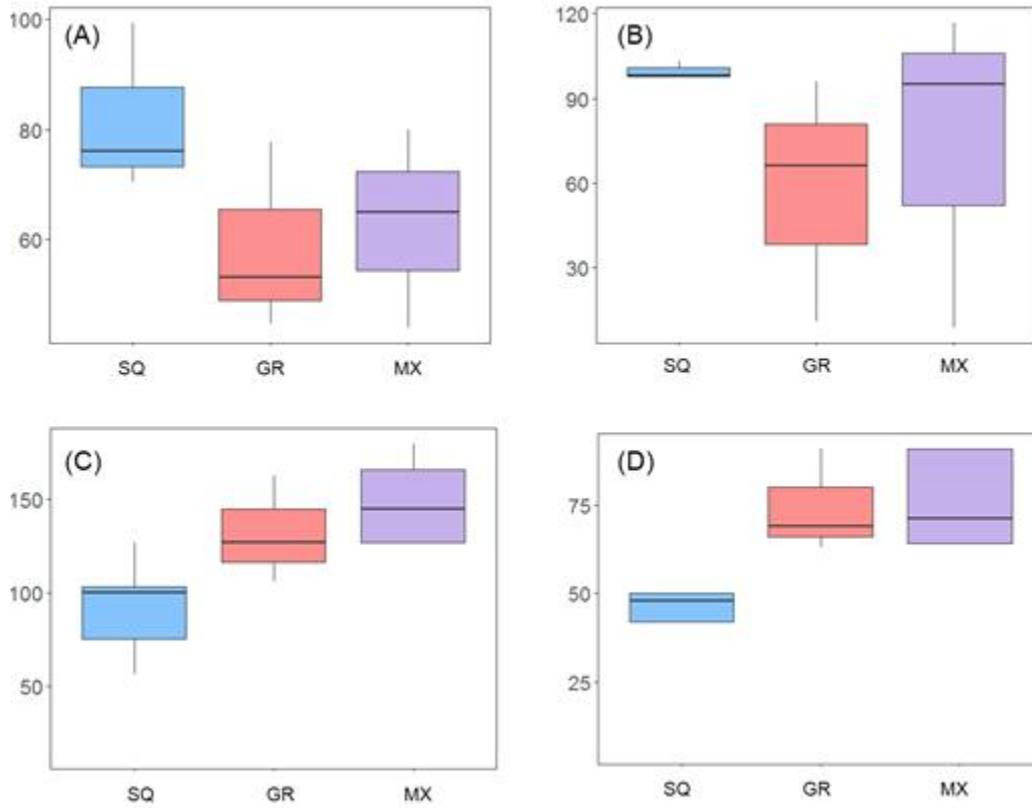
category	factor	chi-square	df	p-value	dataset	M	Sd
Topography	TOPEX1k_E	10.987	2	0.0041**	SQ	12.803 <sup>a</sup>	4.925
					MX	2.252 <sup>b</sup>	3.721
					GR	4.713 <sup>ab</sup>	10.612
Topography	TOPEX1k_W	9.932	2	0.0070**	SQ	-0.977 <sup>a</sup>	3.479
					MX	16.965 <sup>b</sup>	15.181
					GR	15.148 <sup>ab</sup>	17.685
Topography	TOPEX15m_NW	6.1804	2	0.0455**	SQ	-15.593 <sup>a</sup>	10.125
					MX	-1.554 <sup>b</sup>	5.896
					GR	0.218 <sup>ab</sup>	11.646
Topography	TOPEX15m_W	13.225	2	0.0013**	SQ	-8.497 <sup>a</sup>	5.721
					MX	8.650 <sup>b</sup>	14.372
					GR	10.869 <sup>ab</sup>	13.092
Microclimate(AT)	Number of days with AT of -15<AT<-10 °C in spring	7.6391	2	0.0219*	SQ	3.500 <sup>a</sup>	2.429
					MX	0.000 <sup>b</sup>	0.000
					GR	0.250 <sup>b</sup>	0.500
Vegetation	Andreaea	10.612	2	0.0050**	SQ	9.361 <sup>a</sup>	6.154
					MX	13.996 <sup>a</sup>	8.602
					GR	0.875 <sup>b</sup>	1.820
Vegetation	Sanionia uncinata	11.141	2	0.0038**	SQ	0.486 <sup>a</sup>	0.932
					MX	7.097 <sup>ab</sup>	7.965
					GR	15.611 <sup>b</sup>	8.676
Vegetation	Stereocaulon alpinum	16.878	2	0.0002***	SQ	0.181 <sup>ab</sup>	0.497
					MX	4.621 <sup>a</sup>	5.298
					GR	0.000 <sup>b</sup>	0.000
Vegetation	Psoroma species	13.47	2	0.0012**	SQ	1.637 <sup>a</sup>	4.871
					MX	12.694 <sup>b</sup>	8.260
					GR	4.911 <sup>a</sup>	2.260

**Table 9.** Association between haplotype differences of *Asterochloris erici* and microenvironments by Kruskal–Wallis rank sum test and nonparametric multiple comparisons. (One–way ANOVA of the complete data set with microenvironmental levels. Means followed by the different letter (a or b) are significantly different according to multiple comparisons with Scheffe post–hoc test (P<0.05). Signif. codes: 0 ‘\*\*\*’ 0.001 ‘\*\*’ 0.01 ‘\*’ 0.05 ‘.’ 0.1 )

category	factor	Df	Sum of square	Mean sq	F-value	Pr (>F)	dataset	M	Sd
Topography	TOPEX1k_NW	2	595.7	297.86	5.084	0.016 *	AICL3bMajor	10.010 <sup>a</sup>	13.948
	Residuals	21	1230.4	58.59			AICL3bMid	8.336 <sup>a</sup>	7.097
							AICL3bMinor	-1.083 <sup>ab</sup>	4.938
Topography	TOPEX1k_N	2	471.2	235.59	11.46	0.000 ***	AICL3bMajor	9.220 <sup>a</sup>	7.827
	Residuals	21	431.7	20.56			AICL3bMid	6.112 <sup>a</sup>	3.343
							AICL3bMinor	-1.568 <sup>b</sup>	3.981
Topography	TOPEX15m_E	2	1369	684.3	8.721	0.002 **	AICL3bMajor	-8.994 <sup>b</sup>	12.182
	Residuals	21	1648	78.5			AICL3bMid	-7.034 <sup>b</sup>	8.581
							AICL3bMinor	7.460 <sup>a</sup>	7.834

**Table 10.** Association between haplotype differences of *Asterochloris erici* and microenvironments by Kruskal–Wallis rank sum test and nonparametric multiple comparisons. (Kruskal–Wallis rank sum test of the complete data set with microenvironmental levels. Means followed by the different letter (a or b) are significantly different according to multiple comparisons with Games–Howell post–hoc test (P<0.05). Signif. codes: 0 ‘\*\*\*’ 0.001 ‘\*\*’ 0.01 ‘\*’ 0.05 ‘.’ 0.1 )

category	factor	chi-square	df	p-value	dataset	M	Sd
Topography	TOPEX1k_SE	8.3794	2	0.0152 *	AICL3bMajor	5.240 <sup>ab</sup>	7.017
					AICL3bMid	4.025 <sup>a</sup>	3.212
					AICL3bMinor	15.609 <sup>b</sup>	10.504
Topography	TOPEX1k_E	13.134	2	0.0014 **	AICL3bMajor	6.169 <sup>ab</sup>	11.663
					AICL3bMid	0.609 <sup>a</sup>	2.476
					AICL3bMinor	11.923 <sup>b</sup>	4.793
Topography	TOPEX1k_W	14.836	2	0.0006 ***	AICL3bMajor	17.584 <sup>ab</sup>	19.429
					AICL3bMid	20.116 <sup>a</sup>	13.113
					AICL3bMinor	-1.344 <sup>b</sup>	2.229
Topography	TOPEX15m_W	10.852	2	0.0044 **	AICL3bMajor	12.235 <sup>ab</sup>	14.700
					AICL3bMid	9.591 <sup>a</sup>	15.165
					AICL3bMinor	-6.444 <sup>b</sup>	6.508
Vegetation	<i>Psoroma</i> species	12.392	2	0.0020 **	AICL3bMajor	5.514 <sup>b</sup>	2.094
					AICL3bMid	13.687 <sup>a</sup>	8.476
					AICL3bMinor	1.909 <sup>b</sup>	3.807
Vegetation	<i>Sanioniaumcinata</i>	8.5276	2	0.0141 *	AICL3bMajor	18.920 <sup>a</sup>	5.231
					AICL3bMid	5.816 <sup>b</sup>	8.538
					AICL3bMinor	2.307 <sup>b</sup>	3.783



**Figure 9.** Environmental difference among study sites with exclusively *C. squamosa* (SQ) or *C. gracilis* (GR), and with both species (MX). Exposure rate of PAR near the ground compared with AWS data above 10 m of the ground in July 2015 to June 2016 (A), and December 2015 (B). The number of days with relative humidity of 100% in July 2015 to March 2016 (C) and in Spring (D).

## 제 7 절 남극 토양 세균의 질소원 변화에 따른 군집과 대사 반응 분석

### Analysis of bacterial response and nitrogen metabolism related to nitrogen source

#### 1. 서론

질소는 자연계 내에서 다양한 형태로 존재하는데, 대기에는 구성물질의 약 78%가 질소 가스( $N_2$ )의 형태로 존재한다. 질소는 생체를 구성하는 물질 중 4번째로 많은 원소이며, 핵산을 구성하는 주요 원소 중 하나이다. 또한 모든 생물체는 단백질의 구성 물질인 아미노산을 생산하기 위해 질소를 필요로 하고 식물과 많은 미생물들은 아미노산인 글루탐산을 합성하기 위해서 암모니아( $NH_3$ )를 세포 내로 유입시킴으로써 질소를 동화한다. 일부 생물체는 질산염( $NO_3^-$ )을 암모니아로 전환하는 동화적 질산 환원(assimilatory nitrate reduction) 반응을 통해 동화하기도 한다.

남극의 육상생태계의 질소 순환은 온대 지역과 비교하여 매우 단순하다. 남극에서의 인간 활동은 극히 제한적이므로 인간에 의한 질소 유입은 무시할 만하다. 주된 질소공급은 원 조류 서식지 분변에서 휘발된 암모늄의 침전과(Christie, 1987), 미생물에 의하여 대기 중의 질소를 생체 내로 고정하는 질소 고정이 유일하다.

질소 고정은 대기 중의 안정된 상태의 질소가 생물학적 혹은 비생물학적 과정을 통해 반응성이 높은 질소화합물( $NH_4^+$ ,  $NO_2^-$ ,  $NO_3^-$  등)로 변환되는 자연적인 과정이다. 대기로 부터 미생물에 의하여 고정된 암모니아 형태의 질소가 다른 생물이 활용하기 좋은 질산이나 아질산 상태로 질산화(nitrification)되는 과정도 세균의 역할이다. 이와 반대 반응인 질소 환원 과정(탈질화, denitrification)은 질소를 대기 중으로 다시 방출시키는 생태계의 질소 순환에 매우 중요한 기작이다(Figure 1).

남극 토양에서 질소 순환을 연구한 선행연구에서는, 남극반도 South Orkney Islands 의 Signy Island에서 질산화 세균이 탈질화 세균보다 수적으로 우세하기 때문에 토양 내 질소를 보존한다고 보고되었으나(Christie, 1987), Vishniac(1993)의 연구에서 Signy Island에는 암모니아 산화 세균이 검출되지 않았다. Yeargeau 등(2007)의 연구에서는 남극의 51°S(cool temperate - Falkland Islands) 부터 72°S(cold rock desert - Coal Nunatak)까지 5 지역의 토양 자체에서 질소 관련 유전자를 real-time PCR방법을 이용하여 정량적으로 분석 결과, 질소 관련 유전자의 존재는 위도 구배와 상관없이 존재하였으나, 탈질 유전자(*nir*, *nor*)의 경우에는 토양의 온도와 양의 상관관계를 나타냈다. 그러나

이러한 결과는 유전자의 유무만으로 확인한 결과이기 때문에 실제적으로 남극 육상생태에서 질소순환 관련 미생물의 활성은 확인하지 못하였다. 그러므로 남극 토양에서의 비배양적 방법에 의한 질소순환 관련 미생물을 연구함에 있어 매우 제한적일 수밖에 없다 (Yergeau et al., 2007, Pulschen et al., 2017).

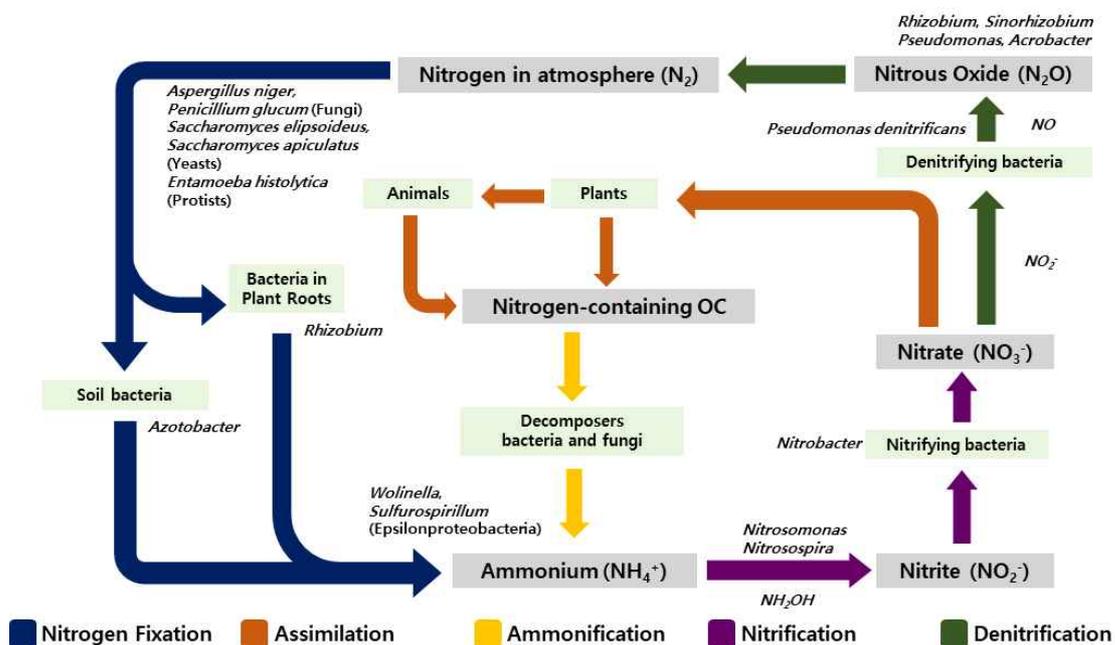


Figure 1. Nitrogen Cycle in terrestrial ecosystems

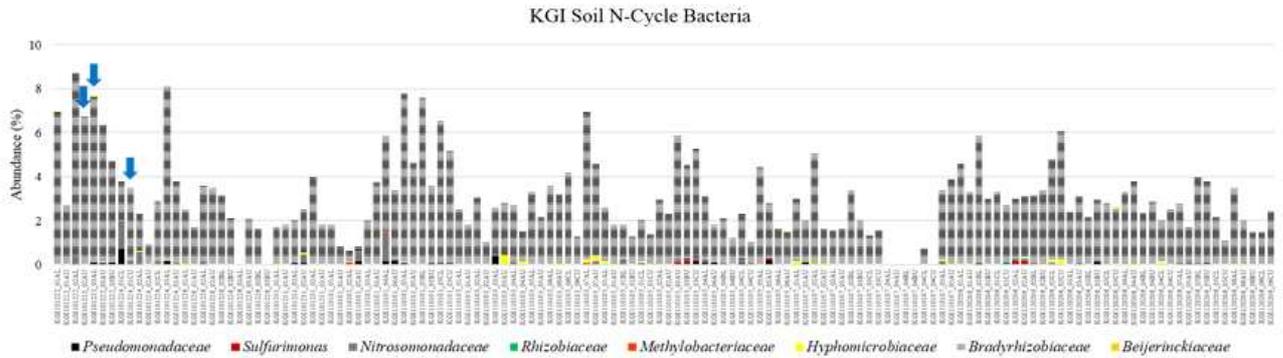
본 연구에서는 남극 토양에서의 질소순환에 관여하는 세균의 특징 연구를 위하여 농화배양을 이용하여, 1) 어떠한 미생물이 질소순환의 각 주요과정에서 관여하는지를 알아보고자 하였다. 또한 농화 배양 후, 환경유전체 분석을 수행함으로써 2) 이들의 유전학적 정보를 토대로 토양 미생물의 주요 질소 대사 경로를 연구하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 토양 시료 선별

남극 킹조지섬(King George Island) 바톤반도 토양 289개에서 질소고정, 암모니아 산화 그리고 탈질 작용에 관여하는 세균의 분포를 분석하였다(Kim et al., 2019). 질소 순환 과정에 관여하는 세균이 다양하게 분포하고 있으며, 검출 비율이 높은 시료 10개를 선별하였다. 선별한 시료는 질소고정(nitrogen fixation, *nifH* gene), 암모늄 산화(ammonium oxidation, *amoA* gene) 그리고 탈질(denitrification, *nirK·nirS·nosZ* gene) 작용에 관여하

는 유전자를 증폭하여 실제 토양시료 내에 기능유전자가 존재하는지 확인한 후 최종적으로 증폭이 확인된 시료 3개(101222\_03BU, 101224\_01CL, 101224\_02CL)를 선정하여 농화 배양을 실시하였다(Figure 2).



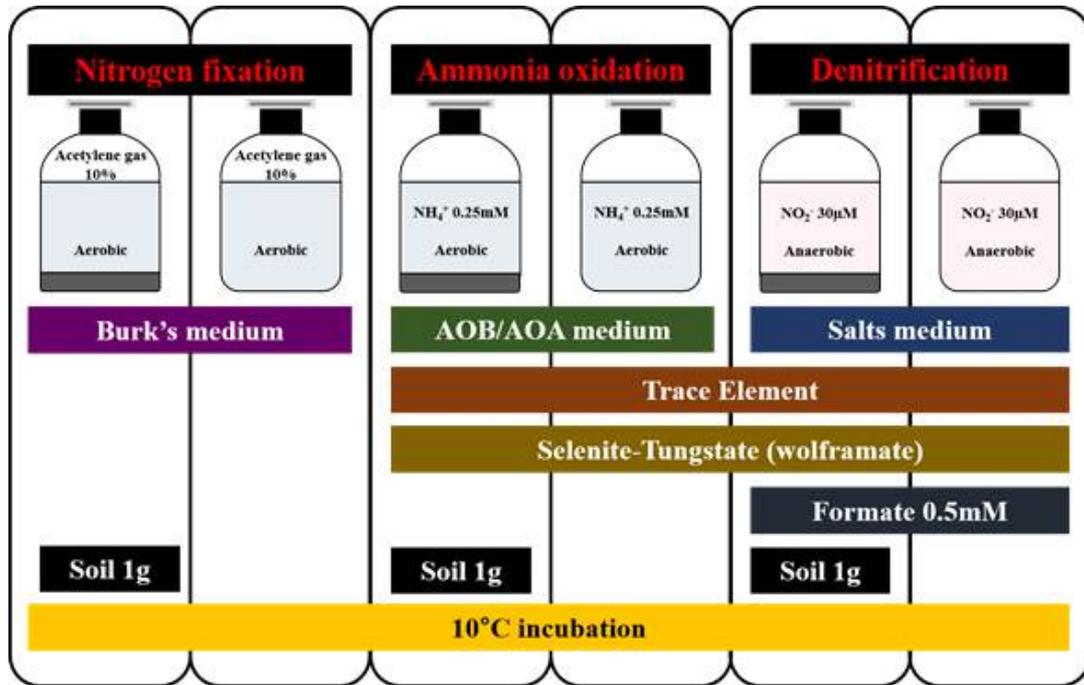
**Figure 2.** Distribution of bacteria involved in nitrogen cycle at the soil samples in King George Island. Samples were selected for enrichment of nitrogen fixing, ammonium oxidizing and denitrifying bacteria.

#### 나. 농화 배양

멸균된 160 ml의 serum vial에 배지 100 ml을 넣은 후 토양 1 g을 접종하고 고무마개로 vial을 막은 뒤 10°C에서 배양하였다. 각각의 과정에 대한 세균의 농화 배양 여부 확인은 다양한 형태의 질소를 측정하여 확인하였으며, 배양이 확인된 암모늄 산화 과정과 탈질 과정에 대하여는 군집 분석과 계대 배양을 진행하였다. 배양은 모두 3반복으로 진행하였다(Figure 3).

질소 고정(nitrogen fixation)은 Burk's 질소 제한 배지를 이용하였으며, 호기 상태로 배양을 진행하였다(Park et al., 2005). 질소고정 확인은 Acetylene reduction assay(ARA) 방법을 이용하였다(Hardy et al., 1968). 배지에 토양 접종 후 serum vial의 headspace(60 ml)의 공기 6 ml을 빼낸 뒤 acetylene 가스 6 ml을 첨가하여 headspace에 acetylene이 10%가 되도록 하였다. Acetylene의 농도 변화를 가스크로마토그래피(Agilent 7890B GC System, USA)를 이용하여 측정하였다. 137일 동안 배양하였다.

암모늄 산화(Ammonium oxidation)는 Selenite-tungstate와 trace element가 첨가된 AOA/AOB(Ammonium Oxidizing Bacteria/ Ammonium Oxidizing Archaea) 배지를 사용하였으며, 호기 상태로 배양을 진행하였다(Lebedeva et al., 2005). 암모늄 산화 세균은 토양 시료 접종 후  $\text{NH}_4^+$ 을 0.25 mM 첨가하여  $\text{NH}_4^+$  농도가 감소하고  $\text{NO}_2^-$ 와  $\text{NO}_3^-$  농도의 증가함을 측정하여 배양 여부를 확인하였다. 총 32일 배양하였다.



**Figure 3.** Enrichment setups using Barton Peninsula soil. Ammonium, nitrite and formate added to each bottle with combinations.

탈질(Denitrification)은 Selenite-tungstate와 trace element가 첨가된 Salt 배지를 사용하였으며, 배지와 vial을  $\text{N}_2$  가스와  $\text{CO}_2$  가스로 치환하여 배지와 serum vial을 혐기 상태로 만들어 배양하였다. 토양 시료 접종 시 혐기 챔버를 사용하였고, 토양 접종 후 formate 0.5 mM과  $\text{NO}_2^-$  30  $\mu\text{M}$ 을 첨가하였다. 배양액의  $\text{NO}_2^-$ 와  $\text{NO}_3^-$  농도의 감소량과 headspace의  $\text{N}_2\text{O}$  가스의 생성량을 측정하여 배양 여부를 확인하였다.  $\text{N}_2\text{O}$  가스의 생성 여부는 가스크로마토그래피(Agilent 7890B GC System, USA)를 이용하여 측정하였다. 총 32일 배양하였다.

암모늄( $\text{NH}_4^+$ ) 농도는 Colorimetric determination 방법을 사용하였으며(Kandeler & Gerber, 1988), 질산-아질산(combined  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{NO}_2^-$ )과 아질산( $\text{NO}_2^-$ ) 농도 측정은 Griess assay 방법을 사용하였다(Miranda et al., 2001). 측정 시료는 주사기를 이용하여 배양 중인 serum vial에서 배양액을 채취하여 사용하였다. 흡광값 측정은 Envision 2103 Multilabel Reader (Perkin Elmer, USA)를 사용하였다.

#### 다. Genomic DNA 추출 및 16S rRNA gene Illumina 분석

질소고정, 암모늄 산화 그리고 탈질 작용 능화 배양액을 50 ml conical tube에 methanol과 1 : 1 비율(25 ml : 25 ml)로 섞어서 30분간 4°C에서 정치한 후 7,000 rpm으

로 15분 간 원심분리 하여 상층액은 제거하고 토양과 배양체를 수거하였다. 수거한 토양과 배양체는 FastDNAR SPIN Kit(MP Biomedicals, Illkirch, France)를 사용하여 genomic DNA를 추출하였다. 계대 배양을 진행한 암모늄 산화와 탈질 작용의 2차 농화 배양액 50 ml을 0.2  $\mu$ m pore size 47 mm SuporR Membrane (Pall corp. USA)에 여과하여 배양된 세균을 수거하였다. 배양액의 여과지는 FastDNAR SPIN Kit (MP Biomedicals, Illkirch, France)를 사용하여 genomic DNA를 추출하였다.

추출한 genomic DNA는 16S rRNA gene의 V3-V4 부분에 해당하는 341F(5' - CCT ACG GGN GGC WGC AG - 3')와 805R(5' - GAC TAC HVG GGT ATC TAA TCC - 3') 프라이머를 사용하여 해당 지역을 증폭하였다. 추출한 genomic DNA와 16S rRNA gene의 증폭은 1% agarose gel에서 전기영동으로 확인하였다. 유전자 증폭 조건은 98°C에서 30초 간 initial denaturation 후, denaturation(98°C, 10초), annealing(50°C, 30초) 그리고 extension(72°C, 30초)을 25회 수행하였고 72 °C에서 5분간 final extension을 수행하였다. PCR은 총 20  $\mu$ l로 forward와 reverse 프라이머는 각각 10 pmol이 되도록 넣었으며, Taq polymerase는 Phusion Hot Start 2X Master Mix(NEB, UK) 를 사용하여 수행하였다. NGS(Illumina Miseq) sequencing을 위하여 barcode sequence가 붙은 forward와 reverse 프라이머와 결합시켜 16S rRNA gene을 증폭하였다. 각 시료의 증폭된 16S rRNA gene은 1% agarose gel에서 전기 영동을 통하여 증폭 정도를 확인하였으며 NanoDrop 2000(Thermo Fisher Scientific, USA) 을 이용하여 농도를 측정하였다. 전기영동 결과와 NanoDrop으로 측정한 농도를 참고하여 각 시료의 증폭된 16S rRNA gene 을 pooling하여 AMPure XP magnetic beads(Agencourt, USA)로 정제하였다.

정제된 16S rRNA gene은 NEBNextR Ultra™ II DNA Library Prep Kit for IlluminaR (NEB, E7645, UK)를 이용하여 Illumina sequencing을 위한 library를 제작하였다. Library 제작 과정에서는 우선 DNA의 양 끝 말단에 end-repair 과정을 통하여 blunt end를 형성하도록 반응시키고, Illumina adapter oligo를 ligation할 수 있도록 dATP를 부가하였다. 이후 AMPure XP magnetic beads(Agencourt, USA)로 DNA를 정제한 다음 NEBNextR Multiplex Oligos - Index Primer Set 1 (NEB, E7335S, UK)에서 adapter ligation을 수행하였다. 다시 AMPure XP magnetic beads(Agencourt, USA)로 정제된 DNA library는 각 시료마다 barcode를 달리한 P5, P7 primer 및 Q5R Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix (NEB, M0494S, UK)를 이용하여 10 cycle을 증폭하였으며, 증폭 조건은 98°C에서 30초간 initial denaturation 후 denaturation(98 °C, 10초), annealing 및 extension(65°C, 1분 15초) 을 12회 반복하고 마지막으로 final extension 을 65°C에서 5분간 수행하였다. 최종 DNA library는 AMPure XP magnetic

beads(Agencourt, USA) 로 정제하여 전기영동을 통해 library size를 확인하였다. 제작된 DNA library는 Korea Polar Research Institute (Incheon, Korea)에서 Illumina MiSeq을 이용한 250 bp paired-end platform(MiSeq Reagent Kit v2 Nano)으로 NGS sequencing을 수행하였다.

염기서열 분석결과는 PyroTrimmer를 사용하여 barcode, linker, 프라이머 sequence로 분류한 후, sequence의 길이와 homopolymers, quality score를 적용하여 sequence를 선별하였다(Oh et al., 2012). 선별된 sequence는 mothur(Schloss et al., 2009)를 사용하여 97% 수준으로 clustering하였다. 이 후 EzTaxon-e 데이터베이스(Kim et al., 2012)를 이용하여 각 OTU를 동정하였다.

#### 라. 환경유전체 분석

각 시료에서 추출한 genomic DNA 1 ug을 이용하여 NEBNext dsDNA FragmentaseR(NEB, M0348S, UK) 로 37°C에서 20분간 반응시켜 fragmentation한 후 전기영동으로 DNA 길이의 main peak가 500 bp 이하임을 확인하였다. Fragmented DNA는 AMPure XP magnetic beads로 정제하였다.

정제된 DNA는 NEBNextR Ultra<sup>TM</sup> II DNA Library Prep Kit for IlluminaR(NEB, E7645)를 이용하여 Illumina sequencing을 위한 library를 제작하였다. Library 제작 과정에서는 우선 DNA의 양 끝 말단에 end-repair 과정을 통하여 blunt end를 형성하도록 반응시키고, Illumina adapter oligo를 ligation할 수 있도록 dATP를 부가하였다. 이후 AMPure XP magnetic beads로 DNA를 정제한 다음 NEBNextR Multiplex Oligos - Index Primer Set 1 (NEB, E7335S)에서 adapter ligation을 수행하였다. 다시 AMPure XP magnetic beads로 정제된 DNA library는 각 시료마다 barcode를 달리한 P5, P7 primer 및 Q5R Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix (NEB, M0494S)를 이용하여 12 cycle을 증폭하였으며, 증폭 조건은 98°C에서 30초간 initial denaturation 후 denaturation(98°C, 10초), annealing 및 extension(65°C, 1분 15초)을 12회 반복하고 마지막으로 final extension 을 65°C에서 5분간 수행하였다. 최종 DNA library는 AMPure XP magnetic beads로 정제하여 전기영동을 통해 library size를 확인하였다. 제작된 DNA library는 Macrogen Inc.(Seoul, Korea)에 의뢰하여 Illumina MiSeq을 이용한 250 bp paired-end platform(MiSeq Reagent Kit v2)으로 NGS sequencing을 수행하였다.

Illumina MiSeq에서 생산된 raw data는 Trimmomatic v0.36(Bolger et al., 2014)을 이용하여 Phred score 20 이하 및 200 bp 미만의 sequence를 trim하였다(Figure 3).

Cleaned raw data는 NCBI Reference Sequence Database에서 Release 86 version의 nr protein database에 대해 diamond v0.8.36.98(Buchfink et al., 2015) 프로그램의 blastx 기능을 이용하여 비교분석 하였으며 얻어진 결과 daa 데이터는 MEGAN6 community edition(Huson et al., 2016) 프로그램 내의 daa2rma 기능으로 MEGAN에서 제공하는 EGGNOG, SEED, INTERPRO2GO database를 이용하여 taxonomic 및 functional annotation을 수행하였다. 최종 결과 rma 파일은 MEGAN6 프로그램을 이용하여 시각화 하였다. Metagenome assembly와 binning은 SPAdes v3.11.1(Bankevich et al., 2012) 의 metagenome assembly 기능을 이용하여 assembly 하였으며 생성된 결과 contig는 BinSanity v0.2.6.4 (Graham et al., 2017) 프로그램의 기본 parameter 설정으로 binning 과정을 수행하였다. Binning된 결과 cluster들은 checkm v1.0.9(Parks et al., 2015) 프로그램 및 내장된 universal bacterial market set 을 이용하여 completeness 및 contamination 정도를 확인하였다. 이 결과로 얻어진 cluster 중 추가 분석이 필요한 genome은 prokka v1.12(Seemann, 2014)을 이용하여 gene prediction 및 functional annotation을 수행하였다(Figure 4).

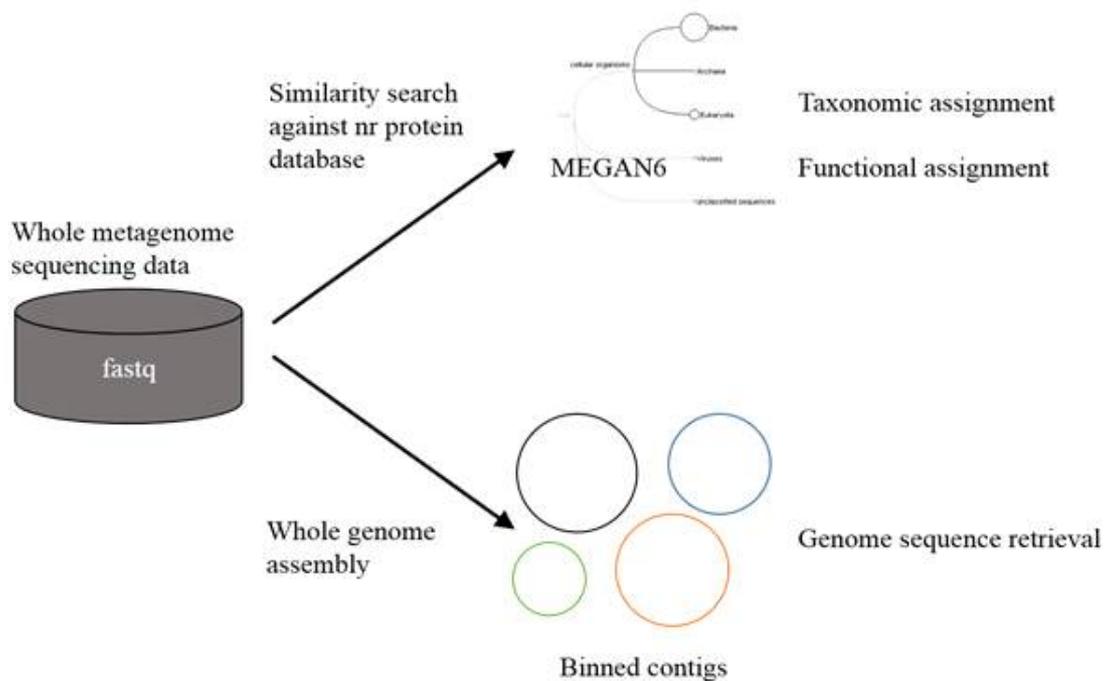
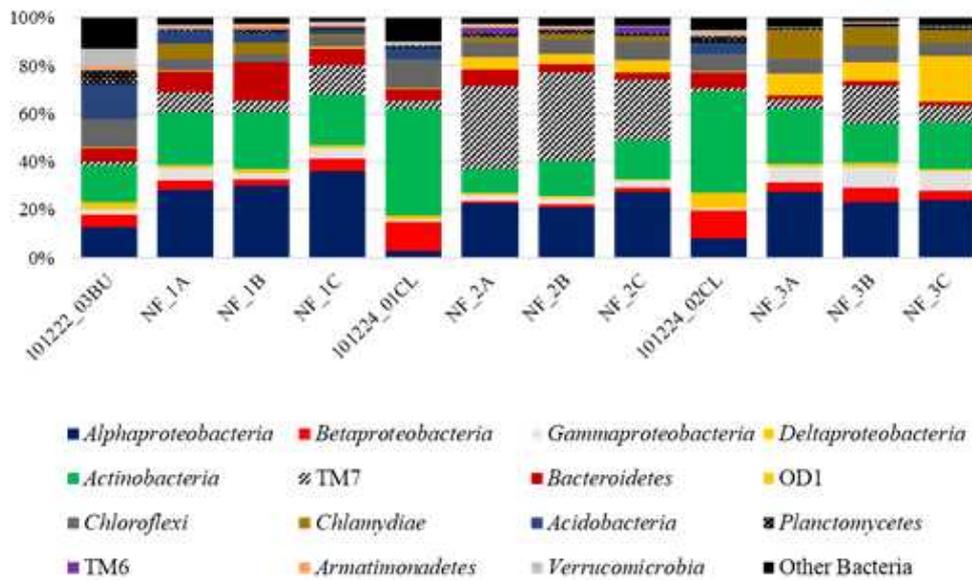


Figure 4. Flowchart of the metagenome data analysis.

