TSPE16020-008-12

남극 킹조지섬 주변 미세조류의 다양성과 계통연구

Microalgal diversity and systematics from King George Island, Antarctica

KOPRI
극지연구소

2017. 1. 31.

충남대학교

제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “남극 킹조지섬의 생물 다양성과 생태계 변화 연구” 과제의 위탁연구 “남극 킹조지섬 주변 미세조류의 다양성과 계통연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2017. 01. 31.

연 구 책 임 자 : 홍 순 규

참 여 연 구 원 : ○ ○ ○

〃 : ○ ○ ○

〃 : ○ ○ ○

위탁연구기관명 : 충 남 대 학 교

위탁연구책임자 : 신 웅 기

KOPRI 극지연구소

보고서 초록

과제관리번호	PE15020	해당단계 연구기간	2014.01.01 ~ 2016.12.31	단계 구분	(3) / (3)
연구사업명	중 사 업 명	기후변화에 의한 킹조지섬 생태계 변화 예측기반 구축			
	세부사업명				
연구과제명	중 과 제 명				
	세부(단위)과제명	남극 킹조지섬 주변 미세조류의 다양성과 계통연구			
연구책임자	홍순규	해당단계 참여연구원수	총 : 명 내부 : 명 외부 : 명	해당단계 연구비	정부: 천원 기업: 천원 계: 천원
연구기관명 및 소속부서명			참여기업명		
국제공동연구	상대국명 :		상대국연구기관명 :		
위 탁 연 구	연구기관명 : 충남대학교		연구책임자 :	신 웅 기	

요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자이내)	보고서 면수	34

1. 연구 목표
   1) 남극 킹조지섬 주변 미세조류의 분류, 다양성 확보 및 계통학적 연구
   2) 미세조류의 종 다양성 및 유전적 자원 확보
   3) 미세조류 전문 culture collection 확립

2. 연구 방법
   1) 남극 킹조지섬 주변 채집
   2) 담수 및 지의류 공생 조류 단일 세포 분리 배양
   3) 배양 미세조류의 특정 유전자의 염기서열 분석 (특정 분류군)
      ; 핵 ITS1, 5.8S, ITS2 (nr18S rDNA, Actin) 유전자
   4) 미세조류의 형태 분석
      ; 광학 (공초점) 현미경
   5) 공생조류 종 동정 및 계통분석

3. 연구 결과
   1) 남극 킹조지섬 주변에서 채집된 다양한 지의류 채집
   2) 지의류 공생조류 (photobiont)를 단일 세포 분리 배양
   3) 지의류 공생조류 187 배양주 확보
   4) 모든 배양주의 핵 ITS 유전자 염기서열 분석 및 종 동정
   5) Photobiont로 알려진 주요 2속 (*Asterochloris, Trebouxia*)의 종간 계통적 유연관계 추론
   6) *Asterochloris*속의 신종후보 1종의 형태자료 와 분자 계통 분석
   7) 두 photobioint 속의 종 다양성과 신종 가능성 제시

색 인 어 (각 5개 이상)	한 글	미세조류, 남극, 킹 조지섬, 조류분류학, 계통 분석, 생물 다양성, 지의류
	영 어	Microalgae, Antarctica, King George Island, Algal taxonomy, Phylogeney, Biodiversity, Photobiont

KOPRI 극지연구소

요 약 문

Ⅰ. 제 목

; 남극 킹조지섬 주변 미세조류의 다양성과 계통연구

Ⅱ. 연구개발의 목적 및 필요성

- 남극 킹조지섬 주변 미세조류의 분류 및 계통학적 연구
- 미세조류의 종 및 유전적 다양성 확보
- 잠재적 생물자원공급에 용이한 culture collection 확립 (극지연구소와 충남대학교에 분산 배양)

Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

- 남극 킹조지섬 주변 채집
- 담수 및 지의류 공생 조류의 배양
- 배양 미세조류의 유전자의 염기서열 분석 (핵 ITS1, 5.8S, ITS2, (18S rDNA, Actin))
- 미세조류의 형태 분석; 광학 (공초점) 현미경
- 배양주의 동정 및 계통적 유연관계 분석