### 3. 결과 및 토의

#### 가. 질소고정 세균의 농화 배양

암모늄 농도 측정 결과 시료 NF\_1과 시료 NF\_3에서 초기에 약간의 증가함이 보였다. 그러나 그 증가 값이 매우 낮은 수준이라 세균에 의하여 공기 중의 질소가 암모늄으로 고정된 것인지는 확신 할 수 없다. 또한 acetylene의 농도 값이 배양 32일까지 처음 주입한 농도에서 감소를 보이지 않았기 때문에 세균에 의한 질소 고정이라고 확신할 수 없는 것으로 판단된다. 배양 총 배양 137일 이후 genomic DNA를 추출하고 16S rRNA의 V3-V4 부분을 증폭하여 세균 군집구조 분석을 진행하였다. 세균 군집 분석 결과, 특정 분류군이 우점하여 배양된 경향은 보이지 않았으나, 초기 군집과는 차이를 보였다. 시료 NF\_1과 시료 NF\_3의 경우에는 *Alphaproteobacteria*가 2배 이상 배양되었고, 시료 NF\_2는 TM7이 30% 이상 우점하였다. 시료 NF\_2와 NF\_3에서는 OD1 phylum이 배양된 것을 확인하였다(Figure 5).



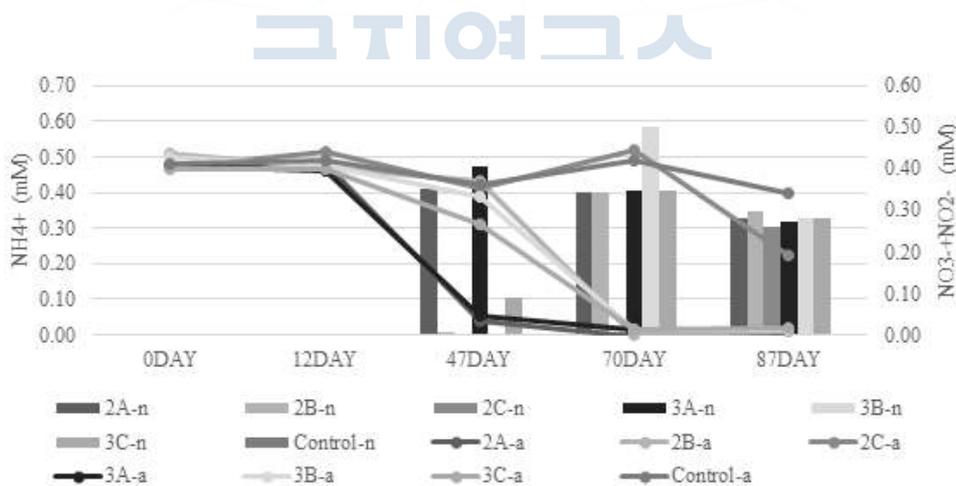
**Figure 5.** Bacterial community composition by phylum level at the soil and enrichment culture for nitrogen fixing bacteria.

#### 나. 암모늄 산화 세균의 농화 배양

암모늄 산화 세균의 농화 배양은 첨가해준 암모늄의 감소와 산화된 질소( $\text{NO}_3^-$ 와  $\text{NO}_2^-$ )의 증가량으로 배양 여부를 판단하였다. 암모늄의 농도는 큰 감소가 보이지 않았으나, 질산과 아질산의 농도는 배양을 진행할수록 모든 시료에서 증가하는 경향을 확인하였다. 이 결과를 바탕으로 암모늄 산화 세균의 농화 배양이 되었다고 판단하여 genomic

DNA를 추출하고 16S rRNA의 V3-V4 부분을 증폭하여 세균 군집구조 분석을 실시하고 계대 배양을 진행하였다. 세균 군집 구조의 변화 결과, 총 32 일간의 농화 배양 이후 시료 AO\_1의 경우 *Betaproteobacteria*와 *Bacteroidetes*가 크게 증가한 것을 확인하였다. *Betaproteobacteria* 강은 대부분 *Burkholderiales* 목에 해당하는 OTU가 우점하였으며, *Bacteroidetes* 문은 *Sphingobacteriaceae* 과에 해당하는 OTU가 우점하였다. AO\_2의 농화 배양 결과 *Gammaproteobacteria*와 *bacteroidetes*가 원시료보다 많이 분포하는 것으로 나타났다. AO\_2와 AO\_3에서는 *Gammaproteobacteria* 강의 *Pseudomonas* 속으로 동정된 OTU가 10%에서 25%까지 우점하는 것으로 나타났다. 반면 암모늄 산화 세균으로 알려진 *Nitrosomonas*와 *Nitrospira*는 AO\_2와 AO\_3에서 적은 비율로 검출되었다. *Nitrosomonas*는 AO\_3A시료에서만 0.15% 검출되었고, *Nitrospira*는 AO\_2A, AO\_2B, AO\_2C와 AO\_3A 시료에서 각각 0.83%, 0.29%, 0.15%와 0.13%이 검출되었다.

계대 배양(2차 배양)의 배양 조건은 앞선 1차 배양과 동일하였다. 계대 배양의 배양 기간은 총 87 일동안 진행하였으며, 1차 배양과 마찬가지로 첨가한 암모늄의 농도 감소와 산화된 질소의 증가량을 측정하여 암모늄 산화 세균의 배양 여부를 판단하였다. 시료 AO\_1을 제외하고 시료 AO\_2와 AO\_3에서는 첨가해 준 암모늄의 농도가 감소하는 것을 확인하였다. 산화된 질소의 농도 역시 시료 AO\_1을 제외하고 시료 AO\_2와 시료 AO\_3에서는 증가한 것으로 나타났다(Figure 6).



**Figure 6.** Changes of ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ), nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) and nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) concentration during the second enrichment culture for ammonium oxidizing bacteria. -n, nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) and nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ); -a, ammonium ( $\text{NH}_4^+$ ).

시료 AO\_1을 제외하고 시료 AO\_2와 AO\_3은 암모늄 산화 세균의 배양이 성공적으로 진행되었다고 판단되어 genomic DNA를 추출하고 16S rRNA의 V3-V4 부분을 증폭하여

세균 군집구조 분석을 실시하였다. 암모늄 산화 세균이 배양된 것으로 판단된 시료 AO\_2와 AO\_3이 비슷한 세균 군집 구조를 갖을 것으로 예상하였으나, 농화 배양 시료마다 각기 다른 세균 군집을 갖는 것을 확인하였다. 세균군집을 과(family) 수준으로 분석하였을 때, AO\_2A시료에서는 *Oxalobacteraceae*(22.6%)와 *Micavibrio*(28.5%), AO\_2B 시료에서는 *Parachlamydiaceae*(28.6%) 그리고 AO\_2C시료에서는 *Oxalobacteraceae*(63.5%)에 해당하는 OTU가 우점하였으며, AO\_3A시료에서는 *Pseudomonadaceae*(54.8%), AO\_3C시료에서는 *Parachlamydiaceae*(25.6%)에 해당하는 OTU가 우점하는 것으로 나타났다. 시료 AO\_3B에서는 특별히 우점하는 OTU 없이 전반적인 세균이 고르게 검출되었다. 암모늄 산화 세균인 *Nitrosomonas*은 AO\_2B에서 0.6% 검출되었으며, AO\_3A, AO\_3B와 AO\_3C시료 에서 각각 3.6%, 1.7% 와 1.3% 검출되었다. *Nitrosospira*는 2A, 2B 와 2C시료에서 4.3%, 1.0%와 2.2%로 나타났으며, AO\_3B와 AO\_3C시료에서 7.6%와 1.5%로 나타났다(Figure 7). 두 세균 모두 1차 배양에서보다는 분포량이 증가하였다.

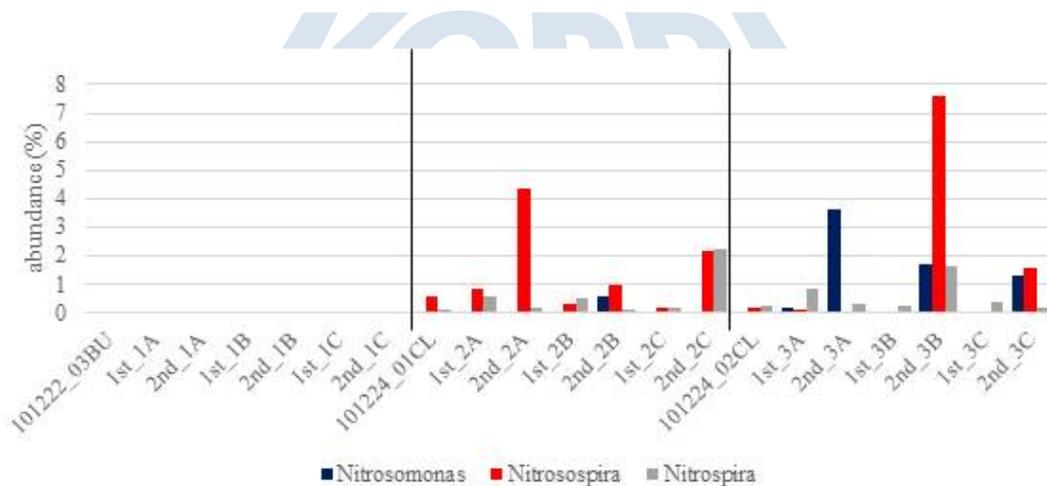


Figure 7. Changes in the distribution of ammonium oxidizing bacteria in enrichment culture.

농화 배양된 2차 배양체의 genomic DNA를 암모늄 산화 기능유전자인 amoA 유전자의 증폭(PCR)을 통하여 배양체 내의 암모늄 산화 기능유전자의 존재 유무를 확인하였다. 증폭 유무는 증폭산물을 전기 영동을 통하여 확인하였다. 암모늄 농도의 감소와 산화된 질소의 검출이 없었던 시료 AO\_1을 제외하고 시료 AO\_2와 AO\_3에서 모두 암모늄 산화 세균이 배양되었을 것이라 예상하였으나, 2차 농화 배양의 배양체 AO\_2C, AO\_3B 그리고 AO\_3C시료만이 amoA 유전자가 증폭되었다. amoA 유전자가 증폭되지 않은 시료는 암모늄 산화 세균이 없다고 단정할 수 없으나, 배양 기간이 길었기 때문에 첨가하여 준

암모늄을 모두 산화시킨 뒤, 지속적으로 생존하지 못하고 도태되거나 다른 세균에 의하여 생장이 저해된 것으로 추측된다. 남극 토양의 암모늄 산화 세균의 유전적 기능을 연구하기 위하여 amoA 유전자의 증폭이 확인되었으며, *Oxalobacteraceae*(63.5%)가 우점한 AO\_2C시료를 선별하였다.

#### 다. 탈질 세균의 농화 배양

탈질 작용은 산소가 없는 혐기 조건에서 산화된 질소를 환원시켜 최종적으로 N<sub>2</sub> 가스로 대기로 방출하는 과정이다. 탈질 세균의 1차 농화 배양 확인은 첨가하여 준 아질산(NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)과 질산(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>)의 농도가 감소하고 N<sub>2</sub>O 가스의 생성 여부로 확인하였다. 질산과 아질산의 농도는 모든 시료에서 배양 32 일 동안 감소하였으며, 특히 시료 DN\_2의 경우에는 배양 15일 째에 첨가하여 준 아질산이 모두 감소하였다. N<sub>2</sub>O 가스의 생성은 시료 DN\_1과 시료 DN\_2A에서만 나타났다. 그러나 N<sub>2</sub>O 가스가 생성된 뒤 N<sub>2</sub> 가스로 빠르게 전환되었을 가능성도 있으며, 질산과 아질산의 농도의 감소가 매우 뚜렷하게 나타났기 때문에 탈질 세균이 배양되었을 것으로 판단하고 계대 배양과 1차 농화 배양 배양체의 genomic DNA를 추출하고 16S rRNA의 V3-V4 부분을 증폭하여 세균 군집구조 분석을 진행하였다. 군집 구조 분석결과 시료 DN\_1은 *Betaproteobacteria*가 크게 우점하였으며, DN\_1B의 시료는 *Gammaproteobacteria*도 함께 우점하는 문으로 나타났다. 시료 DN\_2의 경우에는 DN\_2A는 *Firmicutes*와 *Bacteroidetes*가, DN\_2C는 *Gammaproteobacteria*와 *Firmicutes*가 우점하였고, DN\_2는 이 세 가지 phylum 모두 증가하였다. 시료 DN\_3은 3개의 반복 시료에서 모두 *Gammaproteobacteria* 문의 *Pseudomonas* 속이 55~70%를 차지하였다.

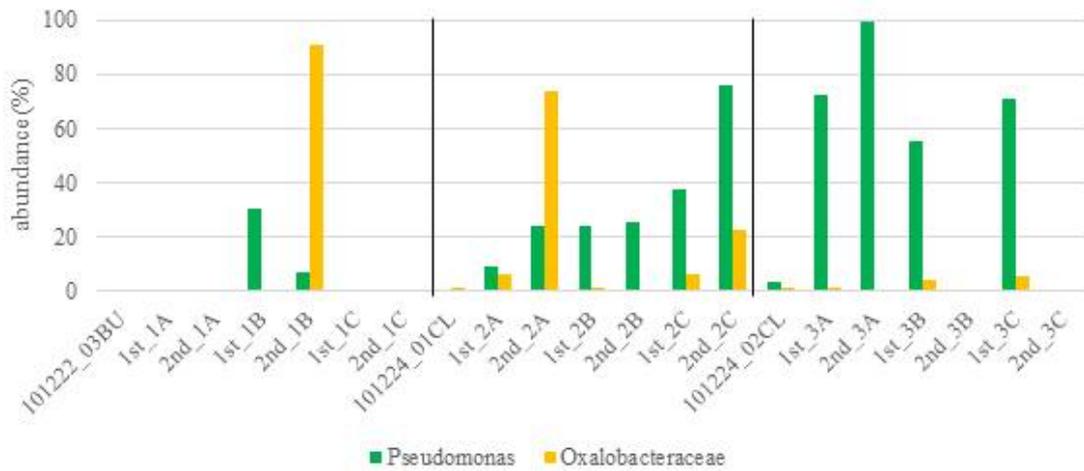
계대 배양(2차 농화 배양)의 질산과 아질산의 농도 변화를 측정된 결과, DN\_3B와 DN\_3C시료를 제외하고 모든 시료가 첨가해 준 아질산의 농도가 모두 소진된 것을 확인할 수 있었다(Figure 8).

배양 32 일 이후 탈질 세균의 배양이 성공적으로 진행되었다고 판단되어 genomic DNA를 추출하고 16S rRNA의 V3-V4 부분을 증폭하여 세균 군집구조 분석을 실시하였다. 다만 DN\_1A, DN\_1C, DN\_3B 그리고 DN\_3C의 시료는 16S rRNA의 V3-V4 부분이 증폭이 되지 않아 세균 군집 분석을 진행하지 못하였다. 군집분석 결과 세균 군집구조가 매우 단순하게 나타났다. DN\_1B, DN\_2A, DN\_2C 그리고 DN\_3A는 *Proteobacteria* (*Betaproteobacteria*와 *Gammaproteobacteria*)가 98~99%를 차지하였으며, DN\_2B는 *Actionbacteria*가 74%, *Gammaproteobacteria*가 25%로 나타났다. 남극 토양의 탈질 세균의 유전적 기능을 연구하기 위하여 *Oxalobacteraceae*가 90%로 나타난 DN\_1B 시료와

*Pseudomonas*가 99%로 우점한 DN\_3A 시료를 선별하였다(Figure 9).



**Figure 8.** Changes of nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) concentration during the second enrichment culture for denitrifying bacteria.



**Figure 9.** Changes in the distribution of denitrifying bacteria in enrichment culture.

#### 라. 농화 배양체의 환경유전체 분석

암모늄 산화 세균이 배양된 것으로 추측되는 AO\_2C 배양체와 탈질 세균이 배양된 것으로 추측되는 DN\_1B와 DN\_3B 배양체에 대하여 환경 유전체 분석을 실시하였다. NGS를 이용한 환경유전체 분석 결과 데이터에 대한 통계는 Table 1과 같다. Illumina MiSeq에서 생산된 read length는 250bp 이고, 각 시료의 생산된 sequence read 수는 AO\_2C, DN\_1B 그리고 DN\_3A시료에서 각각 7,148,512개, 7,296,886개와 7,879,450개였다. 이 데이터를 이용하여 nr protein database와 상동성을 비교 분석한 결과, 64~70%가 mapping되

었다(functional mapping rate). 또한 전체 데이터를 assembly하여 분석하였을 때, AO\_2C시료는 66.7%, DN\_1B시료는 79.8% 그리고 DN\_3A시료는 77.1% assembly 되었다. Functional mapping rate과 whole metagenome assembly rate은 68~80%의 결과를 얻은 것으로 보아 분석에는 충분한 데이터를 획득한 것으로 판단된다.

**Table 1.** Information of metagenome data at the enriched samples.

Enrichment condition	AO_2C	DN_1B	DN_3A
	Ammonium oxidation	Denitrification	
Read length (bp)	250	250	250
Reads	7,148,512	7,296,886	7,879,450
Throughput (Mbp)	1,787.10	1,824.20	1,969.90
Functional mapping rate (%)	70	64.1	67.6
Whole metagenome assembly rate (%)	66.7	79.8	77.1

세 가지 시료의 환경유전체 데이터를 MEGAN의 SEED functional assignment 이용하여 유전자적 기능을 분석하였다. 물질 대사 관련 AO\_2C 시료는 DN\_1B와 DN\_3C 시료에 비교하여 약 1/2 가량 적은 유전자를 가지고 있는 것으로 나타났다. 세 가지 시료의 물질대사 유전자의 분포 비율은 뚜렷한 차이가 나타나지 않았다. 다만 DN\_1B가 다른 두 가지 시료에 비교하여 많은 유전자를 가지고 있기 때문에 단백질 대사(protein metabolism) 관련 유전자와 Miscellaneous, Membrane transport, DNA metabolism, Cofactors, vitamins, prothetic groups, pigments 등 미생물의 주요 물질 대사에 대한 유전자가 많았다. 세 가지 시료의 질소 대사와 관련된 유전자는 DN\_1B시료에서 가장 많았다. 질소 관련 물질대사 유전자 중 denitrification pathway와 dissimilatory nitrite reductase pathway는 탈질 세균을 농화 배양한 DN\_1B와 DN\_3A시료에서 많이 나타났으며, ammonia assimilation pathway은 AO\_2C 시료에서 뚜렷하게 많았다. 이러한 결과는 농화 배양 조건인 암모늄 산화 작용과 탈질 작용에 따른 적절한 결과로 사료된다.

환경유전체의 질소 관련 유전자를 분석한 결과, 세 개의 유전체 모두 암모늄 산화를 포함한 질산화(*amo*, *hao*, *nxr*)와 탈질(*nar*, *nir*, *nor*, *noz*) 관련 유전자를 모두 가지고 있는 것을 확인하였다(Figure 10). 암모늄 산화 배양체인 AO\_2C의 군집 변화에서도 암모늄 산화 세균으로 알려진 *Nitrosospira*와 *Nitropira*가 0.5% 미만에서 둘 다 2% 이상 배양된 것을 확인하였다. 유전체 결과에서도 *amo* gene과 *hao* gene에 검출된 것으로 보아 암모늄 산화 세균이 배양된 것으로 판단된다. 또한 탈질 배양체인 DN\_1B와 DN\_3A에서 탈질의 전 과정에 필요한 유전자를 모두 가지고 있는 것으로 나타났다.

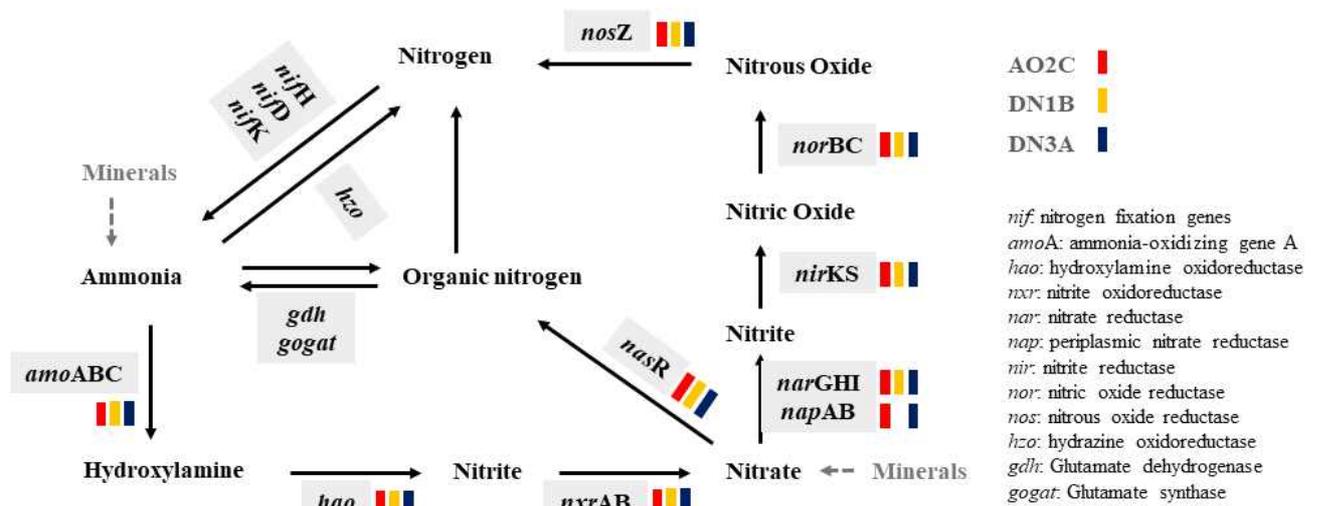


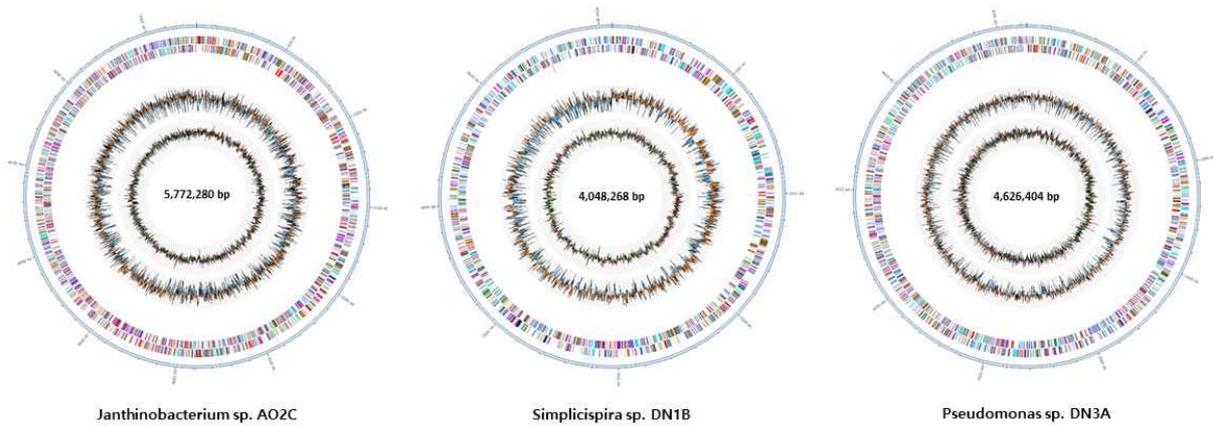
Figure 10. Schematic representation of genes related to nitrogen cycle for the genomes.

#### 마. Metagenomic assembled genome (MAG)

SPAdes 프로그램을 이용하여 whole metagenome을 assembly 수행 후, BinSanity 프로그램으로 binning한 결과 high quality clustered contig(82~98%)를 각각 하나씩 얻었으며 annotation 결과 각 시료 별로 1개씩 총 3개의 genome을 획득하였다. AO\_2C, DN\_1B와 DN\_3A 시료에서 획득한 genome은 *Janthinobacterium* sp. AO2C(5,772,280 bp), sp. DN1B(4,048,268 bp) 그리고 *Pseudomonas* sp. DN3A(4,626,404 bp) 라 명명하였다(Table 2, Figure 11).

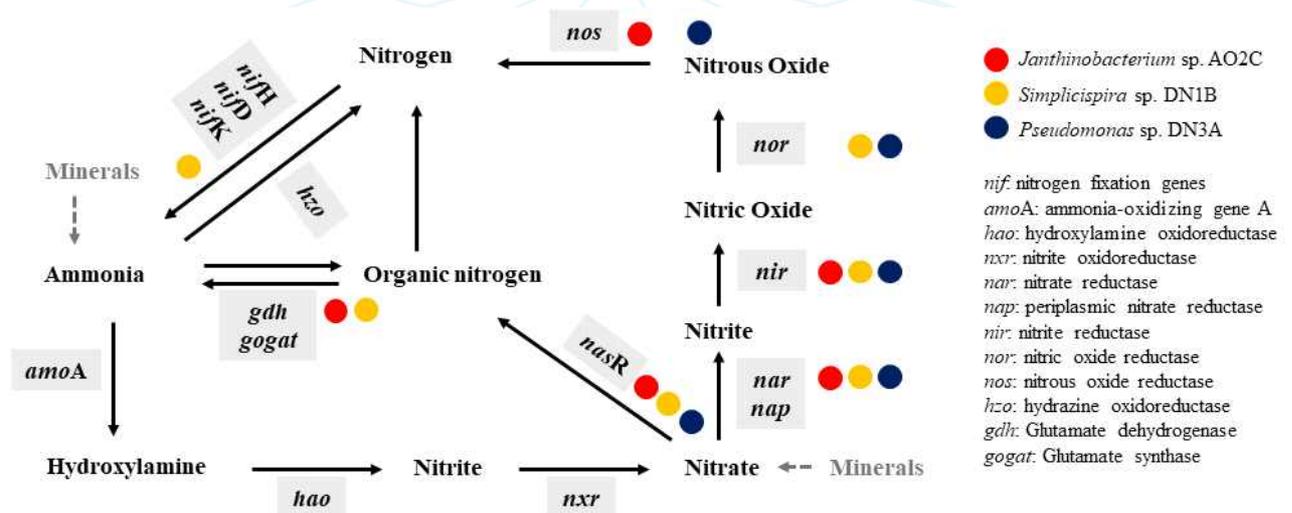
Table 2. Information of genome from enriched samples.

Enrichment condition	Amonium oxidation		Denitrification
Organism	<i>Janthinobacterium</i> sp. AO2C	<i>Simplicispira</i> sp. DN1B	<i>Pseudomonas</i> sp. DN3A
contigs	716	265	839
bases	5,772,280	4,048,268	4,626,404
CDS	5,154	3,713	4,360
tmRNA	0	1	1
rRNA	0	6	1
tRNA	71	50	36



**Figure 11.** Genome map of *Janthinobacterium* sp. AO2C (left), *Simplicispira* sp. DN1B (center) and *Pseudomonas* sp. DN3A (right) obtained using metagenome analysis.

육상생태계에서 질소는 매우 다양한 형태로 존재하고 미생물에 의하여 다양하게 형태 전환이 가능하기 때문에 그 순환에 관여하는 유전자도 매우 다양하게 존재한다. 획득한 3 가지 genome에서 질소 순환과 관련된 유전자를 탐색한 결과 각기 다르게 나타났다 (Figure 12).



**Figure 12.** Schematic representation of genes related to nitrogen cycle in genomes

암모늄산화 배양체에서 획득한 *Janthinobacterium* sp. AO2C의 genome은 *Janthinobacterium svalbardensis*와 가장 유사하며 Average Nucleotide Identity (ANI) 지수가 98.99로 두 종은 같은 종으로 해석된다. Assembly 및 binning된 *Janthinobacterium* sp. AO2C의 genome은 전체 716개의 contig로 구성되어 있으며 N50

length는 13,353 bp, genome coverage는 11.92x, annotation 결과 총 5,154개의 유전자를 가지고 있는 것으로 분석되었다. 대사경로 관련 유전자 BLAST 검색 결과 binning된 유전체에서 암모늄 산화 유전자인 *amoA* 또는 질산화 유전자인 *hao*와 *nxr* 유전자는 탐색되지 않았다. 따라서 배양체의 데이터에서 검출된 *amo* gene과 *hao* gene은 *Janthinobacterium svalbardensis* 외의 배양체에 존재하는 *Nitrosospira*에 의하여 암모늄 산화를 포함한 질산화 유전자가 발현되는 것으로 추측된다. 암모늄 산화 능화 배양에서 배양된 *Janthinobacterium* sp. AO2C는 암모늄 산화 세균은 아니지만, *gdh* 유전자가 존재하는 것으로 보아 유기 질소인 클루탐산을 암모늄으로 바꾸어 암모늄 산화 세균에 제공하는 것으로 사료되며 이것은 추후 심도 있는 연구가 필요한 것으로 생각된다. 암모늄 산화 세균은 암모늄을 산화시켜 다른 미생물이 질소를 사용하기 좋은 형태로 전환시키기 때문에 질산이나 아질산을 이용하려는 세균이 함께 서식하는 경우가 많다. 따라서 *Janthinobacterium* sp. AO2C 역시 그러한 세균 중 하나 일 것으로 생각된다.

탈질 배양체의 유전체에서 Assembly 및 binning된 *Simplicispira* sp. DN1B의 genome은 전체 265개의 contig로 구성되어 있으며 N50 length는 25,762 bp, genome coverage는 17.50x, 총 3,713개의 유전자를 가지고 있는 것으로 분석되었다. *Pseudomonas* sp. DN3A genome의 경우 전체 839개의 contig로 구성되어 있으며 N50 length는 7,532 bp, genome coverage는 10.86x, annotation 결과 총 4,360개의 유전자를 가지고 있는 것으로 분석되었다. *Simplicispira* sp. DN1B와 *Pseudomonas* sp. DN3A에서는 질산( $\text{NO}_3^-$ )에서 아질산( $\text{NO}_2^-$ ), 산화질소(NO) 그리고 아산화질소( $\text{N}_2\text{O}$ )로 전환시키는 유전자인 *nar*, *nir*, *nor* 이 모두 발견된 것으로 보아 이 두 세균은 탈질 과정에 관여하는 세균인 것으로 사료된다. *Simplicispira* sp. DN1B와 *Pseudomonas* sp. DN3A는 각각 *Simplicispira psychrophila*(ANI 82.32), *Pseudomonas fluorescens*(ANI 94.76)와 유사도가 가장 높으며, ANI지수가 97이하로 아직 보고되지 않은 새로운 세균으로 사료된다. 저온( $10^\circ\text{C}$ )에서 활성을 가지는 새로운 세균인 *Simplicispira* sp. DN1B와 *Pseudomonas* sp. DN3A의 유전체 정보 획득하였으며, 탈질화 배양체에서 획득한 두 가지 세균은 탈질과정에 관여하는 유전자(*nar*, *nas*, *nir*, *nor*)를 모두 가지고 있는 경우는 드문 경우이다. 두 가지 세균은 남극 토양에서 탈질 작용에 중요한 역할을 할 것으로 사료된다. 특히 *Pseudomonas* sp. DN3A는 *nos* gene이 탐색된 것으로 보아 혐기 환경에서 아산화질소( $\text{N}_2\text{O}$ )를 질소( $\text{N}_2$ )가스로 변환시키는데 중요한 작용을 하는 세균으로 판단된다(Table 3).

**Table 3.** Search results of genes related to nitrogen cycle in *Janthinobacterium* sp. AO2C, *Simplicispira* sp. DN1B and *Pseudomonas* sp. DN3A genome.

<i>Janthinobacterium</i> sp. AO2C		<i>Simplicispira</i> sp. DN1B		<i>Pseudomonas</i> sp. DN3A	
gene	product	gene	product	gene	product
<b><i>nif</i></b>		<i>nifL</i>	Nitrogen fixation regulatory protein		
		<i>nifU</i>	<i>NifU</i> -like protein		
<i>narG</i>	Respiratory nitrate reductase 1 alpha chain	<i>narG</i>	Respiratory nitrate reductase 1 alpha chain	<i>narG</i>	Respiratory nitrate reductase 1 alpha chain
<i>narI</i>	Respiratory nitrate reductase 1 gamma chain				
<i>narJ</i>	Nitrate reductase molybdenum cofactor assembly chaperone <i>NarJ</i>	<i>narJ</i>	Nitrate reductase molybdenum cofactor assembly chaperone <i>NarJ</i>		
<b><i>nar</i></b>		<i>narK</i>	Nitrate/nitrite transporter <i>NarK</i>		
	<i>narL</i>				
	<i>narT</i>				
			<i>narV</i>	Respiratory nitrate reductase 2 gamma chain	
<i>narX_1</i>	Nitrate/nitrite sensor protein <i>NarX</i>	<i>narX</i>	Nitrate/nitrite sensor protein <i>NarX</i>		
<i>narX_2</i>	Nitrate/nitrite sensor protein <i>NarX</i>				
<i>narY</i>	Respiratory nitrate reductase 2 beta chain	<i>narY</i>	Respiratory nitrate reductase 2 beta chain		
<i>nirD</i>	Nitrite reductase (NADH) small subunit				
<i>nirM</i>	Cytochrome c-551 precursor			<i>nirM</i>	Cytochrome c-551 precursor
<b><i>nir</i></b>		<i>nirQ_1</i>	Denitrification regulatory protein <i>NirQ</i>	<i>nirQ</i>	Denitrification regulatory protein <i>NirQ</i>
		<i>nirQ_2</i>	Denitrification regulatory protein <i>NirQ</i>		
		<i>nirS</i>	Nitrite reductase precursor	<i>nirS_1</i>	Nitrite reductase precursor
				<i>nirS_2</i>	Nitrite reductase precursor
<b><i>nor</i></b>		<i>norB_1</i>	Nitric oxide reductase subunit B		
		<i>norB_2</i>	Nitric oxide reductase subunit B		
		<i>norB_3</i>	Nitric oxide reductase subunit B		
		<i>norC_1</i>	Nitric oxide reductase subunit C		
		<i>norC_2</i>	Nitric oxide reductase subunit C		
				<i>norM</i>	Multidrug resistance protein <i>NorM</i>
		<i>norR2</i>	Nitric oxide reductase transcription regulator <i>NorR2</i>	<i>norR</i>	Anaerobic nitric oxide reductase transcription regulator <i>NorR</i>

	<i>nosB</i>	Nitric oxide reductase subunit B			
<b><i>nos</i></b>	<i>nosR</i>	Nitric oxide reductase transcription regulator <i>NorR2</i>			<i>nosZ</i> Nitrous-oxide reductase precursor
	<i>gdhA</i>	Glutamate dehydrogenase	<i>gdhA</i> <sub>1</sub>	Glutamate dehydrogenase	
<b><i>gdh</i></b>			<i>gdhA</i> <sub>2</sub>	NADP-specific glutamate dehydrogenase	
	<i>gdhB</i>	NAD-specific glutamate dehydrogenase			
	<i>nasA_1</i>	Nitrate transporter	<i>nasA</i>	Nitrate transporter	<i>nasA</i> Nitrate reductase
	<i>nasA_2</i>	Nitrate reductase			
<b><i>nas</i></b>					<i>nasC</i> Assimilatory nitrate reductase catalytic subunit
	<i>nasD_1</i>	Nitrite reductase [NAD(P)H]			<i>nasD</i> Nitrite reductase [NAD(P)H]
	<i>nasD_2</i>	Nitrite reductase [NAD(P)H]			
	<i>nasE</i>	Assimilatory nitrite reductase [NAD(P)H] small subunit			

계대 배양 결과 탈질 세균의 농화 배양은 혐기 환경과 저온 환경인 점을 고려할 때 약 30일 정도의 배양 기간은 적당한 것으로 판단된다. 그러나 암모늄 산화 세균의 농화 배양의 경우에는 80일이 넘는 배양 기간 동안 암모늄은 소비되었음에도 불구하고 암모늄을 산화하는 세균이 우점하지는 않았다. 이것은 최소배지 적용 후 3차 계대배양을 진행할 경우 암모늄을 산화하는 세균의 complete genome을 확보할 만큼의 세포수를 확보할 수 있을 것이라 예상된다. 이 연구의 결과는 genomic DNA를 통하여 얻어진 genome sequence로 분석한 것이기 때문에 세균의 생태계에서 기능과 활성을 유전자의 기능으로 예측은 가능하지만 실제 활성과 유전자의 발현을 확인하기는 어렵다. 질소 순환에 있어서 세균의 활성을 연구하기 위해서는 유전자의 실질적 발현량을 분석하는 transcript 분석을 수행할 필요가 있다. 그러나 농화 배양 방법을 이용한 이 연구를 통하여 새로운 세균(신종 수준)을 complete genome 수준의 high quality clustered contig를 획득하였다는 점에서 기존의 연구와 차별화된다.

## 제 8 절 지의류 주요 내생 세균의 특성 분석

### Physiological analysis of lichen-associated bacteria

#### 1. 서론

지의류는 지의류 형성 필수 미생물인 지의류형성 곰팡이와 지의류형성 조류(또는 남세균)의 공생체로 알려져 있다. 하지만 배양법과 비배양법을 통해 지의류 내에는 이들 외에도 지의류 내생 조류, 곰팡이, 세균이 함께 서식하는 것으로 보고가 되고 있다. 특히 세균 군집 중, *Alphaproteobacteria* 강(class)에 속하는 *Rhizobiales* 목(order)의 균주는 지의류 종이나 서식처와 상관없이 지의류 내에 우점하고 있는 세균 그룹으로 알려져 있다 (Grube et al., 2016; Hodkinson et al., 2012; Lee et al., 2014; Printzen et al., 2012; Cardinale et al., 2012; Bates et al., 2011).

분자적 기법을 적용하여 지의류 내생 세균 군집이 보고된 이후, *Rhizobiales* 목(order)의 지의류 관련 *Rhizobiales*-1 (lichen-associated *Rhizobiales*-1, LAR1) 리니지(lineage) 내 세균 그룹이 특히 지의류 내에서 우점하는 것으로 보고되었다(Hodkinson et al., 2012; Printzen et al., 2012, Bates et al., 2011; Hodkinson and Lutzoni, 2009; Park et al., 2016; Cardinale et al., 2006). LAR1과 가장 가까운 균주들은 *Beijerinckiaceae*와 *Methylocystaceae* 과(family)에 속하는데 이들은 질소고정을 하는 세균을 포함하고 있는 그룹이다. 따라서, LAR1에 속하는 균주는 지의체 내에서 고정된 질소 공급과 같이 중요한 영양분을 공급하는 기능을 수행할 것이라 제안되어 왔다(Hodkinson et al., 2012; Printzen et al., 2012; Hodkinson and Lutzoni, 2009). 하지만, 이는 배양체를 활용한 직접적인 생리특성 분석 기반이 아니므로, 지의류 내생 세균의 기능을 이해하고자 배양체를 확보하기 위한 노력이 지속되어 왔다(Jiang et al., 2017; Lee et al., 2014; Cardinale et al., 2006; Selbmann et al., 2010). 이를 통해 LAR1에 속하는 균주의 배양이 보고 되었고, 질소 고정에 관여하는 *nifH* 유전자의 존재가 보고되었다(Jiang et al., 2017). 그러나 다상분류학적 개념 적용을 통한 균주의 동정이 수행되지 않아 공식적인 명명을 따르지 않은 채 해당 균주들은 여전히 LAR1으로 남아 있고, 공식적으로 인증된 기탁기관에 기탁이 되지 않아 이들 균주를 접근하기가 어려운 상황이다. 따라서 본 연구에서는 남극 지의류로부터 LAR1에 속하는 균주의 확보, 다상분류학적 접근을 통한 명명, 이들의 생리 특성 분석을 통해 이들이 지의류 내에서 수행하는 기능을 파악하고자 하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 지의류 시료 채취 및 세균 배양

*Psoroma antarcticum*를 킹조지섬 바톤반도(62°14'23.99"S, 58°44'35.98"W)에서 채집하여 실험에 사용 전까지 -20도에 보관하였다. 지의류 내생 세균의 배양을 위해 0.85% NaCl 용액 1 ml을 지의류 시료에 넣어 Multi-EP tube vortexer(FinePCR)로 10분간 섞어 준 후, 12,000 rpm으로 2분간 원심분리하여 상등액을 제거하였다. 이를 4회 반복 후, 시료에 비드를 넣어 TissuLyzer II로 시료를 2분간 분쇄한 후, 100 µL를 1/10배 희석된 Reasoner's 2A (R2A) 고체 배지에 도말하여 10°C에서 19일간 배양하였다.

### 나. 동정

gDNA 는 Mini Tissue DNA kit(Cosmo Genetech Inc.)를 이용하여 제조자의 지시에 따라 추출하였다. 27F와 1492R 프라이머(Lane 1991)를 이용하여 16S rRNA 유전자를 증폭하였고, LaboPass PCR purification kit(Cosmo Genetech Inc.)로 정제한 후, 27F, 518R, 800R 및 1492R로 염기서열을 분석하였다. 확보한 염기서열(총 1,413 bp)과 기존에 알려진 표준균주의 16S rRNA 유전자와의 유사도를 EzBioCloud 데이터베이스(Yoon et al., 2017)를 활용하여 분석하였다. 또한 16S rRNA 유전자의 유사도를 기준으로 근연의 균주를 포함하여 neighbour-joining 알고리즘(Saitou and Nei, 1987)을 이용하여 MEGA X 프로그램으로 계통도를 작성하였다(Kumar et al., 2018).

### 다. 유전체 분석

PAMC 29128 유전체는 Illumina MiSeq apparatus(LAS Inc.)를 이용하여 확보 후, CLC Genomics Workbench(version 8.5.1)를 이용하여 조립하였다. PAMC 29148의 유전체는 PacBio RS II apparatus(LabGenomics)를 이용하여 확보 후, SMRT Analysis (version 2.3.0)(Schultz et al., 2000)로 조립하였다. 확보한 유전체의 명명(Annotation)은 Rapid Annotation using Subsystems Technology (RAST) server (Aziz et al., 2008), Clusters of Orthologous Groups of proteins (COGs) database (Tatusov et al., 2000), KEGG Automatic Annotation Server (KAAS) (Moriya et al., 2005)를 이용하여 수행하였다. Orthologous average nucleotide identity (ANI) 알고리즘(Edgar, 2010; Yoon et al., 2017)과 genome-to-genome distance calculation (GGDC) (Auch et al., 2010)에 의한 in silico DNA - DNA hybridization (DDH)를 기준으로 ANI를 산출하여 유전체기반 유사도를 확인하였다.

## 라. 생리특성 분석

균주는 R2A 고체 배지에 균주를 도말하여 각각 0, 4, 10, 15, 20, 25, 30 및 37°C에 14일간 배양하여 성장 여부를 판정하였다. 성장을 위한 pH 범위는 완충용액(pH 4.0 - 5.0, MES; pH 5.5 - 6.0, MOPS; pH 6.5 - 7.0, AMPD; pH 8.0 - 9.5, CAPS; pH 10.0)을 사용하여 pH 4.0에서 pH 10.0까지 0.5 단위로 pH를 조정된 R2A 액체 배지에 균주를 접종하여, 14일간 하루 간격으로 600 nm 파장에서 흡광도를 측정(EnVision plate reader, PerkinElmer)하여 결정하였다. NaCl에 대한 내성은 R2A 고체 배지에 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 7.5, 10 및 15% NaCl(w/v)을 첨가하여 15°C에서 14일간 배양하여 성장을 육안으로 관찰하여 측정하였다. 과산화수소 분해효소(catalase)의 활성은 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>에 대한 반응으로, 산화효소(oxidase)의 활성은 Kovacs 등(1956)에 기술된 대로 tetramethyl-p-phenylenediamine의 색깔 변화로 확인하였다. 균주의 산소 요구도는 R2A 배지에 균주를 접종하여 AnaeroPak (Mitsubishi Gas Chemical)을 포함한 혐기배양조에 넣어 15°C에서 14일간 배양하여 성장을 확인하였다. 그람 염색은 Gram-stain kit (Sigma)를 사용하여 확인하였고, 운동성은 0.4% agar를 포함한 R2A 배지에 균주를 접종하여 이들의 성장 형태에 따라 운동성 여부를 판정하였다. 투과전자현미경 관찰은 carbon-coated copper 그리드에 균주 현탁액을 넣어 2.0% uranyl acetate로 염색을 하여 인하대학교 공동기기원의 투과전자현미경(CM200, Philips)으로 관찰하였다. 생화학적 활성도는 API 20NE (bioMerieux), API ZYM (bioMerieux) 와 GN2 Microplates (Biolog)를 이용하여 측정하였다. 메탄올, 포름알데하이드, 포메이트, 메티아민, 포도당을 탄소원으로 사용하는지의 여부는 minimal salt 액체 배지에 각각 0.1%의 기질을 첨가하여 600 nm 파장에서 흡광도를 측정(EnVision plate reader, PerkinElmer)하였다. 질소고정 여부는 질소가 없는 고체 배지 (Kerstens et al., 2006)에 균주를 양성대조균으로 사용한 *Sinorhizobium*속 균주를 함께 배양하여 성장 여부를 통해 판정하였다. 퀴논은 high-performance liquid chromatography (HPLC) 기법을 이용하여 한국미생물보존센터 (Korean Culture Center of Microorganisms, KCCM)에 의뢰하여 측정하였다. 지방산은 제조자의 지시를 따라 추출하여, 가스 크로마토그래피를 통해 Microbial Identification (MIDI)로 분석하였다.

## 3. 결과 및 토의

### 가. 분리 동정 균주 목록

남극 지의류 *Psoroma antarcticum*로부터 총 61 균주(*Caballeronia* 속 11 균주, *Frondehabitans* 속 2 균주, *Methylocapsa* 속 1 균주, *Methylosinus* 속 5 균주,

*Mycobacterium* 속 1 균주, *Nakamurella* 속 1 균주, *Pseudomonas* 속 1 균주, *Rhizobium* 속 2 균주, *Rhodanobacter* 속 8 균주, *Roseiarcus* 속 9 균주, *Sphingomonas* 속 20 균주)를 확보하였다(Table 1). 이 중, LAR1 그룹에 속하는 후보 균주 PAMC 29128과 PAMC 29148에 대해 다상분류학적 동정을 추가 진행하였다.

Table 1. 확보한 지의류 내생 균주 목록

Strain No.	Scientific name	Similarity	Strain No.	Scientific name	Similarity
PAMC 29054	<i>Caballeronia sordidicola</i>	98.79%	PAMC 29147	<i>Rhodanobacter</i> sp.	98.40%
PAMC 29056	<i>Caballeronia sordidicola</i>	98.81%	PAMC 29108	<i>Roseiarcus</i> sp.	94.00%
PAMC 29057	<i>Caballeronia sordidicola</i>	98.80%	PAMC 29109	<i>Roseiarcus</i> sp.	93.90%
PAMC 29058	<i>Caballeronia sordidicola</i>	98.81%	PAMC 29110	<i>Roseiarcus</i> sp.	94.06%
PAMC 29061	<i>Caballeronia sordidicola</i>	98.81%	PAMC 29111	<i>Roseiarcus</i> sp.	93.90%
PAMC 29062	<i>Caballeronia sordidicola</i>	98.79%	PAMC 29116	<i>Roseiarcus</i> sp.	94.06%
PAMC 29084	<i>Caballeronia sordidicola</i>	98.69%	PAMC 29126	<i>Roseiarcus</i> sp.	93.95%
PAMC 29085	<i>Caballeronia sordidicola</i>	98.71%	PAMC 29132	<i>Roseiarcus</i> sp.	94.11%
PAMC 29098	<i>Caballeronia sordidicola</i>	98.75%	PAMC 29141	<i>Roseiarcus</i> sp.	93.98%
PAMC 29099	<i>Caballeronia sordidicola</i>	98.79%	PAMC 29144	<i>Roseiarcus</i> sp.	93.85%
PAMC 29059	<i>Caballeronia</i> sp.	99.03%	PAMC 29083	<i>Sphingomonas glacialis</i>	99.84%
PAMC 29060	<i>Frondehabitans peucedani</i>	99.27%	PAMC 29088	<i>Sphingomonas glacialis</i>	99.84%
PAMC 29063	<i>Frondehabitans peucedani</i>	99.29%	PAMC 29086	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.74%
PAMC 29128	<i>Methylocapsa</i> sp.	93.86%	PAMC 29087	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.76%
PAMC 29145	<i>Methylocapsa</i> sp.	93.65%	PAMC 29089	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.73%
PAMC 29096	<i>Methylosinus</i> sp.	93.59%	PAMC 29092	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.74%
PAMC 29097	<i>Methylosinus</i> sp.	93.56%	PAMC 29093	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.74%
PAMC 29120	<i>Methylosinus</i> sp.	93.87%	PAMC 29094	<i>Sphingomonas</i> sp.	97.80%
PAMC 29148	<i>Methylosinus</i> sp.	93.84%	PAMC 29095	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.78%
PAMC 29140	<i>Mycobacterium</i> sp.	97.76%	PAMC 29100	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.76%
PAMC 29139	<i>Nakamurella panacisegetis</i>	99.43%	PAMC 29101	<i>Sphingomonas</i> sp.	97.85%
PAMC 29055	<i>Pseudomonas</i> sp.	98.41%	PAMC 29102	<i>Sphingomonas</i> sp.	97.82%
PAMC 29082	<i>Rhizobium</i> sp.	97.67%	PAMC 29104	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.74%
PAMC 29125	<i>Rhizobium</i> sp.	97.73%	PAMC 29119	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.83%
PAMC 29103	<i>Rhodanobacter</i> sp.	98.29%	PAMC 29122	<i>Sphingomonas</i> sp.	97.64%
PAMC 29105	<i>Rhodanobacter</i> sp.	98.27%	PAMC 29123	<i>Sphingomonas</i> sp.	97.80%
PAMC 29117	<i>Rhodanobacter</i> sp.	98.45%	PAMC 29127	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.83%
PAMC 29118	<i>Rhodanobacter</i> sp.	98.55%	PAMC 29130	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.74%
PAMC 29124	<i>Rhodanobacter</i> sp.	98.62%	PAMC 29143	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.02%
PAMC 29129	<i>Rhodanobacter</i> sp.	98.40%	PAMC 29146	<i>Sphingomonas</i> sp.	98.83%
PAMC 29138	<i>Rhodanobacter</i> sp.	98.58%			

나. 16S rRNA 유전자 기반 동정

PAMC 29128과 PAMC 29148의 16S rRNA 유전자의 염기서열을 기존에 알려진 표준 균주와 비교한 결과, 두 균주는 *Methylocapsa palsarum*과 93.8% ~ 93.9%의 유사도를, *Methylosinus trichosporium* 과 93.8% 유사도를 나타냈다. 또한 계통도에서도 PAMC 29128과 PAMC 29148은 Rhizobiales 과(family) 내 다른 그룹과 구별되며, LAR1 리니지(lineage)에 속하는 것을 확인할 수 있었다(Figure 1).

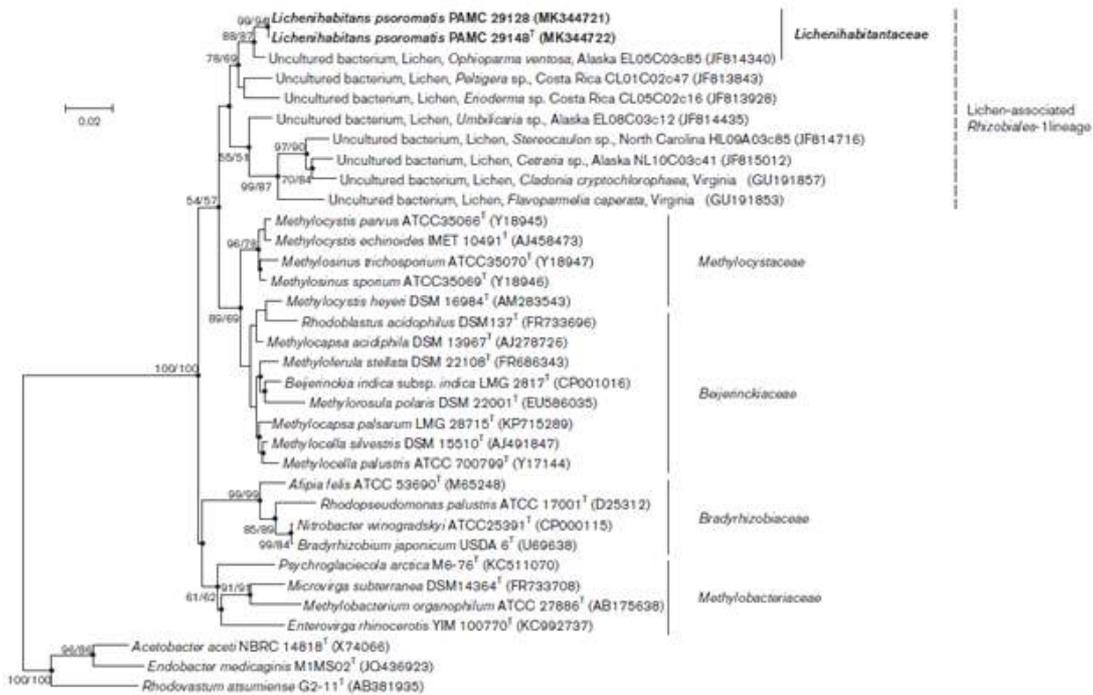


Figure 1. 16S rRNA 유전자 염기서열 기반 Neighbor-Joining 계통도

나. 유전체 기반 유사도 비교

유전체 염기서열 분석을 통해 54개의 컨티그(contigs)를 포함한 PAMC 29128 유전체를 확보하였고, 이들은 4,673개의 단백질 코딩 유전자, 47개의 tRNA 유전자 및 1개의 rRNA 오페론을 포함하는 것을 확인하였다(Table 2). PAMC 29148 유전체의 경우, 4,832개의 단백질 코딩 유전자, 54개의 tRNA 유전자 및 3개의 rRNA 오페론을 포함하는 3개의 컨티그(contigs)를 확보하였다(Table 2).

확보한 유전체를 기반으로 유전체 기반 계통도(phylogenomic tree)를 작성한 결과, 16S rRNA 유전자 기반에서와 마찬가지로, 기존에 알려진 균주들과 독립적인 클레이드를 형성하며 새로운 리니지(lineage)를 형성하는 것을 확인하였다(Figure 2). 유전체간 비교를 통해 ANI 값을 산출한 결과, PAMC 29128와 PAMC 29148 두 균주간 ANI 값은

98.1%(Table 3)로, 종을 구분하는 기준인 95-95%를 상회하는 값을 보였다(Richter et al., 2009). PAMC 29128와 PAMC 29148 두 균주간 DDH 값 또한 82.6%로 두 균주는 동일 종임을 확인할 수 있었다(Rosselló-Mora and Amann, 2001). 반면, PAMC 29128와 PAMC 29148 두 균주와 *Rhizobiales* 과(family)내 표준균주와의 유전체 비교 결과, ANI 값은 71.2 - 71.4 %이하 및 DDH 값은 22.7% 이하를 나타내었다(Table 3).

**Table 2.** PAMC 29128와 PAMC 29148<sup>T</sup>의 유전체 정보

	PAMC 29128	PAMC 29148
Sequencing platform	MiSeq (300 bp × PE)	PacBio RS II
Library (fragment size)	TruSeqDNA Nano (550 bp)	SMRTbell (20 kbp)
Mean (sub)read length (bp)	267	8,190
Sequencing coverage	219×	71×
Assembler (version)	CLC Genomics (8.5.1)	SMRT Analysis (2.3.0)
Genome size (bp)	4,677,349	4,836,481
Number of contigs (> 1 kbp)	54	3
N50 (bp)	249,924	4,836,481
DNA coding region (%)	90.3	88.8
DNA G + C content (%)	63.0	63.1
CDSs	4,673	4,832
CDSs assigned to COGs	3,733	3,892
CDSs assigned to KEGG	2,136	2,217
rRNA operon	1	3
tRNA	47	54

**Table 3.** *Lichenihabitantaceae* 두 균주 PAMC 29128과 PAMC 29148과 이들과 가장 가까운 균주의 유전체 기반 유사도

Strain	ANI (%)									DDH (%)								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1. PAMC 29128 (PRJNA523866)																		
2. PAMC 29148 <sup>T</sup> (PRJNA523865)	98.1									82.6								
3. <i>Methylocapsa palsarium</i> LMG 28715 <sup>T</sup> (PRJEB17422)	70.7	70.7								20.1	20.9							
4. <i>Methylocapsa acidiphila</i> DSM 13967 <sup>T</sup> (PRJNA72841)	71.1	71.2	75.0							21.1	21.5	21.5						
5. <i>Methylocella sibirica</i> DSM 15510 <sup>T</sup> (PRJNA224116)	71.2	71.2	74.1	74.8						19.8	20.9	20.6	20.6					
6. <i>Methyloferula stellata</i> DSM 22108 <sup>T</sup> (PRJNA165575)	70.7	71.4	72.2	73.5	73.2					19.0	19.5	20.4	20.9	20.7				
7. <i>Beijerinckia indica</i> LMG 2817 <sup>T</sup> (PRJNA224116)	70.1	70.2	72.4	72.7	72.1	72.7				21.2	22.7	21.8	22.3	20.6	20.9			
8. <i>Rhodoblastus acidophilus</i> ATCC 25092 <sup>T</sup> (PRJNA224116)	70.9	70.7	71.3	71.8	71.6	70.7	70.6			19.9	19.8	19.2	19.6	19.9	19.7	21.0		
9. <i>Methylosinus trichosporium</i> ATCC 35070 <sup>T</sup> (PRJNA224116)	71.2	71.2	72.1	72.6	72.9	72.2	71.6	72.8		18.9	19.5	20.0	19.8	19.8	19.8	21.2	19.7	
10. <i>Methylocystis parvus</i> ATCC 35066 <sup>T</sup> (PRJNA81429)	70.9	71.2	71.8	72.0	72.3	71.1	70.9	72.3	75.7	20.6	21.0	19.9	20.8	20.3	19.8	22.0	20.1	21.4

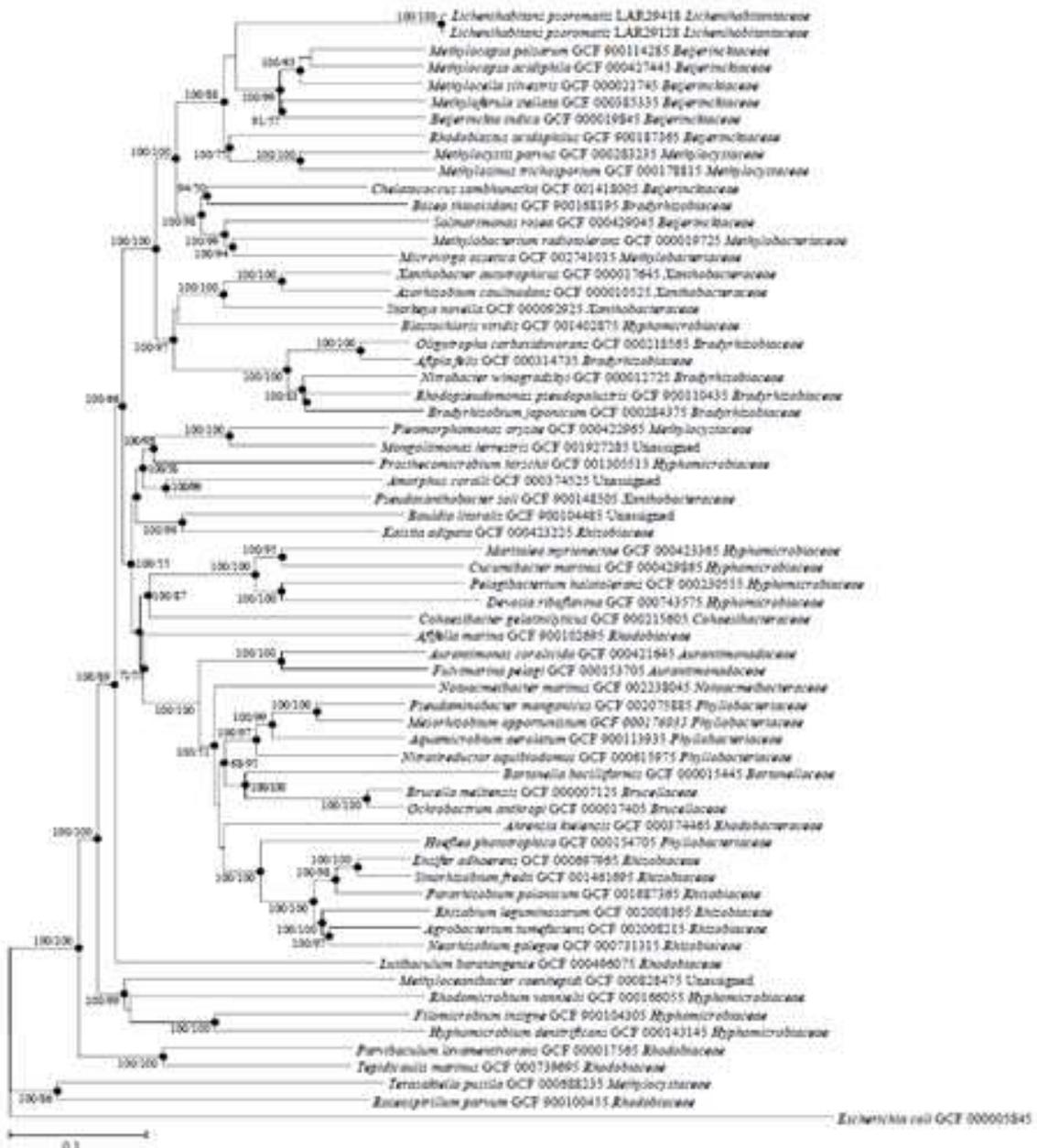


Figure 2. 유전체 염기서열 기반 Neighbor-Joining 계통

다. 생리특성 비교

온도, pH 범위, 염분(NaCl) 내성도 등에 대한 균주의 성장 확인 결과, 성장은 4 - 20°C (최적 15°C), pH 5.5 - 7.0 (최적, pH 6.5) 및 NaCl이 첨가되지 않을 때에만 성장을 확인할 수 있었다(Table 4). 그람 음성, 조건부 혐기성 화학 종속영양, 막대기 모양의 비유동성의 균주로, 퀴논은 Q-10을 가지고 있는 것으로 나타났다(Table 4 및 Figure 4). 또한 10% 이상의 높은 비율의 지방산은 summed feature 8(C<sub>18:1</sub>ω7c and/or C<sub>18:1</sub>ω6c; 33.7 - 39.7%), summed feature 3 (C<sub>16:1</sub> ω7c and/or C<sub>16:1</sub> ω6c; 25.2 - 25.2%), 및 C<sub>19:0</sub>cycloω8c (11.9 - 15.4%) 이었다(Table 5). 또한 유전체 분석 결과, PAMC 29128와 PAMC 29148 두 균주는 질소고정에 관여하는 유전자인 nitrogenase 효소를 포함하지 않고, methane monooxygenases와 methanol dehydrogenases와 같은 1 탄소 물질의 이용관련 효소도 관찰되지 않았다(Table 6).

**Table 4.** *Lichenihabitanceae* 두 균주 PAMC 29128과 PAMC 29148과 이들과 가장 가까운 균주의 생리 특성 차이

Characteristic	1 <sup>a</sup>	2 <sup>b</sup>	3 <sup>c</sup>	4 <sup>d</sup>	5 <sup>e</sup>	6 <sup>f</sup>	7 <sup>g</sup>	8 <sup>h</sup>	9 <sup>h</sup>
Oxygen requirement	Facultative anaerobic	Aerobic	Aerobic	Aerobic	Aerobic	Aerobic	Aerobic in the dark/ anaerobic in the light	Aerobic	Aerobic
Quinones	Q-10	ND	ND	ND	Q-10	ND	Q-10 MK-10 RQ-10	Q-8	Q-8
G+C content (mol%)	63.1*	61.7	63.1	60	55.6-57.5	54.7-58.5	62.2-66.8	63	64-67
Nitrogen fixation ( <i>nif</i> ) gene	-†	+	++	++	++	+	++	+	+
Utilization of:									
Methane	-†	+	+	+	+	++	-†	+	+
Methylamine	-	ND	-	+	-	ND	ND	-	-
Methanol	-	+	+	+	+	++	+	+	+
Glucose	+	-	-	-	-	+	-	-	-

Strains: 1, *Lichenihabitans psoromatis* PAMC 29148<sup>1</sup>; 2, *Methylocapsa palsarum* LMG 287152<sup>T</sup>; 3, *Methylocapsa acidiphila* DSM 13967<sup>T</sup>; 4, *Methylocella silvestris* DSM 15510<sup>T</sup>; 5, *Methyloferula stellata* DSM 22108<sup>T</sup>; 6, *Beijerinckia indica* subsp. *indica* LMG 2817<sup>T</sup>; 7, *Rhodoblastus acidophilus* ATCC 25092<sup>T</sup>; 8, *Methylosinus trichosporium* ATCC 35070<sup>T</sup>; 9, *Methylocystis parvus* ATCC 35066<sup>T</sup>.

**Table 5.** PAMC 29128과 PAMC 29148의 지방산 분포

Fatty acid	PAMC 29148	PAMC 29128
C <sub>12:0</sub>	4.4	3.7
C <sub>14:0</sub>	0.8	1.3
C <sub>16:0</sub>	3.8	4.2
C <sub>17:0</sub> cyclo	nd	1.4
C <sub>18:0</sub>	4.7	4.5
C <sub>18:1</sub> $\omega$ 7c 11-CH <sub>3</sub>	3.3	3.5
C <sub>19:0</sub> cyclo $\omega$ 8c	<b>11.9</b>	<b>15.4</b>
C <sub>18:0</sub> 3-OH	3.3	3.4
C <sub>20:2</sub> $\omega$ 6,9c	nd	0.8
Summed Feature 2	2.9	2.8
Summed Feature 3	<b>25.2</b>	<b>25.4</b>
Summed Feature 8	<b>39.7</b>	<b>33.7</b>

**Table 6.** *Lichenihabitantaceae* 두 균주 PAMC 29128과 PAMC 29148과 이들과 가장 가까운 균주의 C1 탄소 대사 기작과 질소 고정 관련된 유전자 비교

Function	Gene	A		B						C	
		PAMC 29128	PAMC 29148T	<i>Methylococcus palmarum</i> (DSM NZ_FOSN000000000.1)	<i>Methylocapsa acidiphila</i> (GCF 000427445)	<i>Methylocella silvestris</i> (GCF 000021745)	<i>Methyloferula stellata</i> (GCF 000385335)	<i>Beijerinckia indica</i> subsp. <i>indica</i> (GCF 000019845)	<i>Rhodoblastus acidiphilus</i> (GCF 900187365)	<i>Methylostinus trichosporium</i> (GCF 000178815)	<i>Methylococcus parvus</i> (GCF 000283235)
C1 metabolism	Methanol dehydrogenase (EC 1.1.2.7)			0	0	0	0	0	0	0	0
	Methane monooxygenase component A alpha chain (EC 1.14.13.25)					0	0	0		0	0
	Methane monooxygenase component A beta chain (EC 1.14.13.25)					0	0	0		0	0
	Methane monooxygenase component A gamma chain (EC 1.14.13.25)					0	0	0		0	0
	Methane monooxygenase component C (EC 1.14.13.25)					0	0	0		0	0
	Methane monooxygenase regulatory protein B					0	0	0		0	0
	Particulate methane monooxygenase A-subunit (EC 1.14.13.25)			0	0					0	0
Particulate methane monooxygenase B-subunit (EC 1.14.13.25)			0	0					0	0	
Particulate methane monooxygenase C-subunit (EC 1.14.13.25)			0	0					0	0	
Nitrogen fixation	4Fe-4S ferredoxin, nitrogenase-associated			0	0	0	0	0	0	0	0
	Iron-sulfur cluster assembly scaffold protein NifU					0				0	0
	Homocitrate synthase (EC 2.3.3.14)			0	0	0	0	0	0	0	0
	LRV (FeS) <sub>4</sub> cluster domain protein clustered with nitrogenase cofactor synthesis			0	0	0	0	0	0	0	0
	NifT protein			0	0	0	0	0	0	0	0
	NifX-associated protein			0	0	0	0	0	0	0	0
	NifZ protein			0	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrogenase (molybdenum-iron) alpha chain (EC 1.18.6.1)			0	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrogenase (molybdenum-iron) beta chain (EC 1.18.6.1)			0	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrogenase (molybdenum-iron) reductase and maturation protein NifH			0	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrogenase (molybdenum-iron)-specific transcriptional regulator NifA			0	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrogenase FeMo-cofactor carrier protein NifX			0	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrogenase FeMo-cofactor scaffold and assembly protein NifE			0	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrogenase FeMo-cofactor scaffold and assembly protein NifN			0	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrogenase FeMo-cofactor synthesis FeS core scaffold and assembly protein NifB			0	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrogenase FeMo-cofactor synthesis molybdenum delivery protein NifQ			0	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrogenase stabilizing/protective protein NifW			0	0	0	0	0	0	0	0
	Nitrogenase-associated protein NifO			0	0	0	0	0	0	0	0
	probable iron binding protein from the HesB_IscA_SufA family in Nif operon			0	0	0	0	0	0	0	0
	AnfO protein, required for Mo- and V-independent nitrogenase									0	0
	Nitrogenase (iron-iron) alpha chain (EC 1.18.6.1)									0	0
	Nitrogenase (iron-iron) beta chain (EC 1.18.6.1)									0	0
	Nitrogenase (iron-iron) delta chain (EC 1.18.6.1)									0	0
	Nitrogenase (iron-iron) reductase and maturation protein AnfH									0	0
	Nitrogenase (iron-iron) transcriptional regulator									0	0
	Nitrogenase (vanadium-iron) alpha chain (EC 1.18.6.1)									0	0
	Nitrogenase (vanadium-iron) beta chain (EC 1.18.6.1)									0	0
	Nitrogenase (vanadium-iron) delta chain (EC 1.18.6.1)									0	0
	Nitrogenase vanadium-cofactor synthesis protein VufN									0	0
	Nitrogenase vanadium-cofactor synthesis protein VufX									0	0

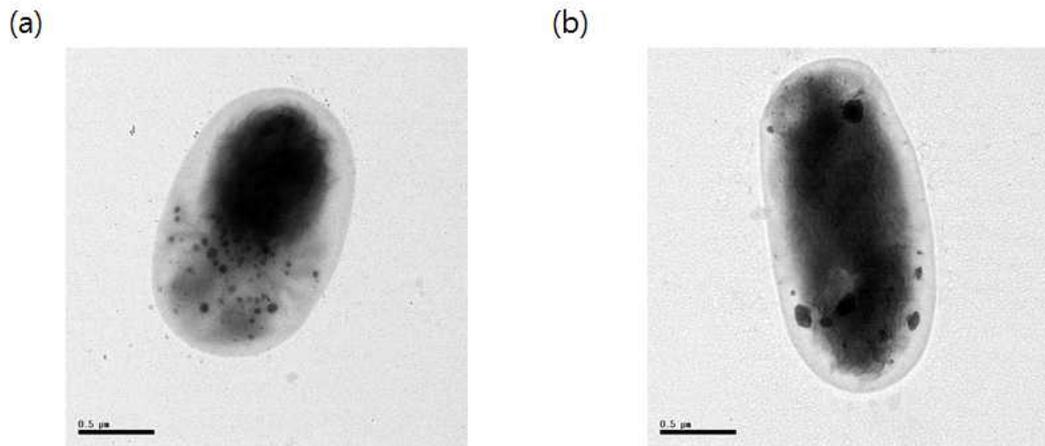


Figure 3. 투과전자현미경 사진 (a) PAMC 29128 (b) PAMC 29148

#### 라. 결론

유전체 및 생리 특성 분석 등 다상분류학적인 분석 결과, 지의류의 종이나 서식처에 관계없이 우점하는 것으로 알려진 *Rhizobiales*-1 (lichen-associated *Rhizobiales*-1, LAR1)에 속하는 두 개의 균주 PAMC 29128과 PAMC 29148은 *Rhizobiales* 목(oeder)의 다른 과(family)에 속하는 균주와는 구분이 되는 균주로, *Lichenihabitantaceae* 과(family)의 *Lichenihabitans psoromatis*로 명명하였다.