Ⅳ. 연구개발결과

- 극지연구소 연구원의 도움으로 남극 킹조지섬 주변에서 채집된 지의류 *Cladonia*속과 다양한 속으로 이루어진 표본을 수령
- 채집된 표본에서 지의류 공생 photobiont를 분리 및 187배양체를 확보
- 모든 배양체는 핵 ITS1, 5.8S, ITS2 유전자 염기서열 정보를 획득
- 새로운 분류군으로 추정되는 *Asterochloris*속의 형태학적 자료 확보
- Photobiont로 알려진 주요 2속의 종들 간의 유연관계를 알기위해 계통 분석 추론

Ⅴ. 연구개발결과의 활용계획

- 남극 킹조지섬의 생물다양성 및 유전자원 확보
- 잠재적 생물자원의 확보

KOPRI 극지연구소

S U M M A R Y
(영 문 요 약 문)

I. Title

; **Microalgal diversity and systematics from King George Island, Antarctica**

II. Purpose and Necessity of R&D

- To understand Microalgal taxonomy and phylogenetic relationships from King George Island, Antarctica
- To accumulate species and genetic diversity of microalgae
- To establish culture collection of specialized microalgae from polar region

III. Contents and Extent of R&D

- Collected samples from King George Island, Antarctica
- Cultivated microalgal strains from photobiont of lichen
- Analyzed sequences of molecular marker; nuclear ITS1, 5.8S, ITS2, 18S rDNA and actin gene
- Analyzed morphological data using light and confocal microscopes
- Identified species and analyzed phylogenetic relationships of photobionts

IV. R&D Results

- Sample collection from King George Island, Antarctica
- Microalgal cultivation by single cell isolation from photobiont of lichen ; 89 strains
- Multigene sequence analyses using nuclear ITS1, 5.8S, ITS2, 18S rDNA and actin genes
- Morphological data analyses using of a new species within *Asterochloris*
- Phylogenetic tree construction to understand phylogenetic relationships of species within two photobiont genera *Asterochloris* and *Trebouxia*.

V. Application Plans of R&D Results

- To publish scientific papers from this R&D results
- To understand species and genetic diversity as potential resources

KOPRI 극지연구소

C O N T E N T S

(영 문 목 차)

Chapter 1 Introduction

∗ Describe the purpose, necessity and extent of R&D.

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

∗ Describe where current R&D status and research results on related fields of Korea and other nations are positioned in the current R&D status in Korea and other nations.

Chapter 3 R&D Implementation Contents and Results

∗ Describe the theoretical and experimental access method, research contents and research results.

Chapter 4 Degree of R&D Goal Achievement and Degree of Contribution to Outside Research Institute

∗ Describe the degree of R&D goal achievement and the degree of contribution to the technological development in related fields based on the yearly research goal and the aiming point of evaluation.

Chapter 5 Application Plans of R&D Results

∗ Describe the necessity of additional research, application in other research and plans for commercialization.

∗ The table of contents can be changed according to the nature of project such as research planning project.

Chapter 6 References

∗ List all references cited during the preparation of the report.

KOPRI 극지연구소

목 차

제 1 장 서론
1. 1. 연구의 목적
1. 2. 연구과제의 필요성 및 범위

제 2 장 국내외 기술개발 현황
2. 1. 국내외 연구 현황
2. 2. 기존 연구의 문제점
2. 3. 연구의 창의성

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과
3. 1. 연구방법
3. 2. 연구 수행 결과

제 4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도
4. 1. 연구개발 최종 목표
4. 2. 연구개발 목표 및 달성도
4. 3. 평가의 착안점

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

제 7 장 참고문헌

KOPRI 극지연구소

제 1 장 서론

1.1. 연구의 목적

최근 기후변화 및 생물다양성에 대한 과학적 관심의 증대와 해빙에 따른 접근성 확대로 인해 남극의 경제적·지정학적 가치가 재조명되면서 극지에 대한 선점권 확보나 영향력 확대 경쟁이 가시화되고 있다. 남극의 환경조건은 지구상에서 가장 열악하며, 다른 지역에서 볼 수 없는 독특한 생태계를 가지고 있으므로 이 지역에서 발견되는 많은 다양한 고유생물들이 있다 (Archambault et al. 2010, Laybourn-Parry and Pearce 2007, Paulin et al. 2011). 그러나 최근의 산업화와 지구 온난화 현상 등에 따른 생태계의 파괴로 인한 생물다양성의 손실을 초래하고 있다. 생물다양성은 인류의 삶을 풍요롭게 하기 위한 기초가 되며 동시에 우리가 거주하고 있는 자연생태계의 특성을 나타내주는 고유한 가치를 가지고 있을 뿐만 아니라 생명부양 시스템 (Life-support system)의 근간이다. 따라서 생물다양성의 소실을 막고, 자원으로서의 가치를 도출하기 위해서는 그 지역에 분포하고 있는 생물의 탐색, 발굴이 선결되어야 하며, 생물자원으로서의 보전을 위한 각종 연구, 보존 대책 등이 지속적으로 이루어져야 한다. 그러므로 극지의 생물자원의 확보 및 발굴은 미래의 자원 확보를 위한 중요한 전략이라 할 수 있다.