극지연구소

## 제 9 절 토양온도 상승에 따른 세균 군집의 부식질 분해율 변화 분석

### Temperature effects on humic substance-degradation by soil bacterial communities

#### 1. 서론

해양성 남극 지역은 글로벌 기후변화에 따른 기온상승을 포함하는 급격한 환경변화에 매우 민감하게 반응하고 있다. 과거 수십 년에 걸쳐 이 지역은 급격한 온도상승이 발생하였는데, 최근 이 지역 식생에 대한 연구는 이끼와 지의류 군집의 유성생식과 공간적인 분포의 변화를 보고하고 있다(Casanova-Katny et al., 2016; Kim et al., 2016). 이 곳에서의 온도 상승은 미생물군집의 성장률과 분해활성과 같은 미생물의 환경적응 반응을 이미 변화시켰을 수도 있다. 비록 토양 미생물들이 영양원 순환에 깊이 관련된 분해자일지라도, 이곳 남극 연안지역에서의 급격한 온도상승이 미생물군집에 미치는 영향은 잘 알려져 있지 않다(Royles et al., 2013). 상대적으로 높게 상승한 온도는 남극 연안 토양 내 존재하는 세균과 진균의 개체수를 직접적으로 증가시키고 있다(Yergeau et al., 2007). 더욱이, 증가한 온도는 진균의 토양 우점도 증가를 촉진하는 것으로 생각된다(Newsham et al., 2016). 반면에, 이와는 다른 연구 결과들은, 세균 군집은 2.4°C까지 토양온도 상승에 민감하게 반응하여 세균 생물량이 41-46% 감소한다고 보고하였다(Dennis et al., 2013). 이와 같이 온도 상승이 남극 연안 육상 생태계에 걸쳐 토양 유기물 분해에 영향을 미치면서 미생물군집의 크기와 구성에 큰 영향을 미칠 수 있다.

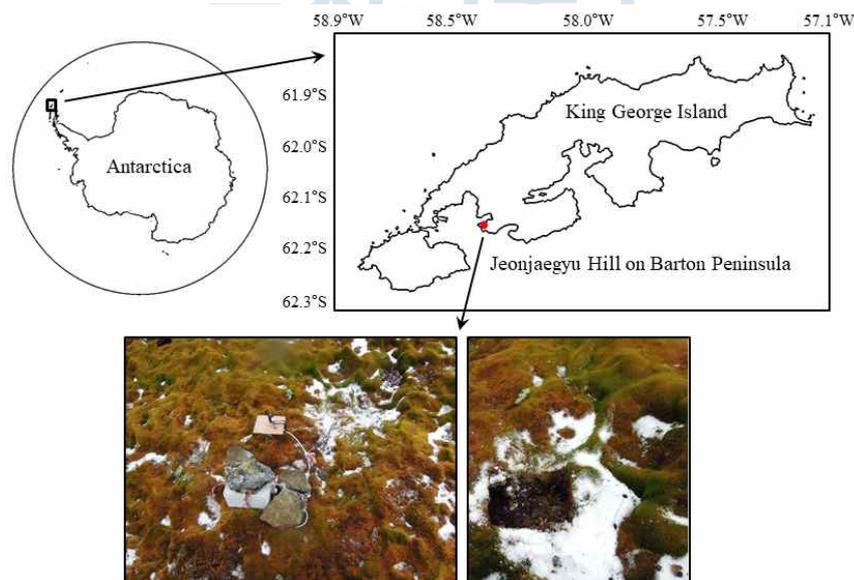
부식질(humic substances, HS)은 북극과 남극 툰드라를 포함하는 자연환경에 널리 존재하는 매우 복잡한 aromatic heteropolymer이며 전체 토양 유기물의 60-80% 정도(Stevenson, 1982; Gramss et al., 1999)를 차지하는 가장 핵심적인 구성 인자이다. HS는 거대한 유기물이라는 이전의 생각과는 달리 상대적으로 저분자의 다양한 물질들이 서로 응집한 형태로 존재한다는 연구결과도 있다. HS는 산성용액에서의 용해도 차이에 따라 두 개의 분획, 불용성의 부식산(humic acids, HA)과 용해성의 펄빅산(fulvic acids, FA), 으로 나뉜다. HS와 HS 유래의 저분자 물질은 토양 내에서 다양하고 지속적인 상호작용을 통해서 식물과 미생물의 성장을 조절하고 있다(Grinhut et al., 2011; Lipczynska-Kochany, 2018). HS는 주로 죽은 식물체와 주변의 다른 고분자 유기물의 분해 과정에서 생산되는 저분자 유기물들의 자발적인 축합과 중합반응을 통해서 생산되므

로, HS는 변형된 리그닌으로 인식되고 있으며 리그닌과 구조적으로 유사하기 때문에 미생물 분해가 상대적으로 더 어렵게 된다(Grinhut et al., 2007). 장기간의 낮은 대기온도와 토양온도로 인한 낮은 미생물 분해활성 때문에, 엄청난 양의 HS가 남극 연안지역에 저장되어 있다. 그러나 최근의 연구는, 저온에 적응한 미생물들이 저온환경 속에서도 생분해 과정에 직접 관여하고 있다고 보고한다. 저온성 미생물의 분해활성과 군집조성의 변화는 여러 연구들을 통해서 잘 알려져 있다(Margesin et al., 2009; Han et al., 2012; Park et al., 2015). 그러나 여전히 이 지역에서의 온도 상승이 HS 분해와 토양 미생물군집 변화에 대한 생태학적 영향에 대해서는 큰 관심을 받지 못하고 있다. 남극 연안지역은 지리적인 위치로 인해 기후변화에 매우 민감하게 반응하기 때문에(Kim et al., 2007), 환경조건에 약간의 변화조차도 큰 영향을 미치리라 판단한다. 토양온도 상승이 토양 미생물군집의 구성과 분해활성에 변화를 유도하여 HS를 포함하는 토양 유기물의 분해율을 증가시킬 수 있으리라 가정하다. 본 연구를 통해서, 환경변화에 반응하는 남극 연안 토양 미생물군집에 대한 정보를 관련 연구자들에게 줄 수 있으리라 기대한다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 토양 샘플링 및 마이크로코즘 디자인

토양 샘플링 사이트(KS2)는 서남극 킹조지섬 바톤반도에 있는 남극 세종과학기지 인근 전채규봉(62°13'31''S, 58°46' 42''W; 해발고도 97.3) 주변에 위치하고 있다(Figure 1).



**Figure 1.** Location and photos of the HA-rich soil (KS2-1) sampling site and soil temperature measuring (the average soil temperature of  $-6.0^{\circ}\text{C}$  to  $1.6^{\circ}\text{C}$ ) on Barton Peninsula on King George Island in the Antarctic Peninsula.

바톤반도의 기후는 남극대륙과 비교해볼 때, 연평균 대기온도는  $-1.8^{\circ}\text{C}$ 이고 상대습도는 89%(Kim et al., 2007)로 비교적 온화하다(1988-2015년 세종과학기지에서 측정한 미발표 기후자료). 바톤반도 내 대부분의 빙하가 없는 지대는 잘 발달한 이끼와 지의류 군집으로 덮여있고, 토양은 전반적으로 유기물 함량과 생물이 이용가능한 영양원이 부족하다. 2013-2016년간 전재규봉 주변 지하 5 cm에서 측정한 평균 토양 온도는 남극 4-11월 겨울철과 12-3월 여름철 시기에 각각  $-6.0^{\circ}\text{C} \sim 0.1^{\circ}\text{C}$ 와  $0.9^{\circ}\text{C} \sim 1.6^{\circ}\text{C}$ 였다. KS2 사이트 주변은 *Chorisodontium aciphyllum* 이끼 군집으로 둘러싸여 있었고, 상당히 많은 양의 토양 유기물이 존재하였기에 현장모사 실험용 토양(KS2-1; total organic carbon - 16.3%, total nitrogen - 1.3%, pH 4.6, sand - 37.0%, silt - 33.2%, clay - 29.9%)의 샘플링 사이트로 선정되었다. 토양은 2014년 1월에 0 - 10 cm 깊이에서 채취하여 균질화시키고  $-20^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다. 동결 상태의 토양을 냉장고에서 서서히 해동하였고, 토양 200 g을 500 mL 비이커에 넣고  $5^{\circ}\text{C}$  혹은  $8^{\circ}\text{C}$ 에서 90 일간 배양하였다. 비이커는 토양 채취 시의 초기 토양습도를 유지하기 위해서 비닐랩으로 씌운 상태로 배양하면서 2주 간격으로 균질화하고 공기를 공급하였다. 배양 30 일 간격으로 토양 일부분을 회수하여 HA 추출과 미생물군집 분석을 위해 냉동보관하였다.

#### 나. 토양 미생물군집의 분해활성 평가

KS2-1 토양 10 g을 20 mL 미네랄최소배지(MSB, Stanier et al., 1966)에 넣고 강하게 균질화시킨 후,  $5^{\circ}\text{C}$  온도에서 12시간 이상 정치시켰다. 저속으로 원심분리(123  $\times$ g, 2 min,  $5^{\circ}\text{C}$ )한 후, MSB 상층액을 새로운 MSB 액체배지를 이용하여  $\sim 10^6$  CFU  $\text{mL}^{-1}$  농도로 희석하였다. Community level physiological profiling (CLPP) 분석을 위해, 위의 희석액 0.1mL( $\sim 10^6$  CFU  $\text{mL}^{-1}$ ) 씩을 microtiter EcoPlate (Biolog, USA) 각각의 well에 넣었는데, 각 well은 토양 미생물 활성 분석에 필요한 31개의 대표적인 탄소원을 포함하고 있다. EcoPlate는 습도유지가 가능한 플라스틱박스에 넣고  $5^{\circ}\text{C}$  혹은  $8^{\circ}\text{C}$ 에서 14일간 배양하였다. 탄소원의 이용 정도는 진분홍색의 발색 강도로 판단하는데, 24-48시간 간격으로 595nm 흡광도를 측정하였다. 평균 대사반응(average metabolic response, AMR, n = 3)은 다음과 같이 계산하였다:  $\text{AMR} = \frac{\sum(\text{OD}_{\text{well}} - \text{OD}_{\text{neg}})}{95}$ .

#### 다. HA 추출

HS를 포함하는 KS2-1 토양을  $55^{\circ}\text{C}$ 에서 2 - 3일간 완전히 건조한 후, 1.0 mm-pore size 체를 이용하여 식물 잔해 및 돌 조각을 제거했다. 1 g의 토양과 25 mL의 0.5 N

NaOH를 12시간 동안 상온에서 반응하여 NaOH 추출물을 얻었다. 2회 원심분리(6,000 × g, 10분, 상온)를 통해 상층의 NaOH 추출물을 얻은 후, 5.0 N HCl을 이용하여 추출물의 pH가 2.0이 되도록 산성화하였고 12시간 이상 진탕배양방식으로 반응을 지속하였다. 원심분리(6,000 × g, 10분, 상온)를 통해 비가용성의 HA를 가용성의 FA와 기타 다른 유기물로부터 분획하였고, HA paste를 동결건조하여 가루형태의 HA를 확보하였고, 최종적으로 HA의 무게를 측정하였다.

#### 라. 추출한 HA 구조분석

무게 측정이 완료된 KS2-1 토양 유래 HA의 분자량은 gel permeation chromatography(GPC)를 통해 확인하였다. 분자량 확인을 위해, 0.1 N NaOH가 첨가된 10 mg/mL의 HA 용액을 0.2 µm의 membrane filter에 통과시켰다. Membrane 통과액 10 µL를 ShodexOHpak SB-804 HQ 컬럼(8.0 mm ID × 300 mm, Showa Denko America, Inc.)과 연결되어 있는 Ultrahydrogel-500 컬럼(7.8 mm ID × 300mm, Waters, Inc.)에 로딩하였다. Hewlett Packard 1100 HPLC 장비를 이용하여 분자량에 따른 용출 분석을 수행하였다. 이때 0.5 mL/min의 유속으로 가스가 제거된 증류수를 흘려주었으며, refractive index detector를 이용하여 분자량 분포를 확인하였다. HA 분자량 산출을 위해, pullulan 혼합액(788, 212, 47.3, 11.8kDa pullulan)을 분자량 기준물질로 사용하였다. HA의 구조 분석을 위해, 5 mg HA를 245 mg KBr과 혼합하여 고형 디스크를 제작하였고, Scinco Nicolet 6700 FT-IR spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific Inc.)를 이용하여 Fourier transform infrared (FT-IR) spectra 분석을 수행하였다.

#### 마. HA-분해능 토양 세균군집의 농화배양

KS2-1 토양 10 g을 20 mL MSB 액체배지에 넣고 강하게 균질화시킨 후, 5°C 온도에서 12시간 이상 정치시켰다. 저속으로 원심분리(123 × g, 2분, 5°C)한 후, 18 mL MSB 상층액을 확보하여 농화배양에 이용할 토양 미생물 현탁액으로 아래와 같이 이용하였다. 3 mL MSB 상층액, 50 mL MSB 액체배지, 그리고 HA 수용액(13.0 mg in 0.1N NaOH)를 삼각플라스크에 함께 넣고 5°C 혹은 8°C 온도에서 90일간 교반배양하였다. 농화배양액을 원심분리(13,400 × g, 10분, 5°C)한 후, 상층액은 glass microfiber filter와 5.0 µm의 hydrophilic membrane filter에 순서대로 통과시켰다. Filter 표면에는 상층액 내에 존재하는 배양 미생물이 존재하게 되므로, 두 종류의 filter와 cell pellet을 함께 혼합하고 미생물군집을 위한 메타게놈(metagenome)을 추출하였다.

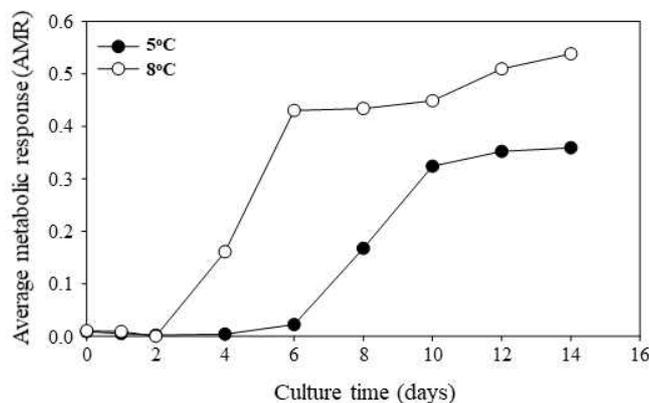
#### 바. 메타게놈 pyrosequencing 및 세균군집 분석

Metagenomic DNA는 DNA extraction kit(MO Bio)를 통해 추출하였다. 추출한 DNA로부터 원핵생물의 16S rRNA 유전자 V1-V3(세균), V5-V6(고세균) 또는 진핵생물의 ITS2(진균) 영역을 증폭하였다(Kim et al., 2018). Chunlab Inc.에 설치되어 있는 454 GS FLX Titanium Sequencing System(Roche)을 이용하여 DNA library 시료를 pyrosequencing하였다. 초기 시퀀스 데이터를 편집한 후, 선별된 16S rRNA sequence의 수를 표준화하였고, EzTaxon-e 혹은 EzFungi 데이터베이스 검색을 통해 분류학적 카테고리 고리로 분류하였다. 세균, 고세균 및 진균에 대한 모든 통계적 분석은 CLcommunity 소프트웨어(Chunlab Inc.)를 통해 수행하였다. Operational taxonomic unit(OTU)는 CD-HIT 프로그램 내에서 97% 이상의 sequence 유사성에 따라 구분하였다. 풍부도(Chao1, ACE 및 Jackknife 지표)와 다양성(Shannon 및 Simpson 지표)은 Mothur 플랫폼을 이용하여 산출하였다.

### 3. 결과 및 토의

#### 가. 온도별 토양 미생물 활성

CLPP는 KS2-1 토양 현탁액 내 미생물군집의 5°C와 8°C의 저온에서의 분해활성 유무를 확인하는 예비테스트로써 수행되었다. 다양한 탄소원을 포함하는 EcoPlate에 미생물 현탁액을 접종하고 5°C에서 배양하였을 때, AMR 값은 접종 6일 후에 긴 lag phase를 지나 증가하기 시작하였다. 5°C 배양 결과와는 달리, 8°C 배양 시 AMR 값은 접종 2일 후에 상대적으로 짧은 lag phase를 지나 급격히 증가하였다. 또한, 8°C 배양 시 AMR 값은 5°C 배양 시 값보다 현저히 높았는데, 예로 접종 6일 후 AMR 값은 0.43 : 0.02이었다(Figure 2).

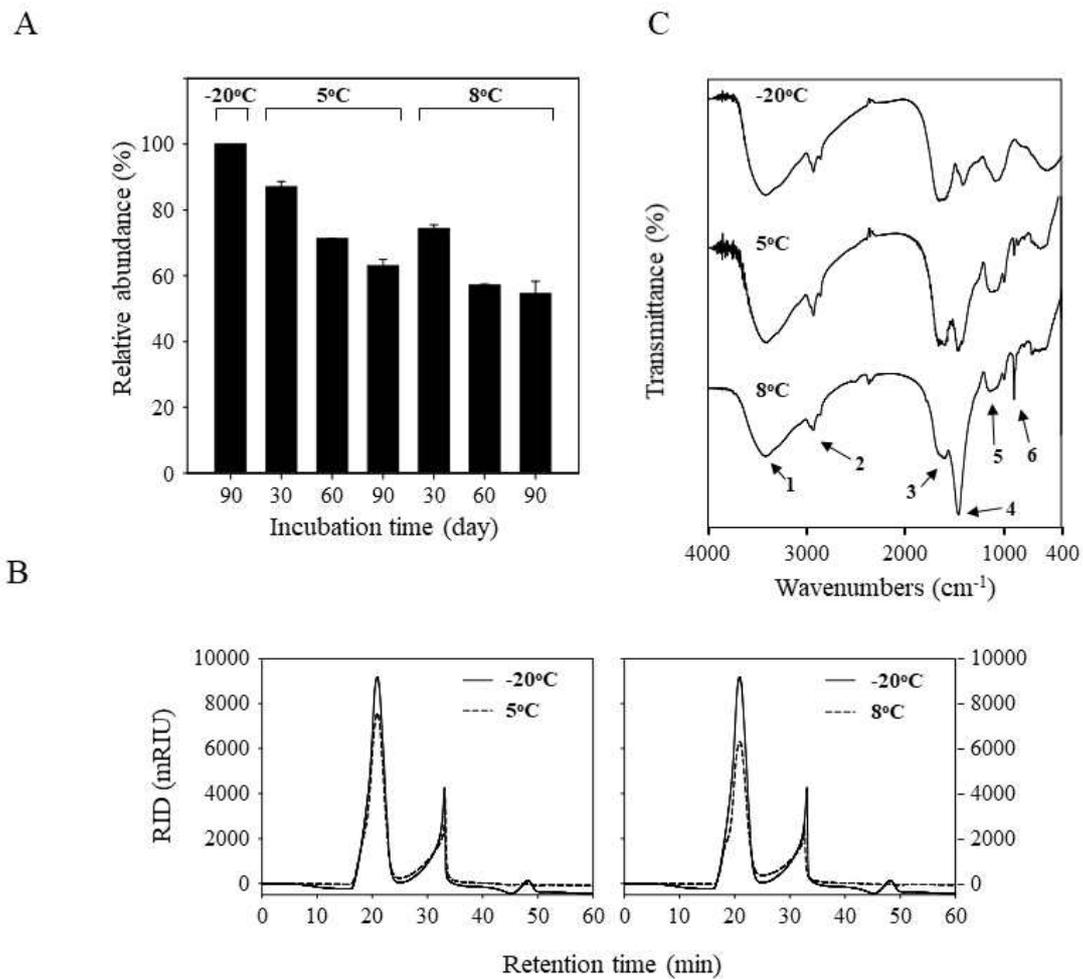


**Figure 2.** Average metabolic response calculated from EcoPlates wells inoculated with KS2-1 soil suspension and incubated at 5°C or 8°C. Data represent means of 3 replicate measurements.

#### 나. 마이크로코즘 배양 시 HA 분해 및 구조 변화

남극 세종과학기지 주변 표층 토양 온도가 5°C 또는 8°C로 비교적 높게 유지되는 상황을 가정하고 HS 분해와 미생물군집의 성장을 촉진하는 환경모사실험을 KS2-1 토양을 대상으로 90일간 진행하였다. 배양 기간 동안 매 30일 간격으로 토양 일부를 취해서 HA를 추출하고 정량정성 분석하였다(Figure 3). 5°C 또는 8°C 온도에서 모두 HA 양은 배양 시간에 따라 서서히 감소하여 초기 287 mg/건조토양 g(w/w)은 90일 후 5°C 배양토양에서 63%(162.5 mg/g), 8°C 배양토양에서 55%(136 mg/g)까지 감소하였다. 반면에 동결상태로 유지한 대조군 실험에서는 HA 양이 감소하지 않았다. 3°C 온도차이가 HA 분해율에 상당히 큰 영향을 미쳤음을 의미한다. 전체적으로 8°C 배양에서 5°C 배양보다 빠른 HA 분해율을 나타냈는데, HA가 물리적 또는 화학적으로 분해되었을 가능성이 있지만, 이는 생물학적으로 분해되었음을 의미한다(Figure 3A). GPC 분석 결과 역시 8°C에서 배양한지 90일 후에 추출한 HA 양은 5°C 배양에 비해 현저히 감소하였음을 확인하였다. 구체적으로, 대조군에서 추출한 HA의 GPC 크로마토그램에서 20.0분에 검출되는 고분자 물질 peak의 8,976 mRIU 값은 8°C와 5°C 배양토양에서 각각 6,101 mRIU 과 7,489 mRIU로 측정되었다(Figure 3B).

5°C 또는 8°C 온도에서 90일간 마이크로코즘 배양 후에 추출한 HA의 구조적 변화 정도를 확인하기 위해서 FTIR 스펙트럼을 분석하였다. FTIR 스펙트럼에서 보이는 주요 peak는 이전의 연구(Khalili & Al-Banna, 2015, Wu et al., 2016)에서 확인된 유기물 결합 작용기(functional group)의 정보를 참조하여 아래와 같이 동정하였다: peak 1, H-bonded OH groups at 3406  $\text{cm}^{-1}$ ; peak 2, asymmetric and symmetric aliphatic C-H stretching of  $\text{CH}_2$  groups at 2956  $\text{cm}^{-1}$ ; peak 3, C=O stretching of COOH at 1777  $\text{cm}^{-1}$ ; peak 4, aromatic C=C skeletal vibrations and C=O stretching of quinone at 1612  $\text{cm}^{-1}$ ; peak 5, O-H deformation and C=O stretching of phenolic OH and aliphatic C-H at 1437  $\text{cm}^{-1}$ ; peak 6, C-O stretching of polysaccharides and polysaccharide-like substances, and/or Si-O of silicate impurities at 987  $\text{cm}^{-1}$ . 동결상태로 보관 중이던 대조군 토양에서 추출한 HA과 비교해 볼 때, 5°C 배양토양 HA의 스펙트럼에서 peak 4의 흡광도가 현저하게 증가였고(spectrum 5°C), 8°C 배양토양 HA에서는 더욱 더 증가하였다(spectrum 8°C). 또한, 새로운 peak 6가 5°C와 8°C 배양토양 HA의 스펙트럼 모두에서 검출되었고, 5°C보다 8°C에서 흡광도가 증가하였다. 이러한 작용기들의 생성과 흡광도 증가는, 토양 온도 증가는 HA 미생물 분해를 촉진하며 HA 구성물질에 존재하는 다양한 작용기들이 외부로 더욱 많이 노출되도록 유도한 결과로 판단한다(Figure 3C).



**Figure 3.** Changes in HA content and structure were determined by direct weighing (A), gel permeation chromatography (B), and Fourier–transform infrared spectroscopy (C) during the microcosm experiments at 5°C or 8°C for 90 days. The microcosm was composed of KS2–1 soil that was rich in HA. In (A), data for HA content represents mean  $\pm$  standard deviation of 3 replicate measurements. Statistical analysis was performed with Excel software using Student's t–test. p values of 0.006, 0.006, and 0.070 were calculated between HA contents from 5°C– and 8°C–inbubated soils for 30, 60, and 90 days, respectively.  $p < 0.05$  indicated a statistically significant difference.

#### 다. 마이크로코즘 배양 시 미생물군집 변화

Pyrosequencing technique은 다른 온도에서 배양된 KS2–1 토양 내 미생물군집 변화를 분석하기 위해 사용되었다. 세균, 고세균, 진균의 sequence read 개수를 표준화하였고, 종풍부도(OTU richness; Chao1 and ACE indices)와 종다양도(diversity; Shannon index)를 계산하였다(Table 1). 세균 군집은 온도 상승에 안정적으로 반응하며 세균의 종다양도는 약간 감소하였는데, 온도 상승이 저온내성 세균에게는 치명적

일 수 있음을 의미한다(Han et al., 2012). 반면, 고세균 군집은 온도 상승에 급격하게 반응하였고 종다양도는 50% 이상 감소하였는데, 고세균 상당부분이 온도 상승에 상당히 민감하다는 의미이다. 진균의 종다양도는 5°C에서 증가하였지만 8°C에서는 5°C에 비해 약간 감소하였는데, 온도 상승 효과가 진균 군집에게는 일정한 방향으로 나타나지 않음을 의미한다.

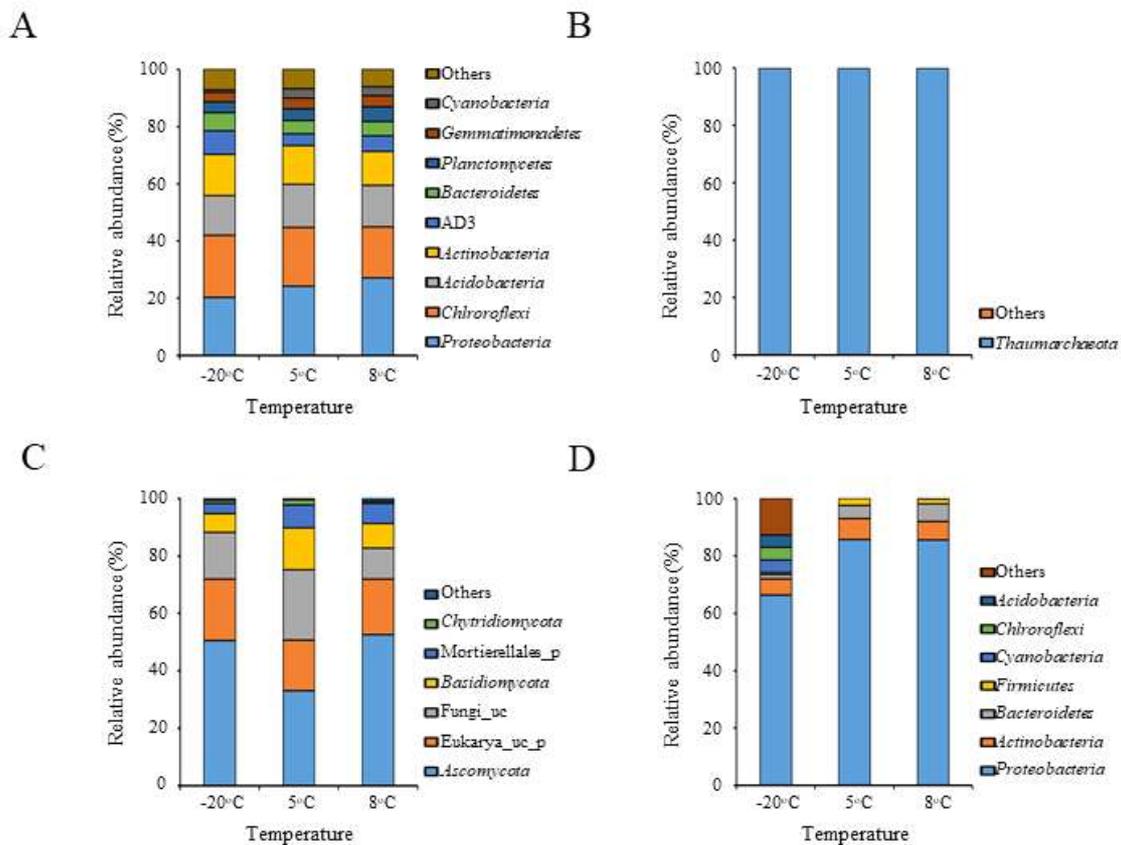
**Table 1.** Summary of pyrosequencing results and statistical analysis of microbial communities in KS2-1 soil after 90 days of microcosm incubation.

Sample		Normalized reads	OTU richness			OTU diversity (Shannon)
Microorganism	Incubation temperature		Observed	Chao1	ACE	
Bacteria	-20°C	1947	709	1418	2039	5.924
	5°C	1947	729	1827	3082	5.894
	8°C	1947	711	1621	2782	5.875
Archaea	-20°C	2750	21	39	47	1.151
	5°C	2750	6	6	6	0.562
	8°C	2750	9	9	9	0.425
Fungi	-20°C	6137	234	387	425	3.149
	5°C	6137	402	586	566	4.568
	8°C	6137	403	493	498	4.559

-20°C에서 동결상태로 보관 중인 대조군 토양 내 세균의 군집조성 분석 결과, 6개의 주요 문(phyla)으로 구성되어 있었다: Chloroflexi (21.4%), Proteobacteria (20.5%), Actinobacteria (14.3%), Acidobacteria (13.9%), candidate division AD3 (8.4%), Bacteroidetes (6.2%). 대조군과 비교하였을 때, 5°C와 8°C에서 90일간 배양한 토양 내 상대수도(relative abundance)에서 상당히 의미있는 변화가 유도되었다. HA 분해가 진행되는 과정에서 고영양요구성 copiotrophic Proteobacteria (20.5%)의 상대수도는 5°C와 8°C에서 각각 24.2%와 28.4%로 증가하였는데, class Alphaproteobacteria (13.8% at -20°C)는 8°C 배양토양에서 17.6%로 증가하였다. Family Acetobacteraceae (0.6% at -20°C)는 8°C 배양토양에서 1.7%로 증가하였다. 반면에, 난분해성 토양 폴리머를 분해하는 Actinobacteria (14.3%)의 상대수도는 5°C와 8°C에서 각각 13.5%와 11.1%로 감소하였다(Figure 4A). 대조군 토양에서 가장 많이 존재하는 고세균은 phylum Thaumarchaeota인데, 상대수도는 5°C와 8°C에서 거의

변화하지 않았다(Figure 4B). 대조군 토양에서 가장 많이 존재하는 진균은 phylum Ascomycota인데, 5°C 배양토양에서는 감소하였으나 8°C 배양토양에서는 약간 증가하였다. 온도변화에 민감한 진균 군집에 온도 상승은 안정적인 효과를 나타내지 못함을 의미한다(Figure 4C).

KS2-1 토양 내 HA 분해능이 있는 세균 군집을 5°C와 8°C에서 90일간 액체배양하였다. 농화배양 후 세균의 문 분류군 수준에서 상대수도 변화를 조사하였는데, phylum Proteobacteria(66.3%)의 경우 5°C(85.8%)와 8°C(85.5%) 배양액에서 변화가 가장 명확하였고, Bacteroidetes(1.5%)는 5°C(4.6%)와 8°C(6.0%) 배양액에서 현저한 변화가 있었다. Class Alphaproteobacteria(9.0%)가 온도 상승과 함께 가장 현저하게 증가하였고, genus *Brevundimonas*의 상대수도는 275배 이상 증가하였다(Figure 4D).



**Figure 4.** Culture-independent changes in the relative abundances of bacterial (A), archaeal (B), and fungal (C) phyla during the microcosm experiments with KS2-1 soil at 5°C or 8°C for 90 days. (D) Culture-dependent changes in the relative abundances of bacterial phyla during enrichment of KS2-1 soil suspension at 5°C or 8°C for 90 days. Relative abundances are based on the proportional frequencies of those DNA sequences that could be classified at the phylum level.

# 제 10 절 분리세균 균주와 세균 군집의 부식질 분해경로 연구

## Study on the humic substances-degradation pathways by soil bacterial isolates and communities

### 1. 서론

부식질(humic substances, HS)은 북극과 남극 툰드라를 포함하는 자연 환경에 널리 존재하는 매우 복잡한 aromatic heteropolymer이며 전체 토양 유기물의 70% 정도를 차지하는 가장 핵심적인 구성 인자이다. HS와 HS 유래의 저분자물질은 토양 내에서 다양하고 지속적인 상호작용을 통해서 식물과 미생물의 성장을 조절하고 있다(Grinhut et al., 2011; Lipczynska-Kochany, 2018). 장기간의 낮은 대기온도와 토양온도로 인한 낮은 미생물 분해활성 때문에, 엄청난 양의 유기물이 북극 툰드라에 저장되어 있다. 토양 동결로 인한 환경적 제한 요인들(기질과 외분비 효소 간의 물리적 거리, 건조, 혐기 조건 등)은 일시적이든 영구적이든 미생물 분해에 영향을 미칠 수 있다(Davidson and Janssens, 2006). 온도는 토양 유기물의 미생물 분해를 결정하는 여러 인자들 중 하나이기 때문에, 온도 상승은 다양한 유기물질들의 미생물 분해를 증가시킨다. 거대하고 복잡한 유기물질들은 분해 과정에서 높은 활성화 에너지를 필요로 하기 때문에, 일반적으로 낮은 분해율과 내제된 높은 온도 민감도를 특징적으로 갖는다(Fierer et al., 2005; Davidson and Janssens, 2006; Lehmann and Kleber, 2015). HS가 토양 유기물 중에서 매우 높은 비율로 존재하고 있으며 미생물 분해 과정에서 높은 온도 민감성이 있기 때문에, HS 분해율의 작은 변화조차도 북극 툰드라 토양 생태계에 현저한 변화를 유도할 수 있다(Lehmann and Kleber, 2015).

토양 세균은 일반적으로 저온 환경 속에서도 직간접적으로 HS 생분해에 관련되어 있다. 이러한 생분해는 HS 폴리머의 중합해체반응(depolymerization)과 HS 유래의 저분자 화합물의 분해작용(catabolism)을 포함한다. 적절한 생리조건에서 HS를 분해하는 몇몇 토양 세균들이 분리되었으며(Esham et al., 2000; Badis et al., 2009; Rocker et al., 2012; Park and Kim, 2015; Ueno et al., 2016; Lipczynska-Kochany, 2018), 이들의 분해활성과 군집조성이 연구되어 왔다(Park et al., 2015; Kim et al., 2018a). 그러나, 이들의 HS 분해 경로에 대한 정보는 여전히 제한적이고 명확하지 못하다. HS 대신 리그닌을 기질로 사용한 이전 연구에서는 아북극 툰드라 토양 유래 세균 *Pseudomonas* sp. PAMC 26793의 전사체 분석을 통해 여러 개의 리그닌 분해 관련 유전자들을 발견하였는데, 부분적인 HS 분해 경로를 제안하는 데 사용하였다(Kim et al., 2018b).

리그닌은 guaiacyl과 syringyl 단위체 혹은 guaiacyl 단위체만으로 구성된 비균질 페놀성 폴리머이다. 이들 단위체들은 다양한 C-O-C와 C-C 결합들에 의해서 서로 연결되어 있다. 최근의 리그닌 미생물 분해 관련 연구들은 guaiacyl 단위체 구조의 단일벤젠고리 물질[guaiacol (2-methoxy phenol), ferulic acid, vanillic acid 등]의 분해에 대해서 주로 연구가 진행되어 왔다. 위의 리그닌 유래 단일벤젠고리 물질에 대한 분해대사 관련 유전자들과 분해경로는 *Sphingobium* sp. SYK-6 (Masai et al., 2007)와 *Rhodococcus jostii* RHA1 (Bugg et al., 2011) 세균 균주에서 아래의 내용과 같이 잘 규명되었다. 리그닌은 세균이 분비하는 다양한 산화환원 효소들(dye-decolorizing peroxidases, laccase-like multicopper oxidases,  $\beta$ -etherases 등)에 의해 중합해체되는 것으로 생각되며, 그 생산물인 ferulic acid와 두 개의 벤젠고리로 이루어진  $\beta$ -aryl ether과 biphenyl은 주요 중간대사물질인 vanillic acid를 거쳐 protocatechuic acid로 분해된다. Protocatechuic acid는 *meta*- 혹은 *ortho*-cleavage pathway를 통해서 더욱 분해된다(Kamimura et al., 2017). HS가 리그닌을 포함하는 죽은 식물체가 분식되는 과정에서 생산되며 리그닌과 구조적으로 유사하다는 점을 고려할 때, 토양 세균은 위의 리그닌 분해경로와 유사한 경로를 통해서 HS를 분해하리라 추정한다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 마이크로코즘 디자인, 배양 및 HA 추출

HS가 풍부한 아북극 툰드라 토양을 2012년 6월 29일 Alaska Nome의 Council 지역 내 목초지 한 지점[AK1-75 (64°50'N, 163°42'W), 6월 중순-9월 초 20cm 깊이에서 평균 토양온도는 5.6°C]에서 0 - 20 cm 깊이에서 확보하였다(Park et al., 2015). AK1-75 토양을 균질화한 후, 사용 전까지 -20°C에 보관하였다. 동결 상태의 토양을 냉장고에서 서서히 해동하였고, 토양 200 g을 500 mL비이커에 넣고 5°C 혹은 25°C에서 33일간 배양하였다. 멸균한 토양은 HS의 미생물학적 분해 가능성을 배제하기 위해 고온고압 멸균하여 대조군으로 사용하였다. 비이커는 토양 채취 시의 초기 토양습도를 유지하기 위해서 비닐랩으로 씌운 상태로 배양하면서 2주 간격으로 균질화하여 공기를 공급하였다. 배양 33일 후, 토양에서 이전의 방법(Park et al., 2015)을 이용하여 HA를 추출하였다.

### 나. 열분해산물의 구조 예측

AK1-75 토양에서 추출한 HA(HA<sub>AK1-75</sub>) 혹은 시판되고 있는 리그닌(Cat. No. 471003, Aldrich, USA)을 pyrofoil로 싸고 590°C 온도에서 5초 동안 열분해하였다(Japan Analytical Industry). 열분해 산물은 7890A-5975C GC-quadrupole-MSD instrument

(Agilent Technologies Inc., USA)를 통해 분리 및 분자량을 측정 후, NTIS 08 MS 라이브러리를 이용하여 동정하였다.

#### 다. 토양 미생물군집의 농화배양 및 분해대사 활성 평가

AK1-75 토양 5 g을 10 mL 미네랄 최소배지(MSB, Stanier et al., 1966)에 넣고 강하게 균질화시킨 후, 5°C 온도에서 12시간 이상 정치시켰다. 저속으로 원심분리(123 ×g, 2 min, 5°C)한 후, MSB 상층액을 HA<sub>AK1-75</sub>를 기질로 이용하는 농축배양에 아래와 같이 이용하였다. 3 mL MSB 상층액, 50 mL MSB 액체 배지, 그리고 6 mL HA<sub>AK1-75</sub> 수용액(0.83% HA<sub>AK1-75</sub> in 0.1N NaOH)를 삼각플라스크에 함께 넣고 15°C 온도에서 교반배양하였다. 27 일간 농화배양한 후, 배양액은 새로운 MSB 액체배지를 이용하여 ~10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup> 농도로 희석하였다.

Community level physiological profiling 분석을 위해, 위의 희석액 0.1 mL(~10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup>) 씩을 microtiter EcoPlate (Biolog, USA) 각각의 well에 넣었는데, 각 well은 토양 미생물 활성 분석에 필요한 31개의 대표적인 탄소원을 포함하고 있다. EcoPlate는 습도유지가 가능한 플라스틱박스에 넣고 5°C에서 7 일간 배양하였다. 탄소원의 이용 정도는 진분홍색의 발색 강도로 판단하는데, 24 시간 간격으로 595 nm 흡광도를 측정하였다. 평균 대사반응(average metabolic response, AMR, n = 3)은 다음과 같이 계산하였다:  $AMR = \frac{\sum(OD_{well} - OD_{neg})}{95}$ . AK1-75 토양의 MSB 상층액 일부는 HA<sub>AK1-75</sub>를 기질로 이용하는 농축배양 과정 없이 대조군으로 사용하였다.

다양한 단일벤젠고리 유기물의 분해능을 테스트하기 위해, 위의 희석액 2.0 mL(~10<sup>6</sup> CFU mL<sup>-1</sup>)을 50 mL MSB 액체배지와 기질로서 5 mM benzoic acid, vanillic acid, ferulic acid, phenol, 혹은 coniferyl alcohol을 포함하는 삼각플라스크에 접종하고 15°C에서 9 일간 교반배양하였다. 24 시간 간격으로 배양액 내에 존재하는 각 기질의 농도를 HPLC 기기를 이용하여 측정하였다.

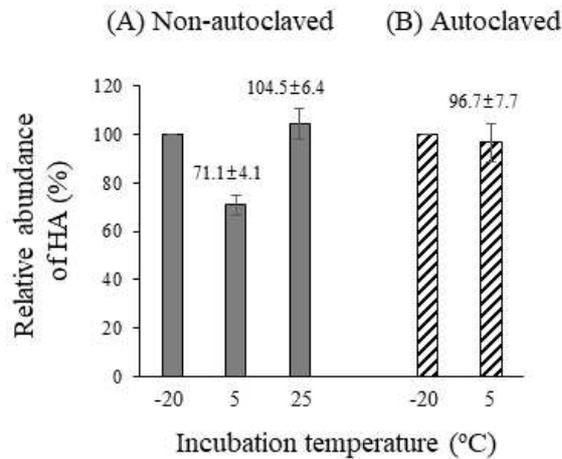
#### 라. 유전체 염기서열 결정

HA 분해능이 있는 세균 균주 *Pseudomonas* sp. PAMC 29040와 *Pseudomonas kribbensis* CHA-19 배양액으로부터 G-spin Genomic DNA Extraction Kit for Bacteria (Intronbio, Korea)를 이용하여 DNA를 추출하였고, Illumina Miseq sequencing method를 이용하여 유전체 염기서열을 결정하였다(ChunLab, Inc., Korea).

### 3. 결과 및 토의

#### 가. 저온적응성 미생물의 HA 분해

HS가 풍부한 AK1-75 토양의 마이크로코즘 배양은 5°C(샘플링 사이트 여름철 토양 해동 온도와 유사)에서 33 일간 수행하였다. 2 g 대조군 토양에서 추출한 HA<sub>AK1-75</sub>의 양은 0.95g(100%)이었는데, 건조 토양의 48% 무게에 해당한다. 배양 종료 후 HA 양은 71%로 감소하였는데, 생물학적 분해 과정을 통해서 감소하였고 저분자물질로 전환되었으리라 추정한다(Figure 1A). 배양 온도를 25°C로 증가시킨 후 동일한 배양 실험을 진행했을 때, HA 양은 거의 감소하지 않았다. HA가 저온적응성 미생물에 의해 분해되었다는 가설을 입증하기 위해서 AK1-75 토양을 멸균하여 위와 동일한 실험을 진행하였을 때, HA 양은 거의 감소하지 않았다(Figure 1B).

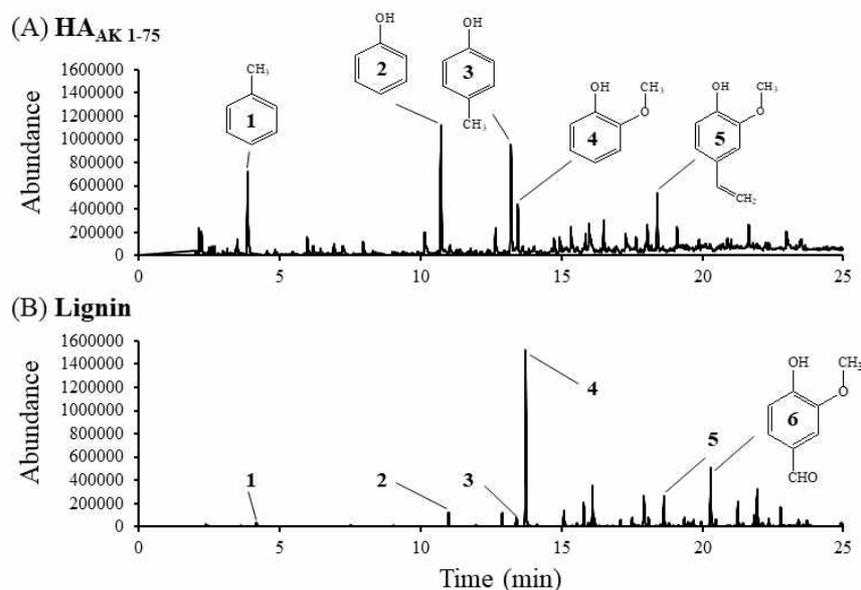


**Figure 1.** Temperature-dependent changes in HA content during microcosm experiments. The microcosm beakers with HS-rich AK1-75 tundra soil were incubated at different temperatures for 33 days. The weight of extracted HA was measured (n=3) for (A) non-autoclaved intact AK1-75 soil and (B) autoclaved inert AK1-75 soil both incubated under the same conditions.

#### 나. HA<sub>AK1-75</sub>와 리그닌의 구조 비교분석

HA<sub>AK1-75</sub>을 구성하는 유기화합물들의 종류와 상대적인 비율을 분석하기 위해 pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry (Py-GC/MS, 590°C)을 이용하였다. 열분해산물의 GC 크로마토그래프에서는 아래와 같이 매우 다양한 유기물들이 검출되었다(Table 1): substituted phenols (phenol category, 5개의 유기물); 2-methoxy phenols (guaiacol category, 7개의 유기물); substituted benzenes (benzene category, 11개의 유기물); bicyclic compounds containing one benzene ring (bicyclic category, 7개의 유기물); heterocyclic compounds (heterocyclic category, 2개의 유기물); 그리고 both substituted alkanes and alkenes (aliphatic category, 2개의 유기물). 이들 유기물들 중에서 5개 물질이 상대적으로 높은 비율로 검출되었다(Figure 2A): toluene (1),

phenol (2), 4-methyl phenol (3), 2-methoxy phenol (guaiacol, 4), 그리고 2-methoxy-4-vinyl phenol (5). Phenol category (total area of 24.9%)와 guaiacol category (total area of 14.3%)에 포함되는 유기물질들이 열분해 과정에서 생산되는 주요 구성물질로 확인되었다. HS의 구조와 생성과정에 대해서는 여전히 논쟁이 되고 있지만, HS는 상당히 작은 분자량의 물질들이 서로 응집하여 이루어진 고분자물질인 것으로 간주해야 할 것이다. Phenolic-과 carboxylic- 작용기가 HS의 반응성과 표면 전하에 상당한 영향을 미치리라 판단한다(Lipczynska-Kochany 2018). 이와 같이 carboxylic and/or phenolic- 작용기를 갖는 단일벤젠고리 화합물들이 HA<sub>AK1-75</sub> 열분해 과정에서 생산되리라 판단하지만, carboxylic- 작용기를 갖는 극성의 유기물(예로 benzoic acid, vanillic acid, ferulic acid 등)들은 Py-GC 크로마토그램에서 검출되지 않았다.



**Figure 2.** Pyrograms of (A) natural HA extracted from AK1-75 (HA<sub>AK1-75</sub>) and (B) commercial lignin. The abundance of compounds 1, toluene; 2, phenol; 3, 4-methyl phenol; 4, 2-methoxy phenol (guaiacol); 5, 2-methoxy-4-vinyl phenol; 6, vanillin (4-formylguaiacol) are noted in each pyrogram.

대조물질로 사용한 시판용 리그닌(commercial lignin)의 열분해 산물들 역시 HA<sub>AK1-75</sub>와 마찬가지로 두 개의 주요 카테고리 분류되었다: phenol category (total area of 6.5%, 4개의 유기물)와 guaiacol category (total area of 74.6%, 12개의 유기물). Guaiacol category에 포함되는 2-methoxy phenol (4)과 vanillin (4-formylguaiacol, 6) 유기물이 각각 27.5%와 10.0%로 존재하였는데, 리그닌이 guaiacyl unit으로 구성되어 있는 비균질성 페놀성 폴리머(phenolic polymer)임을 재확인

인시켜 주었다(Figure 1B, Table 1). Py-GC/MS 방법을 이용한 HA<sub>AK1-75</sub>와 리그닌의 구조 비교는, 이들이 구조적으로 서로 유사하며 phenols (aromatic nuclei with 1-hydroxyl group)과 2-methoxy phenols (aromatic nuclei with 1-hydroxyl and 2-methoxyl groups)이 주요한 구성인자임을 보여주었다.

#### 다. HA 분해 미생물군집에 의한 리그닌 유래 화합물의 분해

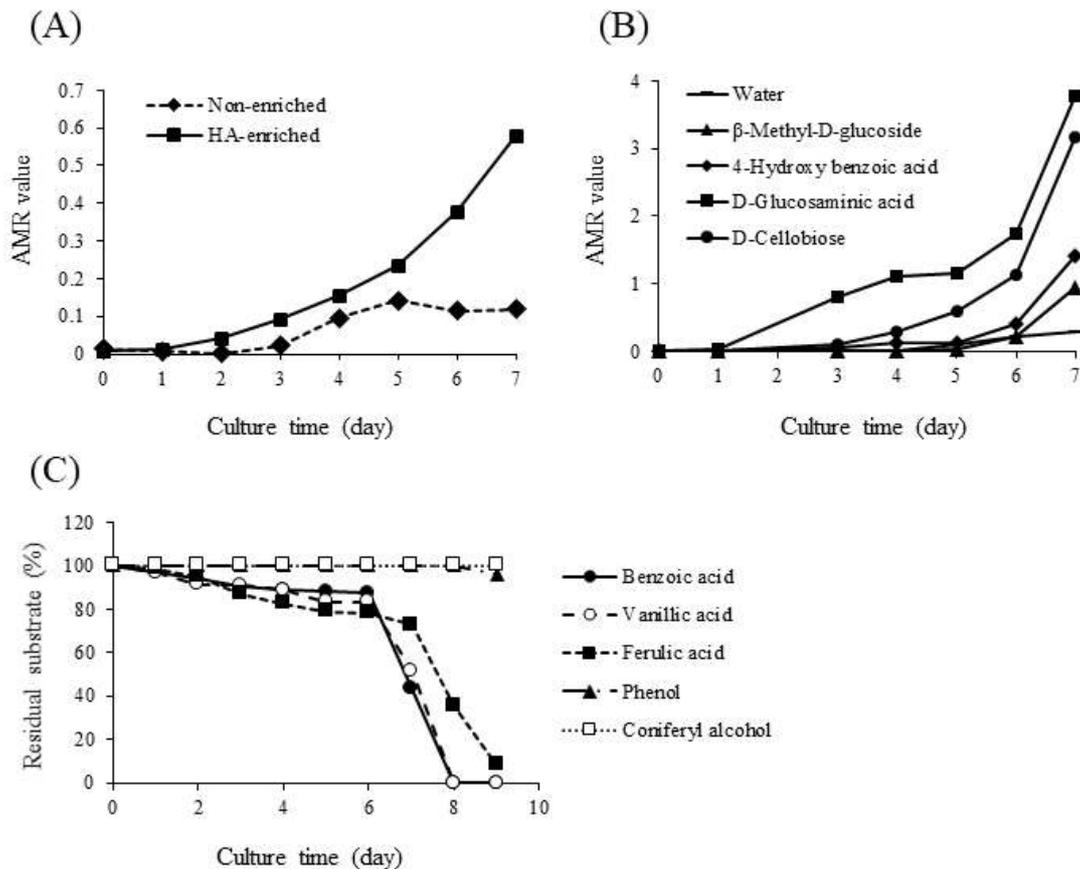
HA 기질을 사용하여 배양한 실험군과 사용하지 않은 대조군 내 AK1-75 토양 미생물군집의 community-level physiological activity의 변화를 상호분석하기 위해서 EcoPlate를 사용하였다. EcoPlate는 토양 미생물군집 분석에 필요한 31 종류의 탄소원을 포함(Biolog brochure)하고 있는데, HA 배양액 내 미생물군집의 AMR 값은 대조군에 비해 상당히 높은 수치를 나타내었다(예, 배양 7일 후 AMR value of 0.6 vs. 0.1) (Figure 3A). 특히, HA 배양액 내 미생물군집은 대조군인 순수한 물에 비해  $\beta$ -methyl-D-glucoside (4.5배), 4-hydroxy benzoic acid (6.9배), D-glucosaminic acid (31.7배), 그리고 D-cellobiose (17.0배) 기질에 대해서는 더 큰 활성 차이를 나타내었다(Figure 3B). 이 결과는, K1-75 토양 미생물군집의 기질이용도와 기능측면에서의 다양성이 HA 기질 분해 과정에서 현저하게 증가하였고, 동시에 HA 분해 관련 유전자군이 발현 유도되었음을 의미한다.

HA을 이용하여 성장한 AK1-75 토양 미생물군집의 리그닌 유래의 다양한 단일벤젠고리 화합물 이용도를 HPLC chromatography 방법을 이용하여 조사하였다. 미생물군집은 간단한 구조의 carboxylic- 작용기를 갖는 유기산(benzoic acid, ferulic acid, 그리고 vanillic acid)를 잘 분해하였다. 액체배지에 있는 각 기질들은 배양 6일 후 급격하게 감소하기 시작했는데, benzoic acid, ferulic acid 그리고 vanillic acid는 배양 8일 후에 거의 모두 분해되었다. 반면에, phenol과 coniferyl alcohol은 동일한 시간 경과 후에도 거의 감소하지 않았는데, 이들 페놀성 화합물은 적절한 생장기질이 아님을 의미한다(Figure 3C).

**Table 1.** Comparative analysis of natural HA<sub>AK1-75</sub> and commercial lignin pyrolysis products

Pyrolysis product <sup>a</sup>	Category	HA <sub>AK1-75</sub>		Lignin	
		Time (min)	Area (%)	Time (min)	Area (%)
Benzene	Benzene	2.2	0.5	2.4	0.4
Butanal, 2-methyl-	Aliphatic	2.2	1.0		
<b><i>Toluene</i></b>	<b><i>Benzene</i></b>	<b><i>3.9</i></b>	<b><i>6.8</i></b>	4.2	1.0
Furfural	Heterocyclic	6.0	1.8		
Ethylbenzene	Benzene	6.9	1.0		
<i>p</i> -Xylene	Benzene	7.2	0.9	7.5	0.4
Styrene	Benzene	8.0	1.2		
2-Furancarboxaldehyde, 5-methyl-	Heterocyclic	10.1	1.8		
<b><i>Phenol</i></b>	<b><i>Phenol</i></b>	<b><i>10.7</i></b>	<b><i>10.3</i></b>	11.0	2.3
Benzene, 1,3,5-trimethyl-	Benzene	11.0	1.1		
Phenol, 2-methyl-	Phenol	12.7	2.1	12.9	2.0
<b><i>Phenol, 4-methyl-</i></b>	<b><i>Phenol</i></b>	<b><i>13.2</i></b>	<b><i>8.9</i></b>	13.4	2.0
<b><i>Phenol, 2-methoxy- [guaiacol]</i></b>	<b><i>Guaiacol</i></b>	<b><i>13.5</i></b>	<b><i>3.8</i></b>	<b><i>13.7</i></b>	<b><i>27.5</i></b>
1-Undecene	Aliphatic	13.6	1.0		
Benzyl nitrile	Benzene	14.7	1.5		
Phenol, 2,4-dimethyl-	Phenol	14.9	1.1		
Benzene, 1,2-dimethoxy-	Benzene			15.1	3.1
Phenol, 4-ethyl-	Phenol	15.3	2.5	15.5	0.2
Phenol, 2-methoxy-3-methyl- [3-methylguaiacol]	Guaiacol			15.8	3.8
Phenol, 2-methoxy-4-methyl- [4-methylguaiacol]	Guaiacol	15.9	1.5	16.1	6.0
1,2-Benzenediol	Benzene	16.0	2.7	16.2	1.3
Benzofuran, 2,3-dihydro-	Bicyclic	16.5	2.4		
3,4-Dimethoxytoluene	Benzene			17.1	1.1
1,2-Benzenediol, 3-methoxy-	Benzene	17.3	2.1		
1,2-Benzenediol, 3-methyl-	Benzene			17.5	1.7
Phenol, 2-methoxy-4-ethyl- [4-ethylguaiacol]	Guaiacol	17.7	1.0	17.9	5.7
1,2-Benzenediol, 4-methyl-	Benzene	18.0	0.4	18.1	1.4
Indole	Bicyclic	18.1	2.3		
<b><i>Phenol, 2-methoxy-4-vinyl- [4-vinylguaiacol]</i></b>	<b><i>Guaiacol</i></b>	<b><i>18.4</i></b>	<b><i>3.7</i></b>	18.6	4.9
Phenol, 2,6-dimethoxy- [syringol]	Guaiacol	19.1	1.6	19.4	1.9
Phenol, 2-methoxy-4-allyl- [eugenol]	Guaiacol			19.5	0.8
Phenol, 2-methoxy-4-propyl- [dihydroeugenol]	Guaiacol			19.7	1.2
1H-Indole, 3-methyl-	Bicyclic	19.9	1.0		
<b><i>Vanillin [4-formylguaiacol]</i></b>	<b><i>Guaiacol</i></b>			<b><i>20.3</i></b>	<b><i>10.0</i></b>
Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)- [isoeugenol]	Guaiacol			20.5	1.3
Naphthalene, 1,3-dimethyl-	Bicyclic	20.6	0.4		
1,2,4-Trimethoxybenzene	Benzene	20.9	0.8		
Phenol, 2-methoxy-6-(2-propenyl)- [6-allylguaiacol]	Guaiacol	21.0	0.7	21.3	4.6
Benzaldehyde, 3,4-dimethoxy-	Benzene			21.8	2.1
1-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)ethanone [acetovanillone]	Guaiacol	21.7	2.0	22.0	6.9
Benzimidazole, 5-tert-butyl-2-methyl-	Bicyclic	22.3	1.0		
Naphthalene, 1,6,7-trimethyl-	Bicyclic	23.0	0.9		
Naphthalene, 2,3,6-trimethyl-	Bicyclic	23.5	0.9		
Ethanone, 1-(3,4-dimethoxyphenyl)-	Benzene			23.4	1.7
Others					4.7
Total			100		100

a HA<sub>AK1-75</sub> and lignin-derived products with areas >3% and >10%, respectively, are highlighted in bold italics.

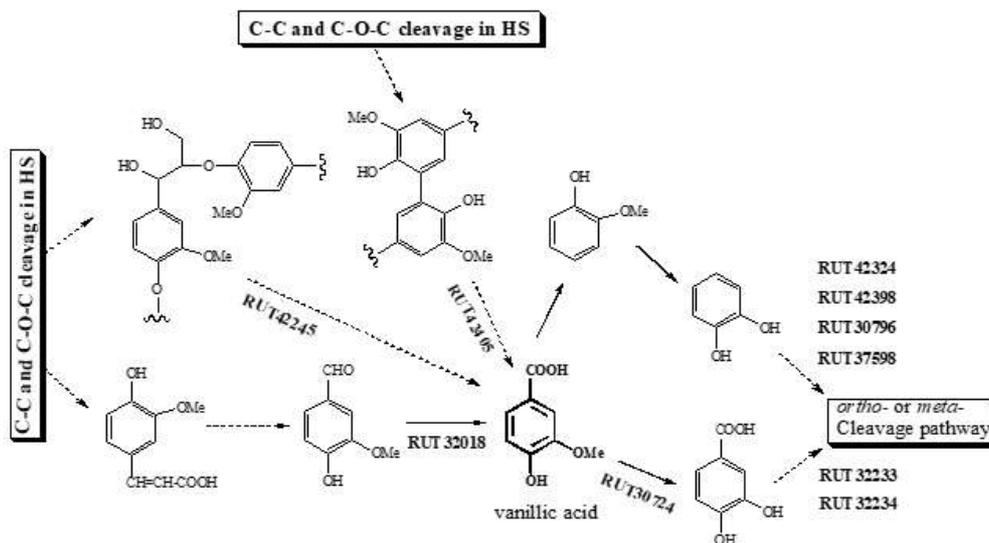


**Figure 3.** Assessment of function and catalytic activity of the AK1-75 microbial consortium enriched by HA. The experiments were performed at 15°C with a cell suspension from AK1-75 which had previously been enriched in HA-containing MSB media at 15°C. Average metabolic response (AMR, n=3) values were calculated from EcoPlates wells containing (A) all the thirty-one substrates or (B) five selected substrates. The degradative capacity for lignin-derived mono-aromatics was measured by HPLC, measuring the percentage of residual substrate over time (C).

#### 라. HA 분해 세균의 유전체 분석

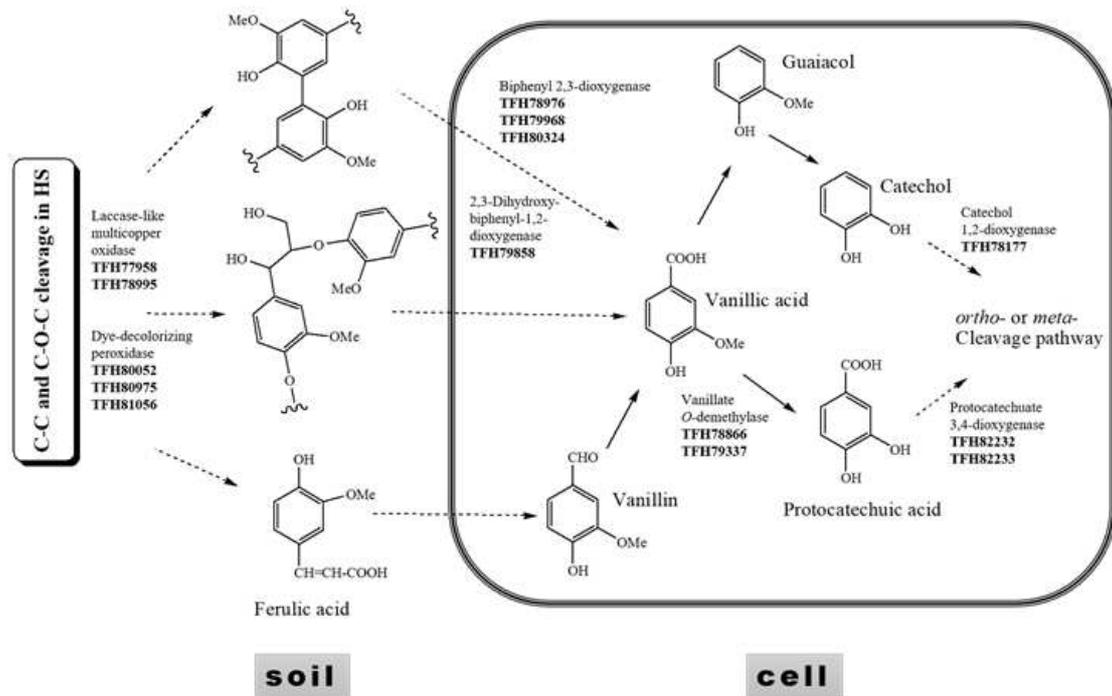
*Pseudomonas* sp. PAMC 29040 (= KCTC 72094) 유전체 염기서열 초안의 길이는 5.3 Mb이고 58.6% G+C 함량이었다. 염기서열 분석 결과, 아래와 같은 HS 분해관련 유전자들이 검출되었고, 세균에 의한 HS 분해경로를 추정하는데 사용되었다: dye-decolorizing peroxidase (GenBank no. RUT42245), biphenyl 2,3-dioxygenase (RUT42405), vanillin dehydrogenase (RUT32018), vanillate *O*-demethylase (RUT30724), protocatechuate 3,4-dioxygenase for *ortho*-ring cleavage (RUT32233 and RUT32234), catechol 2,3-dioxygenase for *meta*-ring cleavage (RUT42324 and

RUT42398), and catechol 1,2-dioxygenase for *ortho*-ring cleavage (RUT30796 and RUT37598) (Figure 4).



**Figure 4.** Proposed HS-degradative pathway by *Pseudomonas* sp. PAMC 29040. Solid and dotted lines represent multi-step reactions by different enzymes and one-step reactions by one enzyme, respectively. GenBank accession numbers for putative enzymes catalyzing the corresponding reactions are shown next the lines.

*Pseudomonas kribbensis* CHA-19 유전체 염기서열 초안의 길이는 56.4 Mb이고 60.6% G+C 함량이었다. 염기서열 분석 결과, 아래와 같은 HS 분해관련 유전자들이 검출되었고, 세균에 의한 HS 분해경로를 추정하는데 사용되었다: laccase-like multicopper oxidases [GenBank accession no. TFH77958 (*moxA*) and TFH78995], dye-decolorizing peroxidases [TFH80052 (*efcB*), TFH80975 (*yfeX*), and TFH81056 (*yfeX*)], biphenyl 2,3-dioxygenase [TFH78976 (*cntA*), TFH79968 (*hsaC*), and TFH80324 (*hcaE*)], 2,3-dihydroxybiphenyl-1,2-dioxygenase [TFH79858 (*hsaC*)], vanillate *O*-demethylase [TFH78866 (*vanB*) and TFH79337 (*vanA*)], protocatechuate 3,4-dioxygenase for *ortho*-ring cleavage [TFH82232 (*pcaH*) and TFH82233 (*pcaG*)], and catechol 1,2-dioxygenase for *ortho*-ring cleavage [TFH78177 (*catA*)] (Figure 5).

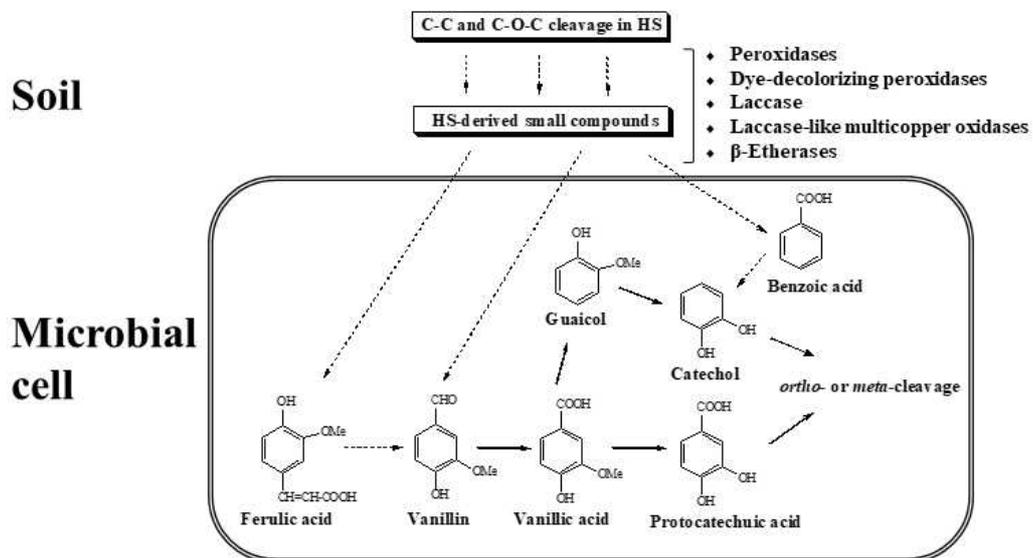


**Figure 5.** Proposed HS-degradative pathway by *Pseudomonas kribbensis* CHA-19. Dotted and solid lines represent multi-step reactions by different enzymes and one-step reactions by one enzyme, respectively. GenBank accession numbers for putative enzymes catalyzing the corresponding reactions are shown next the lines.