미세조류를 포함한 원생생물은 생물권에 매우 중요한 위치를 차지하고 있다. 예를 들어, 새로운 서식지에서 첫 적응생물로서, 먹이망 (food web)에서 에너지와 생물량의 기여자로서, 필수 영양물질의 순환인자 (recycling agents)로서, 또는 의학적 및 진화적으로도 중요하다 (Vincent 2000). 본 연구의 주요 대상 미세조류는 광합성 단세포 플랑크톤으로 선정하였다. 광합성 단세포 미세조류는 의학, 생태학, 그리고 진화계통학적으로 매우 흥미로운 분류군이다. 본 계획서는 남극 킹조지섬 주변에 생육하는 고유 생물자원의 발굴을 위한 기초 연구를 수행하고자 기획된 것이다. 킹조지섬 주변에 서식하는 미세조류 (특히, 녹조류)를 분리 배양하여 배양주를 확보하며, 다양한 분자마커 (molecular markers)들을 이용하여 분류, 진화, 그리고 유전적 다양성을 연구 할 것이다. 아울러 생태학적, 또는 계통분류학적으로 중요한 분류군들은 전자현미경을 이용한 미세구조 연구도 수행할 계획이다.

1.2. 연구과제의 중요성

본 연구 과제의 중요성은 첫째, 남극 미세조류의 진화 및 분류학적 연구이다. 남극의 해양 및 육지에 있는 수많은 생태계는 분류학 및 진화 연구에 매우 특별한 값어치가 있다. 남극의 서식지들은 수만년 동안 고유한 환경을 형성하였으며, 외부 생물권으로부터 유전자 흐름 (gene flow) 현상이 거의 없음으로 미세조류 진화 및 분류 연구에 좋은 장소이다. 또한, 미세조류는 수환경이나 공생하는 1차 생산자로 생태계에 중요한 역할을 하며, 진화생물학적으로 불모지임에도 불구하고, 순수 기초학문분야에서 미진하게 연구되었다. 그러므로 분자계통학 및 미세구조 연구에 경험이 있는 전문가의 중요한 연구 주제로 적합할 것으로 사료된다.

둘째, 핵과 색소체의 다유전자 분자자료와 미세구조 자료를 유합하여 미세조류 분류군들의 분류 및 진화 이론을 개발하는 점에서 국제 경쟁력을 갖는 연구 주제라 생각된다. 다양한 분자 마커를 이용한 염기서열 분석은 단일 유전자의 분석에서 나타나는 연구 결과의 오류를

발견하고, 보다 신뢰할 수 있는 분류체계와 생물 진화의 기본 자료를 구축하게 된다. 지금까지 수행된 결과들은 단일 또는 두 개의 유전자를 분석함으로서 결과의 해석이나 결론에 많은 문제점들을 내포하고 있다. 이와 같은 실정에서 분자자료와 미세구조 자료를 상호 비교 분석함으로서 미세조류 분류군들의 다양성, 분류, 계통적 유연관계, 그리고 진화에 대한 이론의 개발 및 규명에 중요한 자료들을 제공할 것이다.

셋째, 본 연구를 통해 극지의 고유 생물자원 확보를 위한 토대를 마련한다. 국제적으로 생물자원의 중요성이 시사되고 있음에도 불구하고 (생물자원 이용 국제지침, Bonn 지침) 극지의 생물자원에 대한 조사 및 관리가 미흡한 실정이다. 본 연구를 통해 극지의 미세조류에 대한 조사 및 분류가 이루어진다는 점에서 매우 중요하다.

KOPRI
극지연구소

제 2 장 국내외 기술개발 현황

2.1. 국내외 연구 현황

극지는 지구온난화의 영향으로 과거 수 십년간 주목을 받아왔다 (Johannessen et al. 1999; Thomas and Dieckmann 2010). 이러한 환경 변화는 극지방에서 이미 일어나고 있으며, 따라서 그 지역에 서식하고 있는 식물플랑크톤의 구성도 변하고 있다 (Tremblay et al. 2008). 극지의 미세조류는 해양빙하가 있는 표층수나 담수에 대부분 존재하며 생장하는데 순응되어 왔다. 미세조류는 지구의 1차 순생산량의 절반을 담당하며 (Falkowski et al. 2004, Anesio and Laybourn-Parry 2012), 극지의 1차 총생산량의 50% 이상을 기여할 만큼 생태계에서 매우 중요하다. 그러므로 기후변화가 극지방에 빠른 환경변화를 초래함으로서 해양 및 담수의 미세조류의 다양성에 대한 연구가 시급하다.

극지방의 미세조류연구는 1841년 Ehrenberg에 의해 처음 광합성 규조류가 기재된 이래, 최근까지 몇 몇 분류학적 연구 (신종보고), 생물다양성 연구 및 계통지리학적 연구만 수행되어 왔다. 특히, 미국의 Rebecca Gast 박사(Woods Hole Oceanographic Institution)는 Antarctic Protist Culture Collection을 만들어 극지 미세조류를 포함한 원생생물 배양주를 모으고 있으며 (http://www.whoi.edu/science/B/protists/), 극지 생물다양성에 대한 관심을 기울이고 있다. 최근 Paulin et al. (2011)에 따르면, 극지방의 미세조류는 약 2,500여 종이 보고되어 있으며, 이중에 북극의 종수가 남극의 종수보다 거의 10배 정도 많이 기록되어 있는 것으로 알려져 있다. 이것이 해양 미세조류의 종 다양성에 대한 최초의 종 목록이다. 그러나 극지방의 담수에 서식하는 미세조류에 대한 분류학적 연구는 드물게 수행되며, 연구 사례도 찾아보기 힘들다. 그러나 최근 18S rDNA 염기서열 분석을 통한 북극 호수의 황갈조류의 높은 다양성에 대한 보고나 (Charvet et al. 2012), 종조성에 대한 연구는 수행되고 있다 (Grant and Linse 2009, Unrein and Vinocur 1999, Wright et al. 2009). 이와 같이 미세조류는 고등 동·식물과는 비교도 할 수 없을 정도로 종 다양성이 높지만, 그에 대한 연구는 매우 미진하다. 연구의 결여는 대부분 개체 크기가 매우 작고 (주로 200μm 이하), 다세포 생물에 비해 분류학적으로 이용할 수 있는 형질의 수가 많지 않아 동정이 어렵기 때문이다. 그리고 미세조류의 분류에 이용되는 대부분의 형질은 생시료에서는 잘 관찰되지 않으며 전자현미경 (SEM과 TEM)을 이용하여야만 관찰되기도 한다. 그러므로 다양한 미세조류의 균주 확보나, 이를 통한 분자 및 미세구조 연구가 절실하다. 특히, 킹조지섬은 1993년 Luscinska & Kyc에 의해 처음 육상 조류에 대한 연구가 수행되어 남조류 25종 stramenopile 127종 (규조류 등), 그리고 녹조류 31종이 보고되었다. 이후에 킹조지섬의 미세조류에 대한 연구는 전무하였으며, 특히 지의류 공생 조류에 대한 연구는 매우 미흡하다.

2.2. 기존 연구의 문제점

일반적으로 미세조류 (단세포 조류)에 대한 기존 연구의 문제점은 크게 두 가지로 구분된다. 첫째는 형태적 연구의 문제점이다. 광학현미경적 수준의 문제점은 형태적 단순함이다. 형태적으로 매우 단순하여 분류에 이용되는 형질의 수가 적고, 또한 이용 가능한 형질은 환경

변이에 따른 가소성을 보이는 것이 가장 큰 문제점이다. 따라서 좀 더 안정적인 형태학적 형질을 찾기 위해 다양한 방법으로 미세구조 연구 (SEM, TEM)가 시도되어 왔다. 미세구조 연구의 장점은 종간 또는 그 이상의 상위 분류군의 형태적 진화과정을 밝히는데 반드시 필요하다. 그러므로 전자현미경을 이용한 연구는 광합성 미세조류의 특징적인 미세구조를 밝히고, 이를 토대로 미세조류의 진화과정을 고찰하는데 중요하다.