#### 마. HS 미생물 분해경로 제안

일반적으로 리그닌은 호기적 조건에서 리그닌 분해능이 있는 진균에 의해 주도적으로 호기적 중합해체(depoylmerization)되며, 세균은 단지 리그닌 분해 초기 과정에서 부수적인 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 그러나, 최근에 토양 세균이 생산하는 lignolytic dye-decolorizing peroxidase 효소가 발견되었고 반응특성이 연구되고 있다. 또한 리그닌 유래의 저분자 유기화합물의 분해경로와 관련 유전자군이 몇몇 세균에서 자세히 밝혀지고 있다(Kamimura et al., 2017). 이전의 인식과는 달리, 이러한 연구들 덕분에 토양 세균이 리그닌 분해 초기와 말기 과정 전반에 걸쳐 주요한 역할을 수행하고 있다는 것이 밝혀지고 있다. 위의 AK1-75 토양 내 농화배양된 HA 분해능 미생물군집의 기질이용도 조사, 순수분리한 세균균주의 유전체분석 결과, 그리고 이전 연구결과를 담은 문헌(Bugg and Rahmanpour, 2015; Salvachua et al., 2015; Kamimura et al., 2017) 조사를 바탕으로, 세균을 포함하는 미생물의 HA 분해는 세균의 리그닌 분해경로와 유사하게 진행되리라 판단하고 아래와 같은 분해경로를 제안한다: HS는 세균이 분비하는 다양한 종류의 dye-decolorizing peroxidase, laccase, beta-etherase,

esterase를 포함하는 산화환원효소(extracellular oxidoreductase)를 이용하여 초기의 중합해체반응이 시작된다. 주요한 분해대사산물인 ferulic acid는 vanillic acid로 전환되고, *O*-demethylation 반응에 의해 protocatechuic acid로 전환된다. 다른 경로로 vanillic acid는 decarboxylation 반응에 의해 guaiacol로 전환되고, *O*-demethylation 반응에 의해 catechol로 전환된다(Alvarez-Rodriguez et al., 2003). 아직 명확하지 않은 경로를 통해서 생산된 다른 주요 HS 분해대사산물인 benzoic acid는 hydroxylation 반응에 의해 catechol로 전환된다. Protocatechuic acid와 catechol은 *meta*- 혹은 *ortho*-cleavage pathway를 통해서 더욱 분해된다(Figure 6).



**Figure 6.** Proposed HS-degradation pathway (vanillic acid route) of AK1-75 soil microbes. Dotted and solid lines represent multi-step reactions by different enzymes and one-step reactions by one enzyme, respectively.

# 제 11 절 온도 및 pH 변화에 따른 토양 원생생물의 분포 경향 분석

## Analysis of Distribution of Soil Protozoa with Temperature and pH Variation

### 1. 서론

남극 대륙은 남극 순환류에 의해 약 2000만년 동안 고립된 환경을 유지해 오고 있고 사막과도 같은 극한 환경을 지니고 있어 생물들은 각각의 독특한 기작을 이용하여 살고 있다. 남극에 서식하는 육상 환경에는 윤형동물, 선형동물, 완보동물 등이 서식하고 있으며 그중 섬모충류는 가장 높은 다양성을 보인다. 섬모충류는 단세포 진핵생물로 15억년전에 지구상에 출현하였으며 남극의 척박한 환경에서 탄소 순환의 매개자 역할을 한다. 또한, 하나의 세포막을 가지고 있어 환경변화에 민감하게 반응하여 환경 지표종으로 이용되고 있다.

선행연구를 통해 장기관측지점에서 남극 토양 원생생물의 종 목록과 군집구조 조사결과 남극 고유종이 높은 비율로 존재함을 확인하였다. 특히 다양한 환경요인에 따라 섬모충 군집은 차이를 나타내며 일부 원생생물의 경우 온도에 특이적으로 출현하는 종이 있음을 확인하였다. 이 같은 생물반응은 향후 기후변화가 토양 미소생물에 미치는 영향을 추적하는 좋은 지표이며 반대로 미소생물 군집변화를 통해 남극 토양생태계의 환경변화를 추정할 수 있는 지표가 될 수 있다는 것을 시사한다.

### 2. 재료 및 방법

#### 가. 온도별 배양

토양 원생생물 군집(Figure 1)의 온도 반응 표준 지표 개발을 위해 5개 온도 구간, 4, 10, 14, 18, 22도로 설정하고 20 g의 토양을 약 53 일동안 raw culture를 통해 약 16종의 섬모충류들을 배양하였으며 300개의 x(일자), y(개체수)를 인자값으로 계산하였다.

#### 나. pH 변화

바톤반도 실제 토양의 pH 정보를 바탕으로 5 구간으로 나누어 pH 4, 5, 6, 7, 8로 구분하였으며 출현종들을 종별로 나누어 육안으로 확인하고 개체수를 기록하였다.

### 3. 결과 및 토의

킹조지섬 생태계 연구 주요과제 2단계(2014-2016) 선행연구를 통해 바톤반도 내 모니터링 선정 지점 10 지역에서 남극 토양 원생생물의 종목록과 군집자료를 확보하여 다양성과 고유종 비율이 높음을 알 수 있었다.

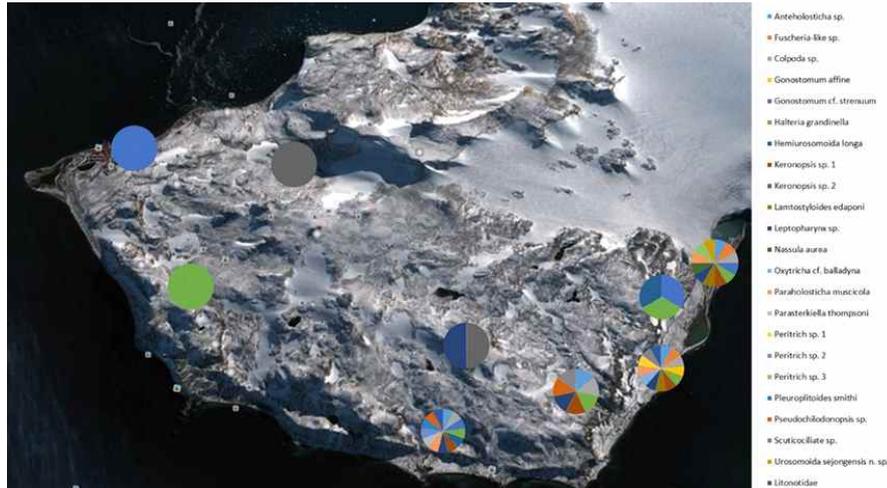


Figure 1. 바톤반도에 서식하는 원생생물 분포

바톤반도 섬모충류의 다양성을 측정하기 위한 지표 테스트를 실시했다. 배양과 유전정보로 확보한 33종의 섬모충들을 이용해 4가지 quantify species richness (SR), weighted endemism (WE), phylogenetic diversity (PD), phylogenetic endemism (PE) 항목을 biodiverse software를 이용해 특정함으로써 보다 쉽게 다양성을 수치화하였다. 그 결과, 바톤 반도에서 빙하후퇴지역이 다양성과 endemism이 가장 높게 나왔다(Figure 2).

온도 변화에 따른 토양 원생생물의 분포 경향을 분석하였다. 배양을 통해 총 16종을 확인하였으며 온도별 성장량을 기반으로 수식 대응값  $x$  (일자),  $y$  (개체수)를 확인하였다. 그 결과, 상온 특이적(*Anteholosticha* sp.), 저온 특이적(*Halteria* sp.), 온도 무관한 성장(*Leptopharynx* sp.) 등 세 그룹으로 구분 가능하였고 각 그룹을 대표하는 지표종을 선별할 수 있었다(Figure 3). 그룹 1은 상온에 특이적인 종으로, 이전 연구를 통해 온도 특이적인 *Anteholosticha* sp.을 확인 하였으며, 높은 온도에 특이적으로 자라는 것을 확인한 바 있다. 그룹 2는 저온에 특이적인 종으로, 이전 연구에서 저온에 특이적으로 나타나는 *Pseudonotohymena antarctica*의 경우 바톤반도를 대표하지 못하고 특정 지역에 출현하는 것 확인했고, *Halteria* sp.의 경우 현장 배양의 경우 저온에서 상대적으로 성장률이 높은 것으로 확인되었다. 그룹 3은 온도에 영향이 크지 않은 종으로, 연구소 배양 재현 실험을 통해 *Leptopharynx* sp.가 각 온도별 배양에서 온도에 상관없이 나타나는 것을 확인하였다.

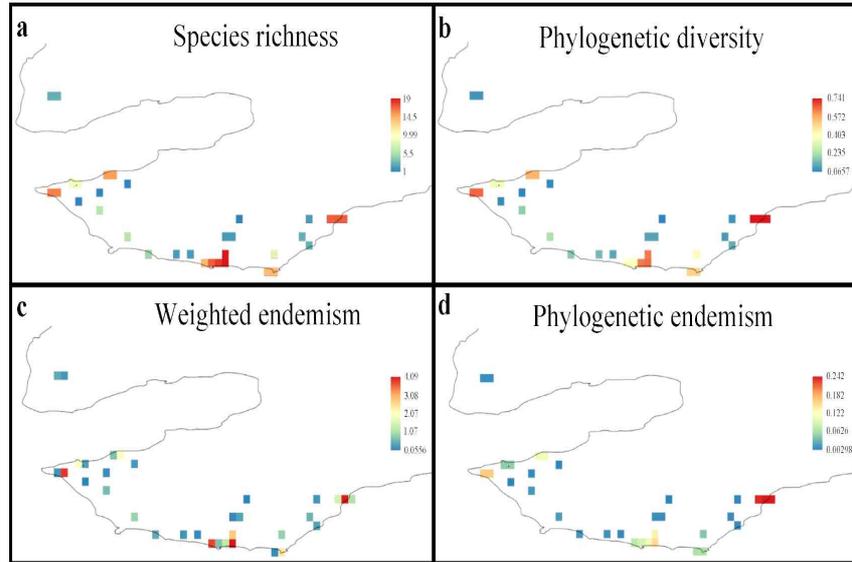


Figure 2. 바톤 반도 섬모충 다양성 매트릭스 (a) 종풍부도; (b) 계통 다양성; (c) 가중 고유도; (d) 계통 고유도.

- Diversity metrics for the ciliates, mapped using grid cells of 0.002 degrees. (a) Species richness; (b) Phylogenetic diversity; (c) Weighted endemism; (d) Phylogenetic endemism. Colours show allocation order.

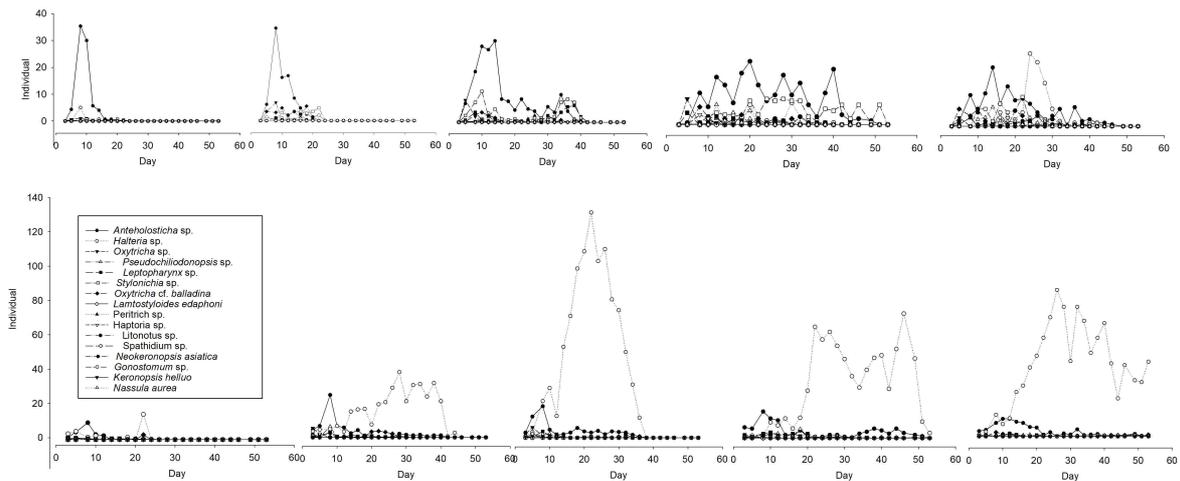


Figure 3. 섬모충의 온도별 (4, 10, 14, 18, 22도) 성장률 그래프

pH 변화에 따른 토양 원생생물의 분포 경향을 분석하였다. 동일 섬모충들을 대상으로 pH 범위에 따른 출현 빈도를 조사한 결과, pH 4에서는 *Spathidium* sp.와 *Uroleptus* sp., pH 7 이상에서는 *Keronopsis helluo*가 특이적으로 나타나는 것이 확인되어 이들을 pH의 반응 지표종으로 선정하여 향후 이용할 예정이다(Figure 4, 5). 50년에 걸쳐 세종기지가 위치하는 서남극권의 온도는 약 3도 증가하였으며 이는 세계적인 증가 속도보다 약 10배 빠르다고 한다. 기후 변화로 인한 지속적인 온도 상승이 일어날 경우 일부 종의 경우 현재보다 증가하거나 또는 사라질 가능성을 실험으로 확인하였으며 실험으로 얻은 데이터를 기반으로 실제 유사 환경 샘플을 확보 및 온도별 군집변화에 대한 신뢰성을 검증해 줄 군집구조 변화 예측 수치모델 프로토타입 개발을 목표로 하고 있다.

	pH4	pH5	pH6	pH7	pH8
<i>Anteholosticha</i> sp.		○	○	○	○
<i>Neokeronopsis asiatica</i>	○	○	○	○	○
<i>Halteria</i> sp.	○	○	○	○	○
<i>Stylonichia</i> sp.	○	○	○	○	○
<i>Peritrich</i> sp.	○	○	○	○	○
<i>Leptopharynx</i> sp.	○		○	○	
<i>Oxytricha</i> sp.	○	○	○		
<i>Gonostomum</i> sp.		○	○	○	○
<i>Keronopsis helluo</i>				○	○
<i>Pseudochlodonopsis</i> sp.			○	○	○
<i>Nassula aurea</i>	○	○	○		○
<i>Spathidium</i> sp.	○				
<i>Uroleptus</i> sp.	○				
<i>Litonots</i> sp.		○	○	○	○
<i>Haptorla</i> sp.		○		○	○
종수	9	10	11	11	11

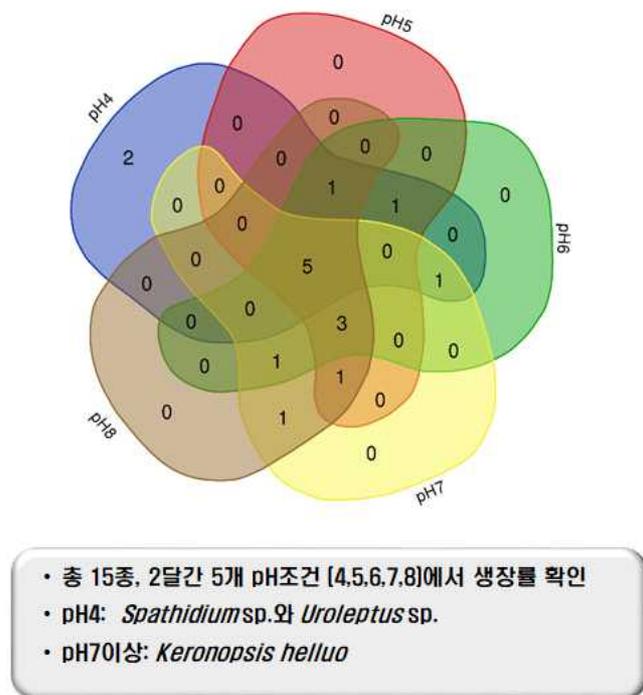


Figure 4. 남극 토양 산성도(pH)별 섬모충류의 생장률 확인

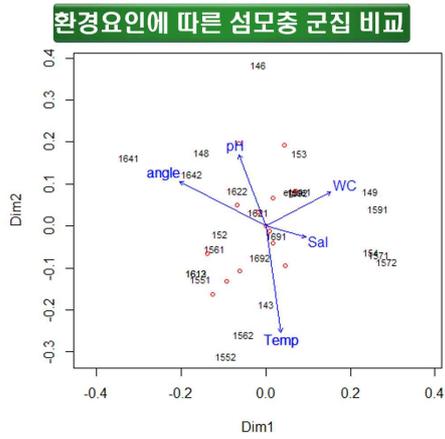
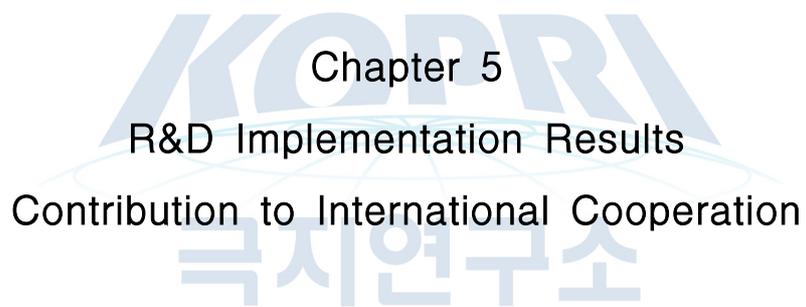


Figure 5. 환경요인에 따른 섬모충 군집 비교 및 *Anteholosticha* sp.의 온도에 따른 성장을 비교



제 5 장  
연구개발 결과  
국제공동연구 네트워크 구축



## 제 1 절 ANTOS DB와 웹사이트 구축

### Development of ANTOS database and website

#### 1. 서론

기후변화가 빠른 속도로 진행되고 있는 남극 육상생태계와 연안생태계의 변화와 반응을 모니터링하기 위하여 남극전역을 대상으로 한 관측시스템을 구축하고자 하였으며, 이를 달성하기 위해 ANTOS(Antarctic Near-Shore and Terrestrial Observation System)가 만들어졌다. ANTOS는 드라이벨리 육상연구팀이 중심이 되어 2012년 미국 포틀랜드에서 개최된 Terrestrial Observation System(TON) 워크샵이 시작점이었다. 이후 2013년 스페인 바르셀로나, 2013년 호주 호바트, 2014년 뉴질랜드 오클랜드, 2015년 뉴질랜드 해밀턴, 2016년 말레이시아 쿠알라룸푸르, 2018년 이탈리아 제노아 회의를 거치면서 남극전역을 대상으로 육상과 연안생태계를 대상으로 관측시스템을 구축하는 것으로 정리되었으며, SCAR의 Expert Group으로 발전하였다.

여러 차례 워크샵을 통해서 3단계로 발전될 실행계획이 만들어졌으며(Figure 1, 2), 1단계에서는 저가의 장비를 이용하여 기초적인 환경관측을 수행하고, 2, 3단계에서는 고가의 장비를 이용하여 종합적인 생태계 관측이 이루어지도록 설계되었다. 현재 육상과 연안을 대상으로 시범사업이 진행되고 있다(Figure 3, 4). 2020년 워크샵에서 관측을 위한 표준장비가 결정될 것이며 참여를 원하는 모든 연구팀은 정해진 장비를 이용하여 관측을 수행하게 된다. 현재까지 다양한 국가에서 남극의 다양한 지역에 대하여 참여의사를 보여주고 있다(Figure 5).

ANTOS의 데이터 관리를 위하여 중앙집중적인 데이터베이스 시스템을 개발하기로 결정하였으며, 이 임무는 극지연구소 KGI-LTER 연구팀이 맡기로 결정하였다(Figure 6). 본 데이터베이스는 단순히 데이터를 저장하는 기능을 넘어서 일괄분석이 가능하도록 데이터 표준화를 이루고 참여연구자간 데이터를 공유할 수 있는 기능을 가지도록 할 필요가 있다.

Change	Tier 1 (\$)	Tier 2 (\$\$)	Tier 3 (\$\$\$)
<b>Physical</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wind speed and direction</li> <li>• Air temp (2 for calibration)</li> <li>• RH (air)</li> <li>• Light</li> <li>• PAR</li> <li>• Due point</li> <li>• Soil Moisture and temp</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wind speed and direction</li> <li>• Air temp (2 for calibration)</li> <li>• RH (air)</li> <li>• Light</li> <li>• PAR</li> <li>• Due point</li> <li>• Precipitation/snow fall</li> <li>• Active layer (soil moisture and temp – 10cm intervals)</li> <li>• Possibly - WiFi capability for local slave sensor arrays</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Wind speed and direction</li> <li>• Air temp (2 for calibration)</li> <li>• RH (air)</li> <li>• Light</li> <li>• PAR</li> <li>• Due point</li> <li>• Precipitation/snow fall</li> <li>• Active layer (soil moisture and temp – 10cm intervals)</li> <li>• WiFi capability for local slave sensor arrays</li> </ul>
<b>Remote Sensing</b>	<b>Increased level of complexity, understanding and \$\$ → → →</b>		
<b>Aeolian</b>			Ice core analysis
<b>Respiration</b>	NA	CO2 gas Flux (Local)	Soil CO2 Gas Flux (regional) Soil CO2 flux subsurface array Gas cycling
<b>Biological activity</b>	NA	PAM - photosynthesis	PAM – photosynthesis Eddy covariance
<b>Biodiversity</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Basic local survey: Composition</li> <li>• Distribution</li> <li>• Basic vegetation mapping</li> </ul>	Complete survey (NZTABS style-10 yearly) Composition Distribution Comprehensive vegetation mapping (5 yearly)	Complete survey (NZTABS regional style) Comprehensive composition survey Distribution Comprehensive vegetation mapping Spectral mapping Population genetic survey
<b>Soil Geochemistry</b>	Basic Nutrients EC Conductivity	Nutrients, TOC, TON Elements (ICP-MS) EC	Nutrients, TOC, TON Elements (ICP-MS) EC

Figure 1. 단계별 육상생태계 관측 시스템 구축 계획

Criteria	Tier 1 (\$)	Tier 2 (\$\$)	Tier 3 (\$\$\$\$)
<b>Physical</b>	<b>Remote sensing</b> (e.g., of ice conditions, Chlorophyll a, etc)  <b>Monitoring array:</b> temp, cond, O2, pH, light	<b>Monitoring array/sedimentation</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Currents</li> <li>• Fluorometer</li> <li>• Light</li> <li>• PAR</li> <li>• Temperature</li> <li>• Conductivity/salinity</li> <li>• pCO<sub>2</sub>/pH</li> <li>• turbidity</li> <li>• O<sub>2</sub></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Water column assessment (CTD profiler)</li> <li>• Coded, real time monitoring array</li> <li>• Depth resolved</li> <li>• PAR</li> <li>• Due point</li> <li>• Precipitation/snow fall</li> <li>• Wireless capability for local slave sensor arrays</li> </ul>
<b>Colonisation</b>	<b>Increased level of complexity, understanding and \$\$ → → →</b>		
<b>Diversity</b>	Permanent transects, imagery	<b>Settlement (ARMS)</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ROV</li> <li>• Vessel towed systems</li> </ul>
<b>Distribution</b>	Permanent transects, imagery	ARMS, drop camera, ROV etc,	Broad scale
<b>Function</b>	N/A	Time-lapse Fecundity Sediment quality	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AUV/detailed 3D mapping</li> <li>• Entire food web (isotopes)</li> <li>• Tagging (growth)</li> <li>• Ecophysiology</li> <li>• Chamber flux, eddy correlation (nutrients, O<sub>2</sub>)</li> <li>• Gene expression, contaminants</li> <li>• Experiments</li> </ul>
<b>Genetic/genomic</b>	N/A	Barcoding, metabarcoding, e-DNA	Population markers Automatic DNA sampler

Figure 2. 단계별 연안생태계 관측시스템 구축 계획

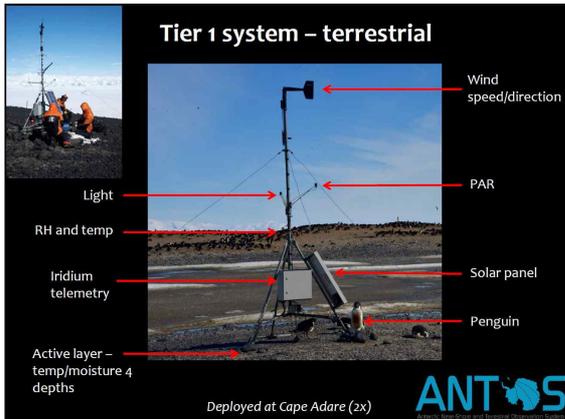


Figure 3. 1단계 육상생태계 관측시스템 구축에 (케이프어데어)

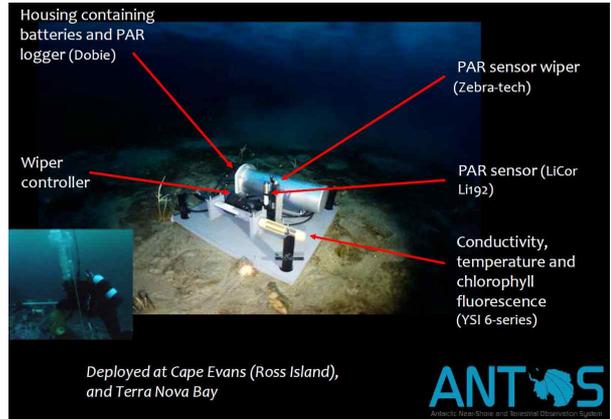


Figure 4. 1단계 연안생태계 관측시스템 구축에 (테라노바만)

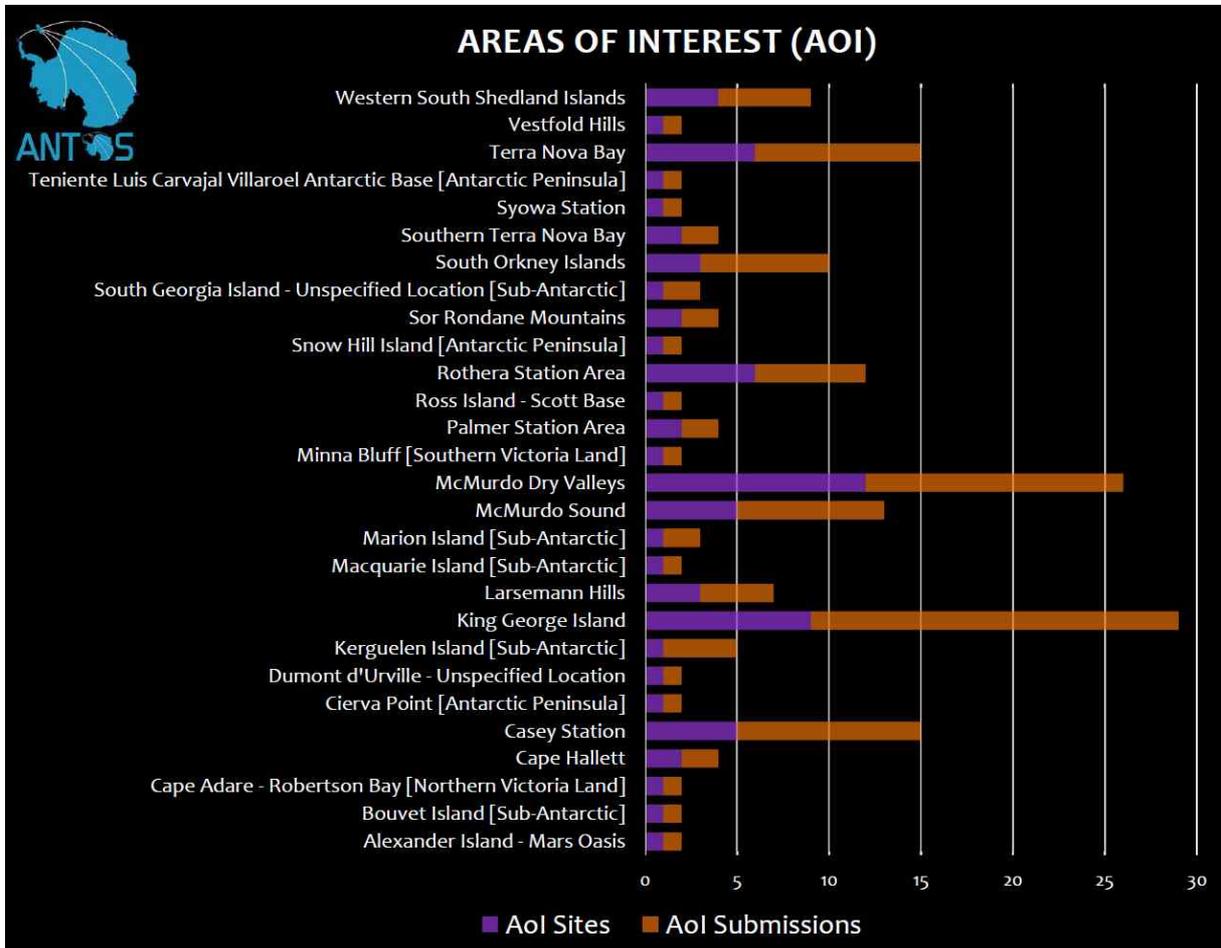


Figure 5. ANTO5 관측시스템 구축 계획

## ANTOS Committee

Craig Cary – NZ (co-chair)

Vonda Cummings – NZ (co-chair)

Megumu Tsujimoto – Japan (secretary)

Charles Lee – NZ (tech advisor)

Soon Gyu Hong – Korea

Byron Adams – USA

Dana Bergstrom – Australia

Delores Deregibus – Argentina

Eli Verleyen – Belgium

Emmanuelle Sultan – France

Marcela Libertelli – Argentina

Mauro Guglielmin – Italy (ANTPAS rep)

Pete Convey – UK

Sharon Robinson – Australia

Stefano Schiaparelli – Italy

Steve Colwell – UK (SCAR PSG rep)

Camilla Signori – BR (APECS)

Figure 6. ANTOS 위원회 구성

## 2. 자료 및 방법

### 가. 연속관측 기후데이터 처리

센서와 로거를 이용하여 획득되는 기후관측 데이터는 위성을 이용한 정기적인 데이터 전송, 위성서비스 회사의 데이터 저장소에 저장, 연구자가 현장에서 직접 데이터 회수 등 다양한 방법으로 데이터가 회수된다. 이러한 다양한 방법으로 획득되는 데이터를 업로드할 수 있는 모듈을 개발하였다. 지리정보, 시간정보, 관측정보 등을 사전에 설정할 수 있는 메타데이터 설정기능과 연속적으로 데이터를 입력할 수 있는 기능이 중요한 기능이다.

### 나. 토양, 물, 공기시료의 화학데이터 처리

토양시료의 분석을 통해 획득되는 화학데이터는 일회성 데이터이며, 이를 처리할 수 있는 별도의 모듈을 개발하였다. 가장 중점을 둔 내용은 각 시료의 지리정보 등 메타데이터를 일괄처리 하도록 관리하는 기능이다.

### 다. 단위의 표준화

다양한 연구자에 의해 생성되는 데이터를 일괄분석하기 위해서는 관측단위를 표준화하는 것이 매우 중요하다. 이를 위해서 입력되는 데이터를 표준단위로 변환하고 지정된 단위로 출력되는 것이 필요하다. 단위 변환표를 입력하고 수정하는 기능을 개발하여 이를 가능하도록 하였다.

### 3. 결과 및 토의

#### 가. ANTOS 데이터베이스 및 웹사이트 구축

남극의 육상생태계와 연안생태계의 연속관측을 통해 얻어진 데이터를 관리하기 위하여 1) 각각의 데이터셋에 대한 정보획득 장소, 장비, 센서 등의 메타데이터 관리, 2) 데이터셋을 엑셀파일 형식으로 데이터베이스 등록 또는 위성을 통해 데이터를 실시간으로 받아서 데이터베이스 등록, 3) 데이터 검색 기능을 이용하여 지리정보와 관측시간 등을 키워드로 한 데이터의 검색, 데이터 공유요청, 차트 기능을 이용한 데이터 특성파악, 데이터 다운로드 기능을 개발하였다(Figure 7).

토양, 물, 공기 시료로부터 얻어진 화학데이터를 관리하기 위하여 엑셀 파일에 정리된 화학데이터를 업로드하고 관리하기 위한 기능을 개발하였다. 이 기능에는 1) 화학분석 데이터 셋트에 공통적인 메타데이터 관리, 2) 각 시료별 메타데이터 관리, 3) 관측값의 단위 표준화 기능을 통하여 통일된 데이터 입력 및 관리 기능 등이 포함되었다.

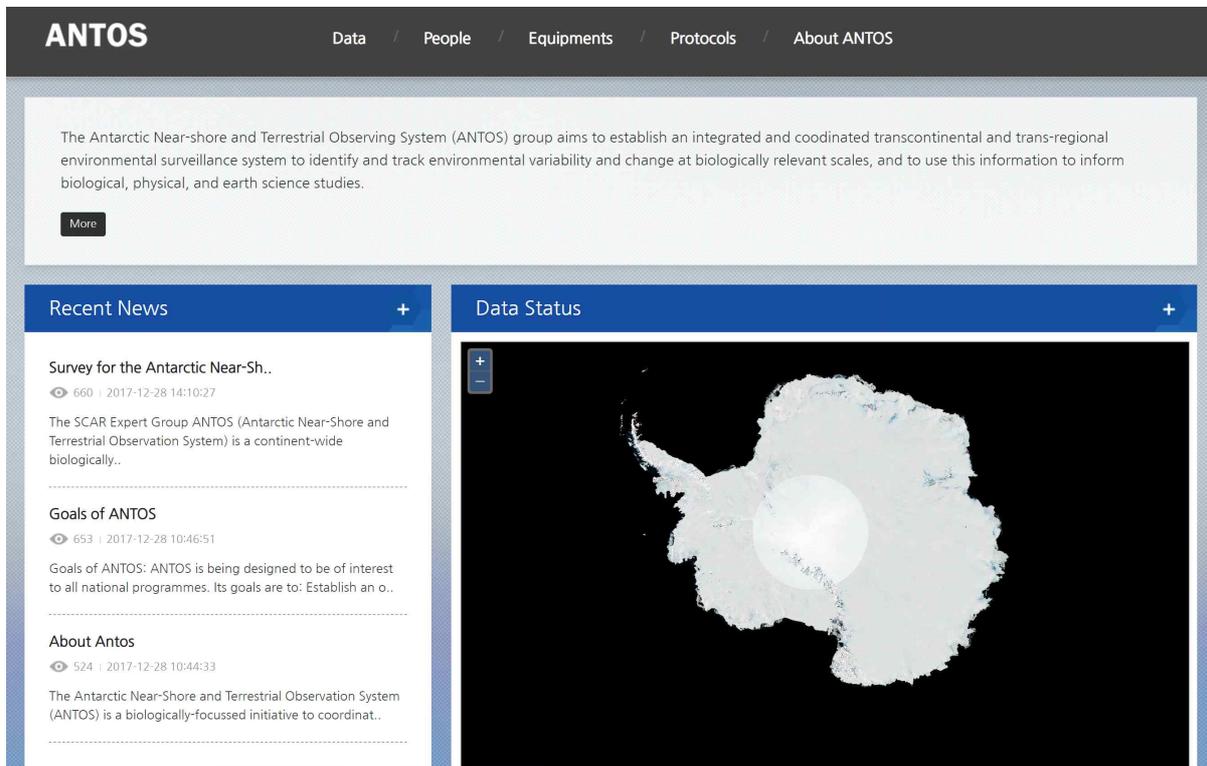


Figure 7. ANTOS 웹사이트

## 나. 데이터의 표준화

ANTOS 데이터베이스 시스템은 중앙집중적인 분석이 가능하도록 하는 것을 목표로 하고 있으며 이러한 목적을 위하여 다양한 국가의 연구자들이 생산한 데이터의 표준화가 필수이다. 각 연구자가 동일한 장비와 방법을 사용하여 표준화하는 방법과 향후에 표준화하는 방법이 있을 수 있다. ANTOS에서는 가급적 장비와 방법을 표준화하는 것을 추구하지만, 데이터베이스 개발자는 이에서 벗어날 경우에 대비할 필요가 있다. 가장 중요한 것은 측정단위의 표준화이며 이를 위해서 1) 표준단위의 설정, 2) 표준단위로 값의 변환, 3) 사용자 지정 단위로 변화 등의 과정을 거치면서 데이터를 관리하는 기능을 개발하였다 (Figure 8, 9, 10)

* title	Velocity			
Standard unit	meter per second	Symbol	m/s	
<a href="#">Edit</a>				
Unit	Symbol	Conversion to the standard unit	Conversion from the standard unit	
kilometer per hour	km/h	x*1000/3600	x*3600/1000	<a href="#">Edit</a> <a href="#">Delete</a>
mile per hour	mile/h	x*16093/36000	x*36000/16093	<a href="#">Edit</a> <a href="#">Delete</a>
knot	kn	x*1852/3600	x*3600/1852	<a href="#">Edit</a> <a href="#">Delete</a>
meter per second	m/s	x*1	x*1	<a href="#">Edit</a> <a href="#">Delete</a>
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
<a href="#">Save</a> <a href="#">List</a> <span style="float: right;"><a href="#">Add line</a></span>				

Figure 8. 속도 항목의 다양한 단위와 단위간 변환표

Continuous Data
Soil
Water
Air

No	Title	Standard unit	Allowed units	
1	Velocity	meter per second	km/h, mile/h, kn, m/s	<a href="#">Edit</a> <a href="#">Del</a>
2	Temperature	degree Celcius	°F, °C, K	<a href="#">Edit</a> <a href="#">Del</a>
3	Pressure	pascal	Pa, bar, natm, uatm, matm, atm, Torr, mmHg, psi	<a href="#">Edit</a> <a href="#">Del</a>
4	Relative humidity	percent	%	<a href="#">Edit</a> <a href="#">Del</a>
5	Light intensity	lux	lx	<a href="#">Edit</a> <a href="#">Del</a>
6	Luminous flux	lumen	lm	<a href="#">Edit</a> <a href="#">Del</a>
7	Luminance	candela per square meter	cd/m^2	<a href="#">Edit</a> <a href="#">Del</a>

Total posts of 7 / Page(1/1) 1 [create](#)

Figure 9. 단위관리 기능

Continuous Data   **Soil**   Water   Air

Item:  measurement

Sorting Order:

	Sorting Order	Item	Measurement	Standard Unit	Unit Conversion Table	
<input type="checkbox"/>	1	TN	total nitrogen concentration in soil	%	chemical concentraion in soil (wt/wt, Standard Unit: %)	<input type="button" value="Edit"/> <input type="button" value="Del"/>
<input type="checkbox"/>	2	TC	total carbon concentration in soil	%	chemical concentraion in soil (wt/wt, Standard Unit: %)	<input type="button" value="Edit"/> <input type="button" value="Del"/>
<input type="checkbox"/>	3	TIC	total inorganic carbon concentration in soil	%	chemical concentraion in soil (wt/wt, Standard Unit: %)	<input type="button" value="Edit"/> <input type="button" value="Del"/>
<input type="checkbox"/>	4	TOC	total organic carbon concentration in soil	%	chemical concentraion in soil (wt/wt, Standard Unit: %)	<input type="button" value="Edit"/> <input type="button" value="Del"/>
<input type="checkbox"/>	5	C/N ratio	Carbon to Nitrogen ratio		Ratio	<input type="button" value="Edit"/> <input type="button" value="Del"/>
<input type="checkbox"/>	6	Salinity	concentration	ppt	chemical concentraion in soil (wt/wt, Standard Unit: ppt)	<input type="button" value="Edit"/> <input type="button" value="Del"/>
<input type="checkbox"/>	99	Ba	concentration	ppt	chemical concentraion in soil (wt/wt, Standard Unit: ppt)	<input type="button" value="Edit"/> <input type="button" value="Del"/>
<input type="checkbox"/>	100	Soil Temp	temperature	°C	Temperature	<input type="button" value="Edit"/> <input type="button" value="Del"/>
<input type="checkbox"/>	100	Cr	concentration	ppt	chemical concentraion in soil (wt/wt, Standard Unit: ppt)	<input type="button" value="Edit"/> <input type="button" value="Del"/>
<input type="checkbox"/>	100	CaCO3	concentration of calcium carbonate in soil	%	chemical concentraion in soil (wt/wt, Standard Unit: %)	<input type="button" value="Edit"/> <input type="button" value="Del"/>
<input type="checkbox"/>	102	pH	hydrogen ion concentration exponent	pH	Hydrogen ion concentration exponent	<input type="button" value="Edit"/> <input type="button" value="Del"/>
<input type="checkbox"/>	103	Sr	concentration	ppt	chemical concentraion in soil (wt/wt, Standard Unit: ppt)	<input type="button" value="Edit"/> <input type="button" value="Del"/>

Figure 10. 토양특성 관측 항목 일람표



## 제 2 절 LAPES DB와 웹사이트 구축

### Development of LAPES database and website

#### 1. 서론

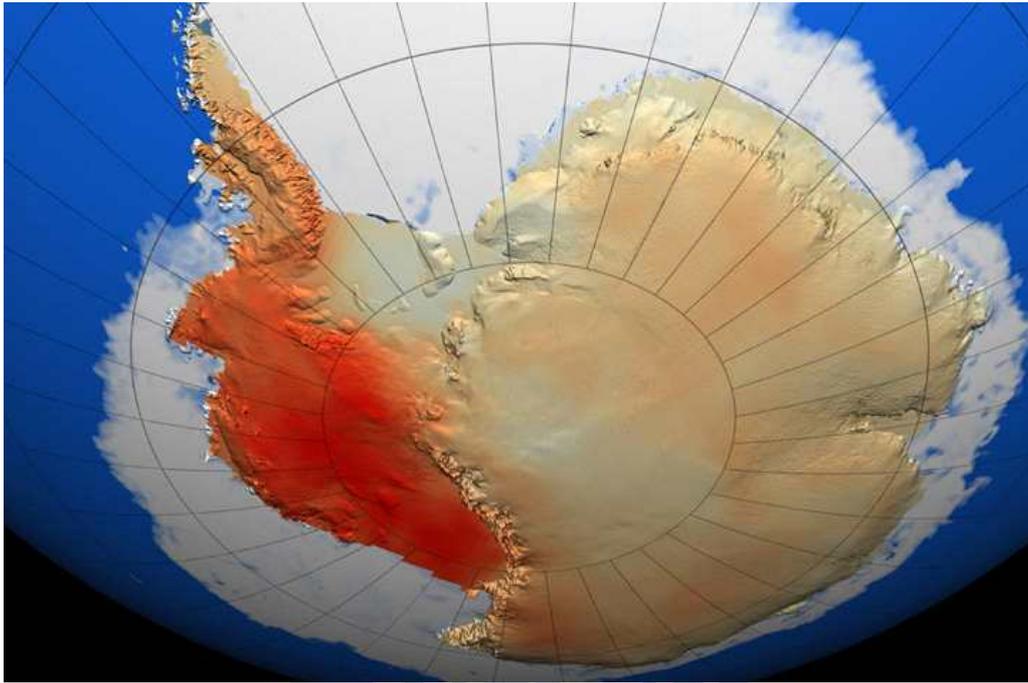


Figure 1. 남극지역의 온도변화 (1957 - 2006)

서남극 지역은 남극대륙 내에서도 상대적으로 기후변화가 빠르게 일어나는 지역이다 (Figure 1). 남극반도 지역과 주변 도서 지역은 남극해양의 영향을 받아서 다양한 식생이 발달한 육상생태계가 존재하는 지역이다. 이 지역에는 대한민국을 포함하여 칠레, 러시아, 중국, 우루과이, 아르헨티나, 브라질, 폴란드, 페루, 미국, 영국, 체코 등 다양한 나라에서 기지를 운영하며 남극생태계에 대한 연구를 진행 중이다. 각 나라마다 생태계 변화를 모니터링하기 위한 연구프로그램이 진행되고 있으며, 연구의 폭과 깊이는 각 나라의 연구환경에 따라 큰 차이를 가지고 있다. 다양한 연구자들간의 연구네트워크를 구성하기 위하여 LAPES(Linking of Antarctic Peninsula Ecosystem Sciences)를 제안하였고 2016년 SCAR회의 중 개최된 워크샵을 통해 이러한 제안에 대해 많은 관심과 기대가 있는 것을 확인하였다. 연구자들간의 네트워크가 원활하게 작동하기 위해서는 연구활동과 연구자료를 공유하기 위한 기반이 필요하다. LAPES 데이터베이스와 홈페이지는 이러한 목적을 달성하기 위하여 개발하였다. 데이터를 관리하기 위한 프로그램과 데이터 형식 등 대부분

의 데이터베이스는 ANTOS 데이터베이스와 공유하고, 표준장비와 방법만 허용하는 ANTOS와 별개로 다양한 자료를 관리하고 공유할 수 있도록 별도의 홈페이지를 개설하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 데이터베이스 시스템 개발

센서와 로거를 활용한 연속관측 데이터와 토양, 물, 공기 시료의 화학분석 데이터의 처리 등 데이터의 관리를 위한 모든 프로그램과 모듈은 ANTOS의 프로그램을 공유하였다.

### 나. 홈페이지 개발

남극반도 생태계를 대상으로 LAPES용 홈페이지를 별도로 개발하였다. 남극반도를 대상으로 수집된 생태계 데이터 중 ANTOS 표준에 부합한 데이터의 경우 별도의 데이터 업로드 과정 없이 그대로 ANTOS 홈페이지에서 노출되도록 기능을 구현하였다.

### 다. 현장연구 공유 기능

현장연구 계획을 홈페이지에 등록하고 검색을 통하여 현장연구를 공유하기 위한 기능을 개발하였다.

## 3. 결과 및 토의

ANTOS(Antarctic Near Shore and Terrestrial Observation System) 데이터베이스 시스템을 이용하여 LAPES(Linking of Antarctic Peninsula Ecosystem Sciences) 데이터 관리 기능 및 홈페이지를 개발하였다(<http://lapesdb.org/>). ANTOS와 LAPES간에 연구데이터의 특성과 관리방법이 다르지 않기 때문에 동일한 프로그램을 활용하는 데는 문제가 없을 것으로 판단된다. ANTOS는 관측데이터의 품질과 신뢰도 관리를 위하여 관측에 사용되는 장비와 센서를 표준화하고 특정장비만 사용하도록 권고될 예정이다. 이에 반해 현실적으로 다양한 연구자들은 자신의 연구환경에 맞게 다양한 장비와 방법을 사용해서 연구를 수행하고 있다. 이러한 점을 고려하였을 때 더 광범위한 연구자료를 수용하기 위해서 LAPES 데이터베이스와 ANTOS 데이터베이스는 분리될 필요가 있었다.

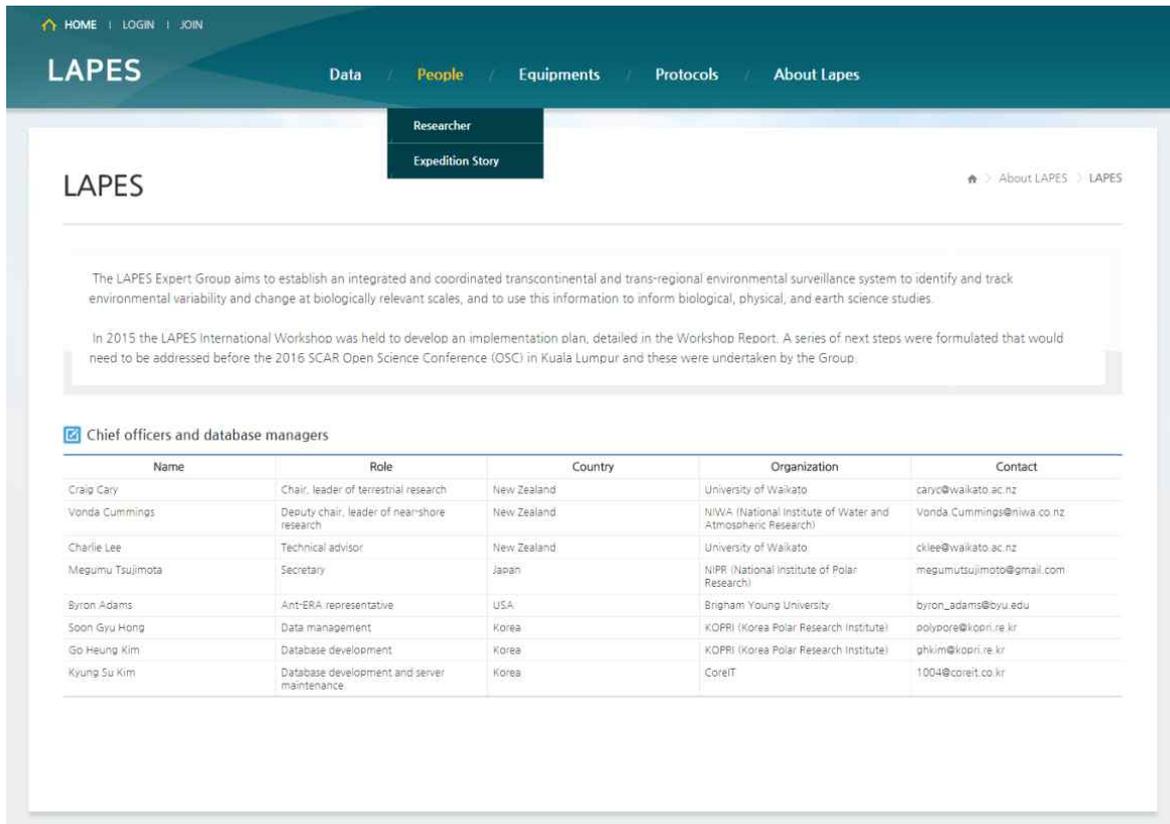


Figure 2. LAPES 홈페이지

2016년 SCAR 학술회의 기간 중 워크숍을 개최하여 남극반도 생태계 연구 네트워크를 구축하고 연구자간 데이터의 공유, 현장조사의 공유, 공동연구 프로젝트 개발에 관하여 합의를 도출하였다. 본 데이터베이스의 시험기간이 끝나면 남극반도를 중심으로 활동 중인 연구자들에게 공지하고 공동연구를 위한 중요한 플랫폼으로 활용할 계획이다.

한 연구자가 다양한 지역을 방문하여 연구하는 것이 매우 어려운 남극의 상황을 고려하였을 때 연구자간 현장연구를 공유하는 것은 연구 효율을 높이는데 큰 도움을 줄 수 있다. 남극생태계 공동연구를 촉진하기 위하여 중요한 요소 중 하나는 현장연구 시 상호협력을 강화하는 것이다. 이를 원활하게 하기 위해서 Expedition Story 메뉴를 개발하여 남극반도 지역과 남쉐틀랜드군도 지역의 현장조사를 계획하고 있는 연구자들이 본인의 계획을 공개하여 공동연구 촉진하도록 하였다.

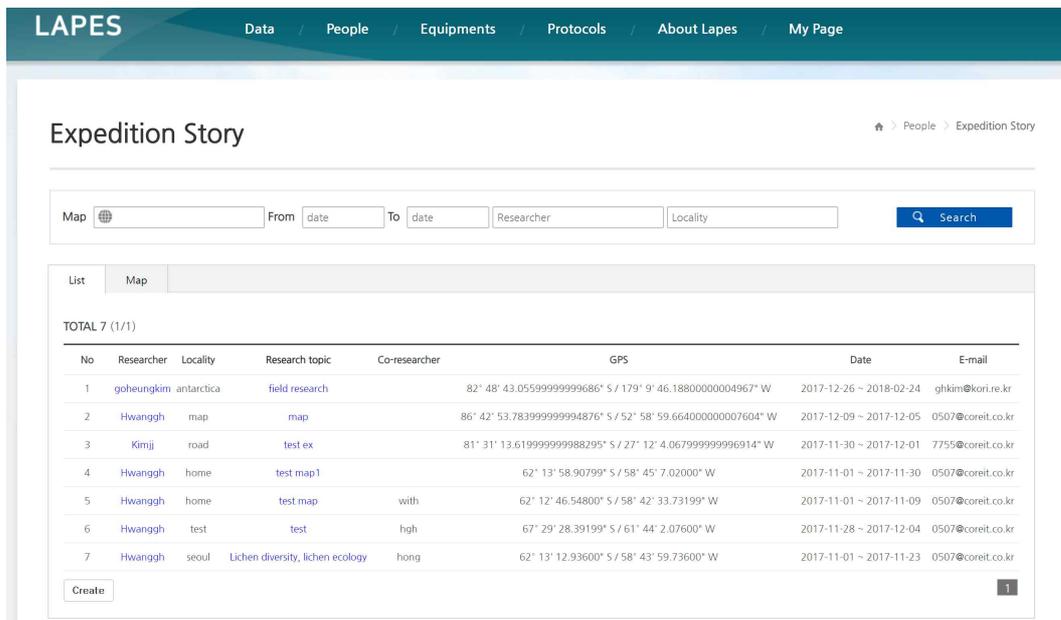


Figure 3. LAPES의 남극현장연구 공유 기능

LAPES는 우리나라와 칠레 양국이 핵심이 되어 남극반도 연구를 활성화시키고자 하는 네트워크이다. 따라서 양국간 활발한 정보 교류와 연구 교류가 반드시 필요하기 때문에 본 과제의 연구진과 칠레 연구진은 꾸준히 연구 교류를 이어왔다. 2016년 5월 칠레 산티아고에서의 1차 워크샵에서는 향후 양국 연구자들간 교류를 활성화하고 공동연구 과제를 개발하여 상호 협력에 관해 공동의 이해를 확인하였고, 이러한 내용은 2019년 12월 통신망으로 열린 2차 워크샵에서도 양측이 재확인한 바 있다. 1차 워크샵 이후 본 연구진은 칠레 라프론테라 대학과 콘셉시온 대학의 연구팀들이 칠레 국내 연구 프로그램에 연구계획서를 제출할 때 국제공동 협력자로 참여했으며 실제 이들이 연구과제를 수주하는 데 도움을 주었다. 또한 연구 부분에서도 칠레 라프론테라 대학 연구팀은 본 연구진이 바톤 반도에 식생 광합성 모니터링 시스템을 구축하는 데 필수적인 자문을 해주었으며, 폴란드 기지 주변 샘플을 공유해 주기도 했다. 그에 상응하여 본 연구진에서는 제공받은 샘플을 분석하여 환경요인에 반응하는 현화식물의 차별적인 유전자를 선별하였고 이러한 내용은 향후 공동 논문 발표를 위해 데이터를 정리하는 과정에 있다. 양국간 다음 워크샵은 2020년 8월 호바트에서 개최되는 SCAR OSC conference에서 이루어질 것이며, 서로간 연구 진행 상황을 공유하고 논문 집필 계획을 수립할 예정이다.

제 6 장  
연구개발결과의 활용계획

Chapter 6  
Application Plans of R&D Results



## 제 1 절 향후 연구방향 설정

### 1. 육상생태계 관측거점의 지속 운영 및 확대

장기집중 관측거점인 바톤반도 KGL01 지역 다학제 관측거점을 지속 운영하면서 장기 생태 자료를 확보하는 것이 무엇보다 중요하다. 그리고 빙하후퇴 지역에 집중관측지점을 추가 구축할 필요가 있다. 더불어 향후 남극반도나 동남극과 같은 남극 전역의 자료를 확보하여 비교 연구를 진행할 필요가 있다. 이를 위해 다음 단계에서 진행되어야 할 내용은 칠레와의 연구협력을 통해 남극반도 지역에 집중관측거점을 추가하여 육상생태계 반응 예측을 위한 대표 관측시스템을 구축하는 것이다.

### 2. 환경변화에 따른 생물반응의 기작을 규명하기 위한 생리생태 연구 필요

남극에서의 환경변화(원인)에 따른 생물반응(결과)을 예측하려면 이들 사이의 작용기작을 알아야 한다. 하지만 연구를 위한 접근의 어려움으로 인해 남극 생물의 생리생태적 작용기작에 대한 연구는 매우 부족한 실정이다. 향후 지속적인 연구가 가능하려면 남극 식생의 성장과 변화를 비파괴적으로 모니터링할 수 검사법이 필요하며, 이를 통해 다양한 환경요소별 중요도를 정량화해서 미래예측이 가능한 실효성 있는 모델링 수립에 기여할 수 있다.

### 3. 생물간 상호작용에 의한 생물반응 연구 시도

생태계 내에서 환경요소가 주는 영향에 비해 그 효과가 더욱 복잡하다고 알려진 생물간 상호작용 연구를 시도할 필요가 있다. 예를 들어, 식생 내 미생물 공생이 식생의 생리반응과 성장/분포에 미치는 영향이나, 환경변화에 따른 미생물의 분해활성과 식생의 성장과의 상관성 등을 분석한다면 환경요인만으로 설명되지 않던 생물반응에 대한 설명이 가능해질 것이다.

### 4. 국제공동연구 네트워크 주도적 활동 지속

2020년 ANTOS 웹사이트의 본격 런칭에 대비한 웹페이지 세부 개선작업을 진행해야 한다. 또한 LAPES 공동연구 활성화를 통해 남극 연구 네트워크 활동을 주도할 수 있다면, 네트워크의 데이터 관리자로서 국제사회에 기여하여 과학외교 영역 한국의 위상 제고가 가능할 것이다.

## 제 2 절 성과 활용계획

### 1. 다학제 기반으로 확보한 관측 데이터의 다학제적 활용

다학제 관측을 통해 확보한 생물반응 데이터는 지질학 분야의 수계 모델링과 동토 연구 분야에도 접목하여 활용 가능하다. 남극 육상의 생지화학적 특성 관측 데이터들은 기상과 지면의 식생변화 연구에 활용될 것이며, 바톤반도와 남극반도의 원격탐사 연구 분야 연구에도 활용될 것이다.

### 2. 남극환경보전 정책 수립에 기여

본 과제의 다학제 관측을 통해 확보된 정밀 지도와 식생반응 정보는 남극 지역 생태계 보전의 주요 데이터로 활용되어 정부의 남극환경보전 정책 수립에 활용될 것으로 기대된다.

### 3. 개발된 신기술을 활용하여 관련 연구 진행 가속화

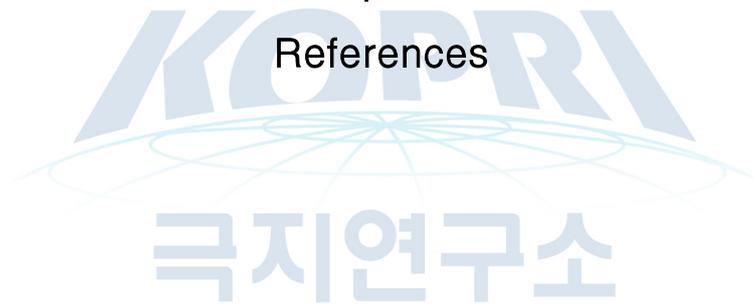
가장 활용도가 높을 것으로 기대되는 분야는 육상생물 연구 분야이다. 광합성 모델링 기술은 남극 반도를 포함한 남극 다른 지역 식생의 광합성 반응 예측의 기반으로 활용될 것이며, 식생 분포 모델링 기술은 남극 식생 분포와 지형, 환경요인 간의 연관관계 도출 과정에 활용 가능하다. 이미지 기반 성장 예측, 원격탐사 기반 식생 분석 기술은 지속 가능한 극지 연구를 실현하는 데 필수적인 친환경 기술이다. 또한 한반도 기후변화에 따른 식생과 작물 성장 예측 과정에도 활용될 것이다.

### 4. 남극 육상생태계 연구 분야에서 극지연구소의 주도적 기능 수행

단기적으로는 2020 SCAR 주최 정기학술대회에서 개최될 ANTOS 워크숍을 통해 ANTOS 웹사이트가 본격 런칭될 예정이다. ANTOS 네트워크 내 데이터 관리자 기능을 충실히 수행하여 축적된 데이터를 선제적으로 활용하고 연구자 네트워크를 주도할 수 있다. 구축한 웹사이트 내에서 연구자들간 네트워크 기능을 추가하여 중장기적으로 국제공동연구를 활성화하게 될 것이다.

제 7 장  
참고문헌

Chapter 7  
References



- 환경부 (2007) 남극특별보호구역 지정을 위한 기초조사연구, 환경부, 과천.
- 환경부 (2013) 남극특별보호구역 관리 및 모니터링에 관한 연구, 환경부, 세종
- Aguirre A (1995) Distribution and abundance of birds at Potter Peninsula, 25 de Mayo (King George) Island, South Shetland Islands, Antarctica. *Mar. Ornithol.* 23: 23-31.
- Alvarez-Rodriguez ML, Belloch C, Villa M, Uruburu F, Larriba G, Coque J-JR (2003) Degradation of vanillic acid and production of guaiacol by microorganisms isolated from cork samples. *FEMS Microbiol. Lett.* 220: 49-55.
- Andrade AMD, Michel RFM, Bremer UF, Schaefer CEGR, Simoes JC (2018) Relationship between solar radiation and surface distribution of vegetation in Fildes Peninsula and Ardley Island, Maritime Antarctica. *Int. J. Remote Sens.* 39: 2238-2254.
- Auch AF, von Jan M, Klenk HP, Göker M (2010) Digital DNA-DNA hybridization for microbial species delineation by means of genome-to-genome sequence comparison. *Stand. Genomic Sci.* 2: 117-134.
- Aziz RK, Bartels D, Best AA, Dejongh M, Disz T, Edwards RA, et al. (2008) The RAST Server: rapid annotations using subsystems technology. *BMC Genomics* 9: 75.
- Badis A, Ferradji FZ, Boucherit A, Fodil D, Boutoumi H (2009) Characterization and biodegradation of soil humic acids and preliminary identification of decolorizing actinomycetes at Mitidja plain soils (Algeria). *Afr. J. Microbiol. Res.* 3: 997-1007.
- Baldrige A, Hook SJ, Grove CI, Rivera G (2009) The ASTER spectral library version 2.0. *Remote Sens. Environ.* 113: 711-715.
- Bankevich A, Nurk S, Antipov D, Gurevich AA, Dvorkin M, Kulikov AS, et al. (2012) SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J. Comput. Biol.* 19: 455-477.
- Barták M, Hájek J, Očenášová P (2012) Photoinhibition of photosynthesis in Antarctic lichen *Usnea antarctica*. I. Light intensity- and light duration-dependent changes in functioning of photosystem II. *Czech Polar Rep.* 2: 42-51.
- Bates ST, Cropsey GWG, Caporaso JG, Knight R, Fierer N (2011) Bacterial communities associated with the lichen symbiosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 277: 1309-1314.
- Bewley JD (1979) Physiological aspects of desiccation tolerance. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 30: 195-238.
- Biasi C, Rusalimova O, Meyer H, Kaiser C, Wanek W, Barsukov P, et al. (2005)

- Temperature-dependent shift from labile to recalcitrant carbon sources of arctic heterotrophs. *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 19: 1401-1408.
- Blanco JO, Costa ES, De Arujo J, Durigon E, Alves MAS (2009) Kelp gulls, *Larus dominicanus* (Aves: Laridae), breeding in Keller Peninsula, King George Island, Antarctic Peninsula. *Zoologia (Curitiba)* 26: 562-566.
- Bolger AM, Lohse M, Usadel B (2014) Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. *Bioinformatics* 30: 2114-2120.
- Boy J, Godoy R, Shibistova O, Boy D, McCulloch R, Andriano de la Fuente A, et al. (2016) Successional patterns along soil development gradients formed by glacier retreat in the Maritime Antarctic, King George Island. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 89: 6.
- Bradley JA, Singarayer JS, Anesio AM (2014) Microbial community dynamics in the forefield of glaciers. *Proc. Biol. Sci.* 281: 20140882.
- Brown CT, Olm MR, Thomas BC, Banfield JF (2016) Measurement of bacterial replication rates in microbial communities. *Nat. Biotechnol.* 34: 1256-1263.
- Buchfink B, Xie C, Huson DH (2015) Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. *Nat. Methods* 12: 59-60.
- Büdel B, Scheidegger C (1996) Thallus morphology and anatomy. In *Lichen Biology*. Edited by Nash TH. pp. 37-64. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bugg TD, Ahmad M, Hardiman EM, Rahmanpour R (2011) Pathways for degradation of lignin in bacteria and fungi. *Nat. Prod. Rep.* 28: 1883-1896.
- Bugg TD, Rahmanpour R (2015) Enzymatic conversion of lignin into renewable chemicals. *Curr. Opin. Chem. Biol.* 29: 10-17.
- Calvino-Cancela M, Martin-Herrero J (2016) Spectral discrimination of vegetation classes in ice-free areas of Antarctica. *Remote Sens. (Basel)* 8: 856.
- Cardinale M, Grube M, Castro JV, Müller H, Berg G (2012) Bacterial taxa associated with the lung lichen *Lobaria pulmonaria* are differentially shaped by geography and habitat. *FEMS Microbiol. Lett.* 329: 111-115.
- Cardinale M, Puglia AM, Grube M (2006) Molecular analysis of lichen associated bacterial communities. *FEMS Microbiol. Lett.* 57: 484-495.
- Casanova-Katny A, Torres-Mellado GA, Eppley SM (2016) Reproductive output of mosses under experimental warming on Fildes Peninsula, King George Island, maritime Antarctica. *Rev. Chil. Hist. Nat.* 89: 13.
- Chang SK (1997) Characteristics of land surface in the vicinity of King Sejong Station, Korean Antarctic Research Station. *J. Korean Earth Sci. Soc.* 18: 443-449.

- Chang, C-I (1999) Spectral information divergence for hyperspectral image analysis. In proceedings of IEEE 1999 international geoscience and remote sensing symposium. IGARSS'99 (Cat. No. 99CH36293). pp. 509-511. IEEE, Hamburg.
- Chio IW, Park YJ, Seo DC, Kang SW, Jeon WT, Kang UG, et al. (2011) Physico-chemical characteristics of soil in the vicinity of King Sejong Station, King George Island, Antarctica. *Hanguk Toyang Piryong Hakhoe Chi.* 44: 709-716.
- Cho SM, Lee H, Hong SG, Lee J (2020) Study of ecophysiological responses of the antarctic fruticose lichen *Cladonia borealis* using the PAM fluorescence system under natural and laboratory conditions. *Plants (Basel)* 9: 85
- Choi SH (2015) Influence of microenvironment on the spatial distribution of *Himantormia lugubris* (Parmeliaceae). MS Thesis. Gangneung-Wonju National University, Gangneung.
- Choi T, Lee B-Y, Kim S-J, Park Y-M, Yoon YJ (2006) The characteristics of radiation, temperature, and wind direction around King Sejong Station, Antarctica. *J. Korean Earth Sci. Soc.* 9: 397-408.
- Christie P (1987) Nitrogen in two contrasting Antarctic bryophyte communities. *J. Ecol.* 75: 73-93.
- Chung HS, Lee BY, Chang SK, Kim J, Kim YD (2004) Ice cliff retreat and sea-ice formation observed around King Sejong Station in King George Island, West Antarctica. *Ocean Polar Res.* 26: 1-10.
- Clark RN, Swayze GA, Gallagher AJ, King TVV, Calvin WM (1993) The U. S. Geological Survey, Digital Spectral Library: Version 1 (0.2 to 3.0um). Geological Survey (U.S.)
- Cline LC, Zak DR (2015) Soil microbial communities are shaped by plant-driven changes in resource availability during secondary succession. *Ecology* 96: 3374-3385.
- Cofaigh CO, Davies BJ, Livingstone SJ, Smith JA, Johnson JS, Hocking EP, et al. (2014) Reconstruction of ice-sheet changes in the Antarctic Peninsula since the Last Glacial Maximum. *Quat. Sci. Rev.* 100: 87-110.
- Cook AJ, Fox AJ, Vaughan DG, Ferrigno JG (2005) Retreating glacier fronts on the Antarctic Peninsula over the past half-century. *Science* 308: 541-544.
- Craig H (1961) Isotopic variations in meteoric water. *Science* 133: 1702-1703.
- Davidson EA, Janssens IA (2006) Temperature sensitivity of soil carbon decomposition and feedbacks to climate change. *Nature* 440: 165-173.
- De Bary A (1879) *Die erscheinung der symbiose.* Verlag von Karl J. Trübner,

- Strassburg.
- De Vries FT, Liiri ME, Bjørnlund L, Bowker MA, Christensen S, Setälä HM, et al. (2012) Land use alters the resistance and resilience of soil food webs to drought. *Nat. Clim. Chang.* 2: 276–280.
- Demmig-Adams B, Máguas C, Adams WW, Meyer A, Kilian E, Lange OL (1990) Effect of high light on the efficiency of photochemical energy conversion in a variety of lichen species with green and blue-green phycobionts. *Planta* 180: 400–409.
- Dennis PG, Newsham KK, Rushton SP, Ord VJ, O'Donnell AG, Hopkins DW (2013) Warming constrains bacterial community responses to nutrient inputs in a southern, but not northern, maritime Antarctic soil. *Soil Biol. Biochem.* 57: 248–255.
- Ehleringer J (1981) Leaf absorptances of Mohave and Sonoran desert plants. *Oecologia* 49: 366–370.
- Esham EC, Ye W, Moran MA (2000) Identification and characterization of humic substances-degrading bacterial isolates from an estuarine environment. *FEMS Microbiol. Ecol.* 34: 103–111.
- ESRI (2011) ArcGIS Desktop: Release 10. Environmental Systems Research Institute, Redlands.
- Fernandes A, Mazzei J, Oliveira C, Evangelista H, Marques M, Ferraz E, et al. (2017) Protection against UV-induced toxicity and lack of mutagenicity of Antarctic *Sanionia uncinata*. *Toxicology* 376: 126–136.
- Fierer N, Craine JM, McLauchlan K, Schimel JP (2005) Litter quality and the temperature sensitivity of decomposition. *Ecology* 86: 320–326.
- Foryer C, Noctor G (2000) Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. *New Phytol.* 146: 359–388.
- Fox AJ, Cooper APR (1998) Climate-change indicators from archival aerial photography of the Antarctic Peninsula. *Ann. Glaciol.* 27: 636–642.
- Francelino MR, Schaefer CEGR, Simas FNB, Fernandes FEJ, Souza JJLL, Costa LM (2011) Geomorphology and soils distribution under paraglacial conditions in an ice-free area of Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. *Catena (Amst)* 85: 194–204.
- Fretwell PT, Convey P, Fleming AH, Peat HJ, Hughes KA (2011) Detecting and mapping vegetation distribution on the Antarctic Peninsula from remote sensing data. *Polar Biol.* 34: 273–281.
- García-Borboroglu P, Yorio P (2004) Effects of microhabitat preferences on kelp gull *Larus dominicanus* breeding performance. *J. Avian Biol.* 35: 162–169.