둘째는 분자계통학적 연구의 문제점이다. 분자자료를 토대로 하는 계통연구의 가장 큰 문제점은 1) 하나 또는 두 개의 유전자 분석에 의존하는 것, 2) 핵과 색소체 유전자의 계통수가 드물게 불일치하는 것, 3) 집단간, 종간, 그리고 속간의 유전자 변이가 심하여 long branch attraction (LBA)을 일으키는 것이다. 미세조류의 계통진화 연구는 유럽과 북미의 대부분의 나라에서 시도하고 있지만, 대부분의 연구는 핵의 SSU나 엽록체의 16S rDNA, *rbc*L을 이용한 분자분석에만 집중되고 있다. 이들의 연구는 제한된 균주만 이용함으로써 광합성 미세조류의 계통적 유연관계를 밝히는데 어려움이 있다.

2.3. 연구의 창의성

선행된 연구의 동향을 고려하여, 본 연구는 다음과 같은 점에 착안하여 기획되었다. 첫째, 다양한 재료 확보(biodiversity)이다. 기존의 미세조류 종다양성 연구는 형태분류에 기반하고 있으며, 연구 발전을 위해서는 우선적으로 재료의 확보가 중요하다. 대부분의 미세조류는 단세포성이며, nanoplakton (2-20 μm)에서 microplankton (20-200μm)까지 크기가 다양하여 재료 확보에 어려움이 있었다. 이러한 단세포 조류의 연구는 하나의 세포를 분리, 배양, 그리고 유지하는 것이 매우 중요하다. 연구책임자는 배양실을 확보하고 있으며, 이미 다양한 미세조류 (극지 녹조류, 담수녹조류, 유글레나조류, 황갈조강, 시누라조강, 은편모류 (담수, 해양 포함) 등, 약 1200 배양주(strain) 이상을 분리・배양하고 있다. 이는 전 세계를 통틀어 가장 많은 유글레나조류, 황갈조강, 시누라조강, 은편모조류 배양주를 확보한 상태이다. 다양한 분리 배양방법과 이미 확보된 재료는 본 연구에 많은 도움을 줄 것으로 기대된다.

둘째, 다유전자 분석이다. 다유전자의 분석은 최근 다양한 생물군의 계통 및 진화 연구에 가장 필수적이며, 진의의 계통수를 구축할 수 있기 때문에 많이 수행되고 있다. 지금까지 가장 많이 사용된 유전자는 핵 유전자 두 개 (SSU, LSU rDNA), 엽록체 유전자 2-3개 (SSU, LSU rDNA, *rbc*L)이다. 그러나 이들의 각 유전자 분석에서 분류군에 따라 또는 분류 단위에 따라 다르게 분석되고 있다. 그러므로 본 연구에서는 핵 (SSU rDNA)과 엽록체 (LSU rDNA, *rbc*L) 세포소기관의 유전자를 분석할 것이다. 이들 세 개의 유전자는 녹조류와 유글레나조류의 계통과 진화 연구에 중요한 정보를 제공할 것으로 본다. 본인은 배양을 통한 배양주 확보, 적절한 분자 marker 개발, 그리고 다유전자 분석에 이미 관심을 기울여 왔다.

셋째, 미세구조 연구이다. 미세조류의 분류체계는 1980년대 이후, 전자현미경과 분자기법이 도입되면서 최근까지 계속 변해왔다. 특히, 미세조류의 다양성과 진화 연구에서 필수 불가결한 요소이다. 그 이유는 녹조류나 유글레나조류의 계통학적 유연관계를 추론하는데 미세구조적 특징 (엽록체, 기저체)을 이용하여 왔으며, 신종 기재에도 필수적이다. 아울러, 외피를 가지는 종들에서는 SEM을 이용한 외부 형태 관찰이 필요하다. 그러므로 본 연구에서는 생태, 생리, 분류학적으로 중요한 종을 대상으로 미세구조 연구가 수행될 것이다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