- Gauslaa Y (2014) Rain, dew, and humid air as drivers of morphology, function and spatial distribution in epiphytic lichens. *Lichenologist* (Lond.) 46: 1-16.
- Gauslaa Y, Solhaug K (2004) Photoinhibition in lichens depends on cortical characteristics and hydration. *Lichenologist* (Lond.) 36: 133-143.
- Genty B, Briantais J-M, Baker NR (1989) The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence. *Biochim. Biophys. Acta. Gen. Subj.* 990: 87-92.
- Giardina CP, Litton CM, Crow SE, Asner GP (2014) Warming-related increases in soil CO<sub>2</sub> efflux are explained by increased below-ground carbon flux. *Nat. Clim. Chang.* 4: 822-827.
- Giordani P, Incerti G (2008) The influence of climate on the distribution of lichens: a case study in a borderline area (Liguria, NW Italy). *Plant Ecol.* 195: 257-272.
- Graham ED, Heidelberg JF, Tully BJ (2017) BinSanity: unsupervised clustering of environmental microbial assemblies using coverage and affinity propagation. *PeerJ* 5: e3035.
- Gramss G, Ziegenhagen D, Sorge S (1999) Degradation of soil humic extract by wood- and soil-associated fungi, bacteria, and commercial enzymes. *Microb. Ecol.* 37: 140-151.
- Grinhut T, Hadar Y, Chen Y (2007) Degradation and transformation of humic substances by saprotrophic fungi: processes and mechanisms. *Fungal. Biol. Rev.* 21: 179-189.
- Grinhut T, Hertkorn N, Schmitt-Kopplin P, Hadar Y, Chen Y (2011) Mechanisms of humic acids degradation by white rot fungi explored using 1H NMR spectroscopy and FTICR mass spectrometry. *Environ. Sci. Technol.* 45: 2748-2754.
- Grube M, Berg G (2009) Microbial consortia of bacteria and fungi with focus on the lichen symbiosis. *Fungal Biol. Rev.* 23: 72-85.
- Guschina IA, Harwood JL, Smith M, Beckett RP (2002) Abscisic acid modifies the changes in lipids brought about by water stress in the moss *Atrichum androgynum*. *New Phytol.* 156: 255-264.
- Han J, Jung J, Hyun S, Park H, Park W (2012) Effects of nutritional input and diesel contamination on soil enzyme activities and microbial communities in Antarctic soils. *J. Microbiol.* 50: 916-924.
- Han Y, Lee J, Ham JY, Na US (2015) A study of stable isotopic variations of Antarctic snow by albedo differences. *Ocean Polar Res.* 37: 141-147.
- Hardy RW, Holsten R, Jackson E, Burns R (1968) The acetylene-ethylene assay for

- N<sub>2</sub> fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiol.* 43: 1185–1207.
- Harrison P (2003) *Seabirds of the world: a photographic guide*, Princeton University Press, Princeton.
- Heber, U (2008) Photoprotection of green plants: a mechanism of ultra-fast thermal energy dissipation in desiccated lichens. *Planta* 228: 641–650.
- Heber U, Lange OL, Shuvalov VA (2006) Conservation and dissipation of light energy as complementary processes: homoiohydric and poikilohydric autotrophs. *J. Exp. Bot.* 57: 1211–1223.
- Hill PW, Farrar J, Roberts P, Farrell M, Grant H, Newsham KK, et al. (2011) Vascular plant success in a warming Antarctic may be due to efficient nitrogen acquisition. *Nat. Clim. Chang.* 1: 50–53.
- Hodkinson BP, Gottel NR, Schadt CW, Lutzoni F (2012) Photoautotrophic symbiont and geography are major factors affecting highly structured and diverse bacterial communities in the lichen microbiome. *Environ. Microbiol.* 14: 147–161.
- Hodkinson BP, Lutzoni FA (2009) Microbiotic survey of lichen-associated bacteria reveals a new lineage from the *Rhizobiales*. *Symbiosis* 49: 163–180.
- Hunt ER, Hively WD, Fujikawa SJ, Linden DS, Daughtry CS, McCarty GW (2010) Acquisition of NIR-green-blue digital photographs from unmanned aircraft for crop monitoring. *Remote Sens. (Basel)* 2: 290–305.
- Huson DH, Beier S, Flade I, Gorska A, El-Hadidi M, Mitra S, et al. (2016) MEGAN community edition – interactive exploration and analysis of large-scale microbiome sequencing data. *PLoS Comput. Biol.* 12: e1004957.
- Hwang K (2019) Metabarcoding study of Antarctic bryosymbiotic fungi using a novel bioinformatic pipeline. Doctoral Thesis, University of Science and Technology, Daejeon.
- Hwang K, Oh J, Kim T-K, Kim BK, Yu DS, Hou BK, et al. (2013) CLUSTOM: a novel method for clustering 16S rRNA next generation sequences by overlap minimization. *PLoS ONE* 8: e62623.
- Inoue T, Kudoh S, Uchida M, Tanabe Y, Inoue M, Kanda H (2104) Effects of substrate differences on water availability for Arctic lichens during the snow-free summers in the High Arctic glacier foreland. *Polar Sci.* 8: 397–412.
- Janssen P, Fuhr M, Bouget C (2019) Beyond forest habitat qualities: climate and tree characteristics as the major drivers of epiphytic macrolichen assemblages in temperate mountains. *J. Veg. Sci.* 30: 42–54.
- Jiang D-F, Wang H-Y, Si H-L, Zhao L, Liu C-P, Zhang H (2017) Isolation and culture of lichen bacteriobionts. *Lichenologist (Lond.)* 49: 175–181.

- Jung J, Yeom J, Kim J, Han J, Lim HS, Park H, et al. (2011) Change in gene abundance in the nitrogen biogeochemical cycle with temperature and nitrogen addition in Antarctic soils. *Res. Microbiol.* 162: 1018-1026
- Jung YY, Koh DC, Lee J, Ko KS (2013) Applications of isotope ratio infrared spectroscopy (IRIS) to analysis of stable isotopic compositions of liquid water, *Econ. Environ. Geol.* 46: 495-508.
- Kamimura N, Takahashi K, Mori K, Araki T, Fujita M, Higuchi Y, et al. (2017) Bacterial catabolism of lignin-derived aromatics: New findings in a recent decade: update on bacterial lignin catabolism. *Environ. Microbiol. Rep.* 9: 679-705.
- Kandeler E, Gerber H (1988) Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium. *Biol. Fertil. Soils* 6: 68-72.
- Kappen L (1988) Ecophysiological relationships in different climatic regions. In handbook of Lichenology. vol 2. Edited by Galun M. pp. 37-100. CRC Press, Boca Raton.
- Kappen L, Schroeter B (1997) Activity of lichens under the influence of snow and ice. In proceedings of the NIPR symposium. *Polar Biol.* 10: 163-168.
- Kennicutt II MC, Chown SL, Cassano JJ, Liggett D, Massom R, Peck LS, et al. (2014) Polar research: Six priorities for Antarctic science. *Nature* 512: 23-25.
- Kerstens K, De Vos P, Gillis M, Swings J, Vandamme P, Stackebrandt E (2006) Introduction to the Proteobacteria. In the Prokaryotes : a handbook on the biology of bacteria. 5 : Proteobacteria : alpha and beta subclasses. Edited by Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K-H, Stackebrandt E. pp. 3-37. Springer, New York.
- Khalili F, Al-Banna G (2015) Adsorption of uranium(VI) and thorium(IV) by insolubilized humic acid from Ajloun soil - Jordan. *J. Environ. Radioact.* 146: 16-26.
- Khim B-K, Park B-K, Yoon HI (1997) Oxygen isotopic compositions of seawater in the Maxwell Bay of King George Island, west Antarctica. *Geosciences Journal* 1: 115.
- Kim D, Park HJ, Kim JH, Youn UJ, Yang YH, Casanova-Katny A, et al. (2018a) Passive warming effect on soil microbial community and humic substance degradation in maritime Antarctic region. *J. Basic Microbiol.* 58: 513-522.
- Kim D, Park HJ, Sul WJ, Park H (2018b) Transcriptome analysis of *Pseudomonas sp.* from subarctic tundra soil: pathway description and gene discovery for humic acids degradation. *Folia Microbiol. (Praha)* 63: 315-323.

- Kim I, Kim G, Choy EJ (2015) The significant inputs of trace elements and rare earth elements from melting glaciers in Antarctic coastal waters. *Polar Res.* 34: 24289.
- Kim JH, Ahn I-Y, Lee KS, Chung H, Choi H-G (2007) Vegetation of Barton Peninsula in the neighbourhood of King Sejong Station (King George Island, maritime Antarctic). *Polar Biol.* 30: 903-916.
- Kim M, Lim HS, Hyun CU, Cho A, Noh HJ, Hong SG, et al. (2019) Local-scale variation of soil bacterial communities in ice-free regions of maritime Antarctica. *Soil Biol. Biochem.* 133: 165-173
- Kim OS, Cho YJ, Lee K, Yoon SH, Kim M, Na H, et al. (2012) Introducing EzTaxon-e: a prokaryotic 16S rRNA gene sequence database with phylotypes that represent uncultured species. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 62: 716-721.
- Kim SC, Kim JS, Hong BR, Hong SG, Kim JH, Lee KS (2016) Assembly processes of moss and lichen community with snow melting at the coastal region of the Barton Peninsula, maritime Antarctic. *J. Ecol. Environ.* 40: 8.
- Kim JH, Ahn I.-Y, Hong SG, Andreev M, Lim K-M, Oh MJ, et al. (2006) Lichen flora around the Korean Antarctic Scientific Station, King George Island, Antarctic. *J. Microbiol.* 44: 480-491.
- Kim, SC (2016) Vegetation distribution pattern on Barton Peninsula of King George Island, Antarctica. Doctoral Thesis, Gangneung-Wonju National University.
- Komura M, Yamagishi A, Shibata Y, Iwasaki I, Itoh S (2010) Mechanism of strong quenching of photosystem II chlorophyll fluorescence under drought stress in a lichen, *Physciella melanchla*, studied by subpicosecond fluorescence spectroscopy. *Biochim. Biophys. Acta.* 1797: 331-338.
- Kooten O, Snel JF (1990) The use of chlorophyll fluorescence nomenclature in plant stress physiology. *Photosyn. Res.* 25: 147-150.
- Kovacs N (1956) Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *Nature* 178: 703.
- Kramer DM, Johnson G, Kiirats O, Edwards GE (2004) New fluorescence parameters for the determination of Q A redox state and excitation energy fluxes. *Photosyn. Res.* 79: 209.
- Kranner I, Beckett R, Hochman A, Nash TH (2008) Desiccation-tolerance in lichens: a review. *Bryologist* 111: 576-593.
- Krause GH, Vernotte C, Briantais J-M (1982) Photoinduced quenching of chlorophyll fluorescence in intact chloroplasts and algae. Resolution into two components. *Biochim. Biophys. Acta. Bioenerg.* 679: 116-124.

- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K (2018) MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35: 1547–1549.
- Kwon TY, Lee BY (2002) Precipitation anomalies around King Sejong Station, Antarctica associated with ElNiño/southern oscillation. *Ocean Polar Res.* 24: 19–31.
- Lane D (1991) 16S/23S rRNA sequencing. In nucleic acid techniques in bacterial systematics. Edited by Stackebrandt E and Goodfellow M. pp. 115–175. John Wiley & Sons, New York.
- Lange OL, Green TA (1996) High thallus water content severely limits photosynthetic carbon gain of central European epilithic lichens under natural conditions. *Oecologia* 108: 13–20.
- Lebedeva EV, Alawi M, Fiencke C, Namsaraev B, Bock E, Spieck E (2005) Moderately thermophilic nitrifying bacteria from a hot spring of the Baikal rift zone. *FEMS Microbiol. Ecol.* 54: 297–306.
- Lee DR, Cherry JA (1979) A field exercise on groundwater flow using seepage meters and mini-piezometers. *Journal of Geological Education* 27: 6–10.
- Lee JR, Raymond B, Bracegirdle TJ, Chadès I, Fuller RA, Shaw JD, et al. (2017) Climate change drives expansion of Antarctic ice-free habitat. *Nature* 547: 49.
- Lee SH, Jang I, Chae N, Choi T, Kang H (2013) Organic layer serves as a hotspot of microbial activity and abundance in Arctic tundra soils. *Microb. Ecol.* 65: 405–414.
- Lee WY, Kim H-C, Han Y-D, Hyu C-U, Park S, Jung J-W, et al. (2017) Breeding records of kelp gulls in areas newly exposed by glacier retreat on King George Island, Antarctica. *J. Ethol.* 35: 131–135.
- Lee YI, Lim HS, Yoon HI (2004) Geochemistry of soils of King George Island, South Shetland Islands, West Antarctica: implications for pedogenesis in cold polar regions. *Geochim. Cosmochim. Acta.* 68: 4319–4333.
- Lee YM, Kim EH, Lee HK, Hong SG (2014) Biodiversity and physiological characteristics of Antarctic and Arctic lichens-associated bacteria. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 30: 2711–2721.
- Lee JS, Lee HK, Hur J-S, Andreev M, Hong SG (2008) Diversity of the lichenized fungi in King George Island, Antarctica, revealed by phylogenetic analysis of partial large subunit rDNA sequences. *J Microbiol. Biotechnol.* 18: 1016–1023.
- Lehmann J, Kleber M (2015) The contentious nature of soil organic matter. *Nature* 528: 60–68.

- Levin N, Ben-Dor E, Singer A (2005) A digital camera as a tool to measure colour indices and related properties of sandy soils in semi-arid environments. *Int. J. Remote Sens.* 26: 5475-5492.
- Lewis Smith RI, Gimingham CH (1976) Classification of cryptogamic communities in the maritime Antarctic. *Antarct. Sci.* 43: 25-47.
- Lewis Smith RI (1972) Vegetation of the South Orkney Islands with particular reference to Signy Island. *British Antarctic survey scientific reports* 68: 124.
- Liba CM, Ferrara FI, Manfio GP, Fantinatti-Garbozzini F, Albuquerque RC, Pavan C, et al. (2006) Nitrogen-fixing chemo-organotrophic bacteria isolated from cyanobacteria-deprived lichens and their ability to solubilize phosphate and to release amino acids and phytohormones. *J. Appl. Microbiol.* 101: 1076-1086.
- Lindsay DC (1971) Vegetation of the South Shetland Islands. *Antarct. Sci.* 25: 59-83.
- Lipczynska-Kochany E (2018) Humic substances, their microbial interactions and effects on biological transformations of organic pollutants in water and soil: A review. *Chemosphere* 202: 420-437.
- Liski J, Ilvesniemi H, Mäkelä A, Westman CJ (1999) CO<sub>2</sub> emissions from soil in response to climatic warming are overestimated: the decomposition of old soil organic matter is tolerant of temperature. *Ambio* 28: 171-174.
- Longton RE (1967) Vegetation in the maritime Antarctic. *Philos. Trans. R. Soc. Lond., B, Biol. Sci.* 252: 213-235.
- Lücking R, Hodkinson BP, Leavitt SD (2017) The 2016 classification of lichenized fungi in the Ascomycota and Basidiomycota - Approaching one thousand genera. *Bryologist* 119: 361-417.
- Lud D, Moerdijk T, Van de Poll W, Buma A, Huiskes A (2002) DNA damage and photosynthesis in Antarctic and Arctic *Sanionia uncinata* (Hedw.) Loeske under ambient and enhanced levels of UV B radiation. *Plant Cell Environ.* 25: 1579-1589.
- Lumpe P, Weidinger K (2000) Distribution, numbers and breeding of birds at the northern ice-free areas of Nelson Island, South Shetland Islands, Antarctica, 1990-1992. *Mar. Ornithol.* 28: 41-46.
- MacKenzie TD, Król M, Huner NP, Campbell DA (2002) Seasonal changes in chlorophyll fluorescence quenching and the induction and capacity of the photoprotective xanthophyll cycle in *Lobaria pulmonaria*. *Can. J. Bot.* 80: 255-261.
- Margesin R, Jud M, Tschirko D, Schinner F (2009) Microbial communities and activities in alpine and subalpine soils. *FEMS Microbiol. Ecol.* 67: 208-218.
- Masai E, Katayama Y, Fukuda M (2007) Genetic and biochemical investigations on

- bacterial catabolic pathways for lignin-derived aromatic compounds. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 71: 1-15.
- Matthews JA (1992) The ecology of recently-deglaciated terrain: a geoecological approach to glacier forelands. Cambridge University Press, Cambridge.
- Maxwell K, Johnson GN (2000) Chlorophyll fluorescence - a practical guide. *J. Exp. Bot.* 51: 659-668.
- Michel RFM, Schaefer CEGR, Dias LE, Simas FNB, Benites VM, Sa Mendonca E (2006) Ornithogenic gelsols (cryosols) from maritime Antarctica: pedogenesis, vegetation and carbon studies. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 70: 1370-1376.
- Mikan CJ, Schimel JP, Doyle AP (2002) Temperature controls of microbial respiration in arctic tundra soils above and below freezing. *Soil Biol. Biochem.* 34: 1785-1795.
- Minardi B, Voyten A, Santos M, Randi Á (2014) Water stress and abscisic acid treatments induce the CAM pathway in the epiphytic fern *Vittaria lineata* (L.) Smith. *Photosynthetica* 52: 404-412.
- Miranda KM, Espey MG, Wink DA (2001) A rapid, simple spectrophotometric method for simultaneous detection of nitrate and nitrite. *Nitric Oxide.* 5: 62-71.
- Moning C, Werth S, Dziock F, Bässler C, Bradtka J, Hothorn T, et al. (2009) Lichen diversity in temperate montane forests is influenced by forest structure more than climate. *For. Ecol. Manage.* 258: 745-751.
- Moriya Y, Itoh M, Okuda S, Kanehisa M (2005) KAAS: KEGG automatic annotation server. *Genome Inform.* 5:
- Mulvaney R, Abram NJ, Hindmarsh RC, Arrowsmith C, Fleet L, Triest J, et al. (2012) Recent Antarctic Peninsula warming relative to Holocene climate and ice-shelf history. *Nature* 489: 141.
- Nakatsubo T (2002) Predicting the impact of climatic warming on the carbon balance of the moss *Sanionia uncinata* on a maritime Antarctic island. *J. Plant Res.* 115: 0099-0106.
- Nash TH (2008) Lichen biology. Cambridge University Press, Cambridge.
- Newsham KK, Hopkins DW, Carvalhais LC, Fretwell PT, Rushton SP, O'Donnell AG, et al. (2016) Relationship between soil fungal diversity and temperature in the maritime Antarctic. *Nat. Clim. Chang.* 6: 182-186.
- Ochyra R, Lewis S, Bednarek-Ochyra H (2008) The illustrated moss flora of Antarctica. Cambridge University Press, Cambridge.
- Ódor P, Király I, Tinya F, Bortignon F, Nascimbene J (2013) Patterns and drivers of species composition of epiphytic bryophytes and lichens in managed temperate

- forests. *For. Ecol. Manage.* 306: 256–265.
- Oh J, Kim BK, Cho WS, Hong SG, Kim KM (2012) PyroTrimmer: a software with GUI for pre-processing 454 amplicon sequences, *J. Microbiol.* 50: 766–769.
- Olech M (2004) Lichens of King George Island, Antarctica. Institute of Botany of the Jagiellonian University, Kraków.
- Oliva M, Navarro F, Hrbáček F, Hernández A, Nývlt D, Pereira P, et al. (2017) Recent regional climate cooling on the Antarctic Peninsula and associated impacts on the cryosphere. *Sci. Total Environ.* 580: 210–223.
- Osyczka P, Olech M (2005) The lichen genus *Cladonia* of King George Island, South Shetland Islands, Antarctica. *Pol. Polar Res.* 26: 107–123.
- Øvstedal DO, Smith RL (2001) Lichens of Antarctica and South Georgia: a guide to their identification and ecology. Cambridge University Press, Cambridge.
- Pannewitz S, Schlenzog M, Green TA, Sancho LG, Schroeter B (2003) Are lichens active under snow in continental Antarctica? *Oecologia* 135: 30–38.
- Park CH, Kim KM, Kim O-S, Jeong G, Hong SG (2016) Bacterial communities in Antarctic lichens. *Antarct. Sci.* 28: 455–461.
- Park HJ, Chae N, Sul WJ, Lee BY, Lee YK, Kim D (2015) Temporal changes in soil bacterial diversity and humic substances degradation in subarctic tundra soil. *Microb. Ecol.* 69: 668–675.
- Park HJ, Kim D (2015) Isolation and characterization of humic substances-degrading bacteria from the subarctic Alaska grasslands. *J. Basic Microbiol.* 55: 54–61.
- Park M, Kim C, Yang J, Lee H, Shin W, Kim S, et al. (2005) Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiol. Res.* 160: 127–133.
- Park CH, Jeong G, Hong SG (2012) Possible multiple introductions of *Cladonia borealis* to King George Island. *Antarct. Sci.* 24: 359–366.
- Park C.H., Kim KM, Elvebakk A, Kim OS, Jeong G, Hong SG (2015) Algal and fungal diversity in Antarctic lichens. *J. Eukaryot. Microbiol.* 62: 196–205.
- Parks DH, Imelfort M, Skennerton CT, Hugenholtz P, Tyson GW (2015) CheckM: assessing the quality of microbial genomes recovered from isolates, single cells, and metagenomes. *Genome Res.* 25: 1043–1055.
- Parnikoza I, Dykyy I, Ivanets V, Kozeretska I, Kunakh V, Rozhok A, et al. (2012) Use of *Deschampsia antarctica* for nest building by the kelp gull in the Argentine Islands area (maritime Antarctica) and its possible role in plant dispersal. *Polar Biol.* 35: 1753–1758.
- Parnikoza I, Rozhok A, Convey P, Veselski M, Esefeld J, Ochyra R, et al. (2018)

- Spread of Antarctic vegetation by the kelp gull: comparison of two maritime Antarctic regions. *Polar Biol.* 41: 1143–1155.
- Pennekamp F, Pontarp M, Tabi A, Altermatt F, Alther R, Choffat Y, et al. (2018) Biodiversity increases and decreases ecosystem stability. *Nature* 563: 109–112.
- Platt T, Gallegos C, Harrison WG (1981) Photoinhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *J. Mar. Res.* 38: 103–11.
- Porcar-Castell A, Pfündel E, Korhonen JF, Juurola E (2008) A new monitoring PAM fluorometer (MONI-PAM) to study the short- and long-term acclimation of photosystem II in field conditions. *Photosyn. Res.* 96: 173–179.
- Preira AB, Spielmann AA, Martins MFN, Francelino MR (2007) Plant communities from ice-free areas of Keller Peninsula, King George Island, Antarctica. *Oecol. Bras.* 11: 14–22.
- Printzen C, Fernandez-Mendoza F, Muggia L, Berg G, Grube M (2012) Alphaproteobacterial communities in geographically distant populations of the lichen *Cetraria aculeata*. *FEMS Microbiol. Ecol.* 82: 316–325.
- Pulschen AA, Bendia AG, Fricker AD, Pellizari VH, Galante D, Rodrigues F (2017) Isolation of uncultured bacteria from Antarctica using long incubation periods and low nutritional media. *Front Microbiol.* 8: 1346.
- Putzke J, Athanásio CG, De Albuquerque MP, Victoria FC, Pereira AB (2015) Comparative study of moss diversity in South Shetland Islands and in the Antarctic Peninsula. *Rev. Chil. His. Nat.* 88: 6.
- Quintana RD, Cirelli V, Benitez O (2001) Nest materials of skuas (*Catharacta* spp.) and kelp gulls (*Larus dominicanus*) at Cierva Point, Antarctic Peninsula. *Notornis* 48: 235–241.
- Quintana RD, Travaini A (2000) Characteristics of nest sites of Skuas and Kelp Gull in the Antarctic Peninsula. *J. Field Ornithol.* 71: 236–249.
- Ralph PJ, Gademann R (2005) Rapid light curves: a powerful tool to assess photosynthetic activity. *Aquat. Bot.* 82: 222–237.
- Richter M, Rosselló-Móra R (2009) Shifting the genomic gold standard for the prokaryotic species definition. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 106: 19126–19131.
- Rignot E, Bamber JL, van den Broeke MR, Davis C, Li Y, Van de Berg WJ, et al. (2008) Recent Antarctic ice mass loss from radar interferometry and regional climate modelling. *Nat. Geosci.* 1: 106–110.
- Roberts A, Griffiths H, Borland AM, Reinert F (1996) Is crassulacean acid metabolism activity in sympatric species of hemi-epiphytic stranglers such as *Clusia* related to carbon cycling as a photoprotective process? *Oecologia* 106: 28–38.

- Robinson SA, Wasley J, Tobin AK (2003) Living on the edge - plants and global change in continental and maritime Antarctica. *Glob. Chang. Biol.* 9: 1681-1717.
- Rocker D, Brinkhoff T, Gruner N, Dogs M, Simon M (2012) Composition of humic acid-degrading estuarine and marine bacterial communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 80: 45-63.
- Rosselló-Mora R, Amann R (2001) The species concept for prokaryotes. *FEMS Microbiol. Rev.* 25: 39-67.
- Royles J, Amesbury MJ, Convey P, Griffiths H, Hodgson DA, Leng MJ, et al. (2013) Plants and soil microbes respond to recent warming on the Antarctic Peninsula. *Curr. Biol.* 23: 1702-1706.
- Rückamp M, Braun M, Suckro S, Blindow N (2011) Observed glacial changes on the King George Island ice cap, Antarctica, in the last decade. *Glob. Planet. Change* 79: 99-109.
- Saitou N, Nei M (1987) The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4: 406-425.
- Salvachúa D, Karp EM, Nimlos CT, Vardon DR, Beckham GT (2015) Towards lignin consolidated bioprocessing: simultaneous lignin depolymerization and product generation by bacteria. *Green Chem.* 17: 4951-4967.
- Samecka-Cymerman A, Wojtuń B, Kolon K, Kempers A (2011) *Sanionia uncinata* (Hedw.) loeske as bioindicator of metal pollution in polar regions. *Polar Biol.* 34: 381-388.
- Sancho LG, Pintado A (2004) Evidence of high annual growth rate for lichens in the maritime Antarctic. *Polar Biol.* 27: 312-319.
- Sancho LG, Pintado A, Green T (2019) Antarctic studies show lichens to be excellent biomonitors of climate change. *Diversity* 11: 42.
- Sancho LG, Pintado A, Navarro F, Ramos M, De Pablo MA, Blanquer JM, et al. (2017) Recent warming and cooling in the Antarctic Peninsula region has rapid and large effects on lichen vegetation. *Sci. Rep.* 7: 5689.
- Sander M, Carneiro APB, Mascarello NE, Santos CR, Costa ES, Balbão TC (2006) Distribution and status of the kelp gull, *Larus dominicanus* Lichtenstein (1823), at Admiralty Bay, King George Island, South Shetland, Antarctica. *Polar Biol.* 29: 902-904.
- Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JR, Hartmann M, Hollister EB, et al. (2009) Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 75: 7537-7541.

- Schmidt SK, Nemergut DR, Darcy JL, Lynch R (2014) Do bacterial and fungal communities assemble differently during primary succession? *Mol. Ecol.* 23: 254-258.
- Schreiber U, Schliwa U, Bilger W (1986) Continuous recording of photochemical and non-photochemical chlorophyll fluorescence quenching with a new type of modulation fluorometer. *Photosyn. Res.* 10: 51-62.
- Schultz J, Copley RR, Doerks T, Ponting CP, Bork P (2000) SMART: a web-based tool for the study of genetically mobile domains. *Nucleic Acids Res.* 28: 231-234.
- Schuur EA, McGuire AD, Schädel C, Grosse G, Harden J, Hayes DJ, et al. (2015) Climate change and the permafrost carbon feedback. *Nature* 520: 171-179.
- Seemann T (2014) Prokka: rapid prokaryotic genome annotation, *Bioinformatics.* 30: 2068-2069.
- Selbmann L, Zucconi L, Ruisi S, Grube M, Cardinale M, Onofri S (2010) Culturable bacteria associated with Antarctic lichens: affiliation and psychrotolerance. *Polar Biol.* 33: 71-83.
- Senthil-Kumar M, Hema R, Suryachandra TR, Ramegowda H, Gopalakrishna R, Rama N, et al. (2010) Functional characterization of three water deficit stress-induced genes in tobacco and *Arabidopsis*: an approach based on gene down regulation. *Plant Physiol. Biochem.* 48: 35-44.
- Shin JI, Kim HC, Kim SI, Hong SG (2014) Vegetation abundance on the Barton Peninsula, Antarctica: estimation from high-resolution satellite images. *Polar Biol.* 37: 1579-1588.
- Siegert M, Atkinson A, Banwell A, Brandon M, Convey P, Davies B, et al. (2019) The Antarctic Peninsula under a 1.5°C global warming scenario. *Front Environ. Sci.* 7: 102.
- Solhaug KA, Gauslaa Y, Nybakken L, Bilger W (2003) UV-induction of sun-screening pigments in lichens. *New Phytol.* 158: 91-100.
- Stanier RY, Palleroni NJ, Doudoroff M (1966) The aerobic pseudomonad: a taxonomic study. *J. Gen. Microbiol.* 43: 157-271.
- Stanton DE, Merlin M, Bryant G, Ball MC (2014) Water redistribution determines photosynthetic responses to warming and drying in two polar mosses. *Funct. Plant Biol.* 41: 178-186.
- Stenroos S (1993) Taxonomy and distribution of the lichen family Cladoniaceae in the Antarctic and peri-Antarctic regions. *Cryptogam. Bot.* 3: 310-344.
- Stevenson FJ (1982) Humus chemistry: genesis, composition, reactions. Wiley, New

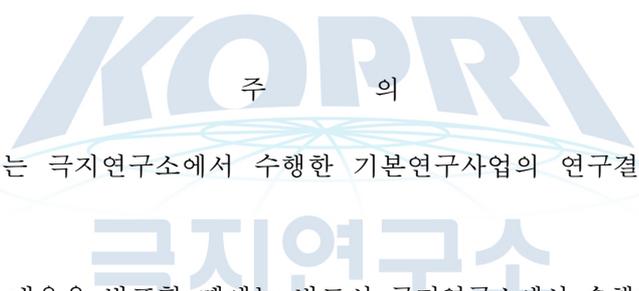
York.

- Suarez N, Pozzi L, Yorio P (2010) Nest site selection of the Kelp gull (*Larus dominicanus*) in the Beagle Channel, Tierra del Fuego, Argentina. *Polar Biol.* 33: 215–221.
- Tatusov RL, Galperin MY, Natale DA, Koonin EV (2000) The COG database: a tool for genome-scale analysis of protein functions and evolution. *Nucleic Acids Res.* 28: 33–36.
- Trathan PN, Wienecke B, Barbraud C, Jenouvrier S, Kooyman G, Bohec CL, et al. (2020) The emperor penguin – Vulnerable to projected rates of warming and sea ice loss. *Biol. Conserv.* 241: 108216.
- Turner D, Lucieer A, Malenovsky Z, King D, Robinson SA (2018) Assessment of Antarctic moss health from multi-sensor UAS imagery with random forest modelling. *Int. J. Appl. Earth Obs. Geoinf.* 68: 168–179.
- Tyystjärvi E (2013) Photoinhibition of photosystem II. In international review of cell and molecular biology. vol 300. pp. 243–303. Elsevier, Oxford
- Ueno A, Shimizu S, Tamamura S, Okuyama H, Naganuma T, Kaneko K (2016) Anaerobic decomposition of humic substances by *Clostridium* from the deep subsurface. *Sci. Rep.* 6: 18990.
- Vaughan DG, Marshall GJ, Connolley WM, Parkinson C, Mulvaney R, Hodgson DA, et al. (2003) Recent rapid regional climate warming on the Antarctic Peninsula. *Clim. Change* 60: 243–274.
- Veerman J, Vasil'ev S, Paton GD, Ramanauskas J, Bruce D (2007) Photoprotection in the lichen *Parmelia sulcata*: the origins of desiccation-induced fluorescence quenching. *Plant Physiol.* 145: 997–1005.
- Vieira G, Mora C, Pina P, Schaefer CER (2014) A proxy for snow cover and winter ground surface cooling: Mapping *Usnea* sp. communities using high resolution remote sensing imagery (Maritime Antarctica). *Geomorphology (Amst)* 225: 69–75.
- Vishniac H (1993) The microbiology of Antarctic soils. In *Antarctic microbiology*. Edited by Friedmann EI. pp. 297–341. Wiley-Liss, New York.
- Walker TW, Janssens IA, Weedon JT, Sigurdsson BD, Richter A, Peñuelas J, et al. (2020) A systemic overreaction to years versus decades of warming in a subarctic grassland ecosystem. *Nat. Ecol. Evol.* 4: 101–108.
- Wang H-Z, Zhang L-H, Jun M, Li X-Y, Yan L, Zhang R-P, et al. (2010) Effects of water stress on reactive oxygen species generation and protection system in rice during grain-filling stage. *Agric. Sci. China.* 9: 633–641.

- Werth S, Tømmervik H, Elvebakk A (2005) Epiphytic macrolichen communities along regional gradients in northern Norway. *J. Veg. Sci.* 16: 199–208.
- Westoby MJ, Brasington J, Glasser NF, Hambrey MJ, Reynolds JM (2012) ‘Structure-from-Motion’ photogrammetry: A low-cost, effective tool for geoscience applications. *Geomorphology (Amst)* 179: 300–314.
- White T, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Edited by Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ, White TJ. pp. 315–322. Academic Press, San Diego.
- Wu M, Song M, Liu M, Jiang C, Li Z (2016) Fungicidal activities of soil humic/fulvic acids as related to their chemical structures in greenhouse vegetable fields with cultivation chronosequence. *Sci. Rep.* 6: 32858.
- Yang JS (1990) Nutrients, chlorophyll-a and primary productivity in Maxwell Bay, King George Island, Antarctica. *Korean J. Polar Res.* 1: 11–18.
- Yergeau E, Bokhorst S, Huiskes AH, Boschker HT, Aerts R, Kowalchuk GA (2007) Size and structure of bacterial, fungal and nematode communities along an Antarctic environmental gradient. *FEMS Microbiol. Ecol.* 59: 436–451.
- Yergeau E, Kang S, He Z, Zhou J, Kowalchuk GA (2007) Functional microarray analysis of nitrogen and carbon cycling genes across an Antarctic latitudinal transect. *ISME J.* 1: 163–179.
- Yoon SH, Ha SM, Kwon S, Lim J, Kim Y, Seo H, et al. (2017) Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 67: 1613.
- Yoon SH, Ha SM, Lim J, Kwon S, Chun J (2017) A large-scale evaluation of algorithms to calculate average nucleotide identity. *Antonie Van Leeuwenhoek* 110: 1281–1286.
- Yu NH, Kim JA, Jeong M-H, Cheong YH, Hong SG, Jung JS, et al. (2014) Diversity of endophytic fungi associated with bryophyte in the maritime Antarctic (King George Island). *Polar Biol.* 37: 27–36.
- Yuhas RH, Goetz AF, Boardman JW (1992) Discrimination among semi-arid landscape endmembers using the spectral angle mapper (SAM) algorithm. In *proceedings of annual JPL Airborne Geoscience Workshop*. pp. 147–149. United States, Pasadena.
- Zúñiga-González P, Zúñiga GE, Pizarro M, Casanova-Katny A (2016) Soluble carbohydrate content variation in *Sanionia uncinata* and *Polytrichastrum alpinum*, two Antarctic mosses with contrasting desiccation capacities. *Biol. Res.* 49: 6.

## 뒷 면

(국내 과제용)

- 
- 주 의
1. 이 보고서는 극지연구소에서 수행한 기본연구사업의 연구결과보고서입니다.
  2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 극지연구소에서 수행한 기본연구사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
  3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안 됩니다.