3.1. 연구방법

가. 목표달성을 위한 연구수행 방법

성과목표	세부목표	연구수행방법 (이론적.실험적 접근방법)	구체적인 내용
남극 킹조지섬 주변 미세조류의 다양성과 계통연구	재료의 채집	킹조지섬 주변의 다양한 환경에서 재료의 확보	- 재료는 플랑크톤네트 (망목크기: 20um)나 주변의 지의류 채집
	배양주 확보	세포의 분리 및 배양	- 플랑크톤네트로 채집한 재료와 지의류 공생 녹조는 slide glass 위에서 놓고 4-5회 수세하면서 분리 - 수생 플랑크톤은 BBM 배지에서, 지의류 공생 녹조류는 3NBBM 배지에서 배양
	형태분석	배양주의 형태적 관찰	- 세포의 형태 및 엽록체 모양, 피레노이드 유무 등을 관찰
	유전자 분석	- 녹조류의 barcoding marker로 사용되는 핵 ITS (ITS1, 5.8S, ITS2) 부위를 분석 - 계통분석에 필요시, 핵 actin 또는 18S rDNA 분석	- 각 분류군별 및 유전자별 PCR용 primer 제작 - PCR로 증폭한 후, 염기서열 분석 시행
	계통 분석	다양한 계통학적 분석 방법을 적용	- NCBI에서 이용가능한 대부분의 ITS 염기서열 정보를 확보 - 염기서열의 정열 - 계통분석에 이용되는 RAxML, Bayesian방법을 적용하여 분석

KOPRI 극지연구소

3.2. 연구 수행 결과

가. 연구수행 세부 내용 및 결과

□ 성과목표 가:

○ 세부목표 가-1:

연 구 내 용	연 구 결 과(우수성)
재료의 채집 및 배양	재료의 채집은 2014 - 2016년 사이에 책임연구자 또는 홍순규박사와 소재은 연구원이 남극 킹조지섬을 방문하여, 주변의 지의류 채집을 수행. (표 1-4).
배양주 확보 및 유전적 다양성 확인	채집된 표본에서 지의류 공생 photobiont를 분리한 후, 지의류 공생체 187배양체를 확보함. 모든 배양체는 유전자 분석(핵 ITS1, 5.8S, ITS2 부위)을 수행함.

1) 최근 3년간 (2014-2016) 남극 세종기지 주변 및 칠레 Morro Chico에서 채집한 지의류 및 공생 phycobiont 배양주 및 채집지 정보

KOPRI 극지연구소

표 1) 2014년 남극 지의류에 공생하는 phycobiont의 배양주

Strain No.	**Host name**	**Photobiont**	**Collection site (Latitude and Longitude)**
2014KGH-004E	Unknown	*Elliptochloris*-like species	Marian Cove (near Araon Valley), Barton Peninsula, King George Island (62, 13.223' S / 58, 46.214' W)
2014KGH-009A	*Spharoporus* sp.	*Trebouxia simplex*	Ardley Island, South Shetland Islands (62, 12.860' S / 58, 55.846' W
2014KGH-016A	*Caloplaca* sp.	*Trebouxia arborcola*	Ardley Island, South Shetland Islands (62, 12.598' S / 58, 55.908' W)
2014KGH-016B	*Caloplaca* sp.	*Trebouxia arborcola*	Ardley Island, South Shetland Islands (62, 12.598' S / 58, 55.908' W)
2014KGH-016C	*Caloplaca* sp.	*Trebouxia arborcola*	Ardley Island, South Shetland Islands (62, 12.598' S / 58, 55.908' W)
2014KGH-016D	*Caloplaca* sp.	*Trebouxia arborcola*	Ardley Island, South Shetland Islands (62, 12.598' S / 58, 55.908' W)
2014KGH-016E	*Caloplaca* sp.	*Trebouxia arborcola*	Ardley Island, South Shetland Islands (62, 12.598' S / 58, 55.908' W)
2014KGH-016F	*Caloplaca* sp.	*Trebouxia arborcola*	Ardley Island, South Shetland Islands (62, 12.598' S / 58, 55.908' W)

Strain No.	Host name	Photobiont	Collection site (Latitude and Longitude)
2014KGH-D016 A1	*Caloplaca* sp.	*Trebouxia* sp.	Ardley Island, South Shetland Islands (62, 12.598' S / 58, 55.908' W)
2014KGH-022	*Placopsis* sp.	*Stichococcus* sp.	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.410' S / 58, 44.767' W)
2014KGH-023A	*Himantormia* sp.	난배양성	Barton Peninsula, King George Island, (62, 13.399' S / 58, 44.788' W)
2014KGH-023B	*Himantormia* sp.	난배양성	Barton Peninsula, King George Island, (62, 13.399' S / 58, 44.788' W)
2014KGH-026A	*Ochrolechia* sp.	*Trebouxia* sp. (신종후보2)	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.659' S / 58, 45.582' W)
2014KGH-026B	*Ochrolechia* sp.	*Trebouxia* sp. (신종후보2)	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.659' S / 58, 45.582' W)
2014KGH-026C	*Ochrolechia* sp.	*Trebouxia* sp. (신종후보2)	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.659' S / 58, 45.582' W)
2014KGH-026D	*Ochrolechia* sp.	*Trebouxia* sp. (신종후보2)	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.659' S / 58, 45.582' W)
2014KGH-026E	*Ochrolechia* sp.	*Trebouxia* sp. (신종후보2)	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.659' S / 58, 45.582' W)
2014KGH-026F	*Ochrolechia* sp.	*Trebouxia* sp. (신종후보2)	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.659' S / 58, 45.582' W)
2014KGH-032A	*Psoroma* sp.	*Elliptochloris*-like species	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.660' S / 58, 45.592' W)
2014KGH-032B	*Psoroma* sp.	*Elliptochloris*-like species	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.660' S / 58, 45.592' W)
2014KGH-032C	*Psoroma* sp.	*Elliptochloris*-like species	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.660' S / 58, 45.592' W)
2014KGH-032D	*Psoroma* sp.	*Elliptochloris*-like species	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.660' S / 58, 45.592' W)
2014KGH-032E	*Psoroma* sp.	*Elliptochloris*-like species	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.660' S / 58, 45.592' W)
2014KGH-032F	*Psoroma* sp.	*Elliptochloris*-like species	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.660' S / 58, 45.592' W)
2014KGH-032G	*Psoroma* sp.	*Elliptochloris*-like species	Barton Peninsula, King George Island (62, 13.660' S / 58, 45.592' W)
2014KGH-048A	*Ochrolechia* sp.	*T. impressa*	Harmony Point, Nelson Island (62, 18.134' S / 59, 11.843' W)
2014KGH-048B	*Ochrolechia* sp..	*Trebouxia* sp (신종후보4)	Harmony Point, Nelson Island (62, 18.134' S / 59, 11.843' W)
2014KGH-048C	*Ochrolechia* sp.	*Trebouxia* sp (신종후보4)	Harmony Point, Nelson Island (62, 18.134' S / 59, 11.843' W)
2014KGH-048D	*Ochrolechia* sp.	*T. impressa*	Harmony Point, Nelson Island (62, 18.134' S / 59, 11.843' W)
2014KGH-048E	*Ochrolechia* sp.	*Trebouxia* sp (신종후보4)	Harmony Point, Nelson Island (62, 18.134' S / 59, 11.843' W)

KOPRI 극지연구소

Strain No.	Host name	Photobiont	Collection site (Latitude and Longitude)
2014KGH-048F	*Ochrolechia* sp.	*Trebouxia* sp (신종후보4)	Harmony Point, Nelson Island (62, 18.134' S / 59, 11.843' W)
2014KGH-048G	*Ochrolechia* sp.	*T. impressa*	Harmony Point, Nelson Island (62, 18.134' S / 59, 11.843' W
2014KGH-048H	*Ochrolechia* sp.	*Trebouxia* sp (신종후보4)	Harmony Point, Nelson Island (62, 18.134' S / 59, 11.843' W)
Polar-15	Unknown	*Coccomyxa* sp.	Unknown

표 2) 2015년 남극 지의류에 공생하는 phycobiont의 배양주

Strain No.	Host name	Photobiont	Collection site (Latitude and Longitude)
2015KGS-001	*Cladonia novochlorophaea*		Barton Peninsula, King George Island (62, 13.230' S / 58, 46.384' W)
2015KGS-002	*Cladonia squamosa*		Barton Peninsula, King George Island (62, 13.230' S / 58, 46.384' W)
2015KGS-004	*Cladonia gracilis*		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.230' S / 58, 46.384' W
2015KGS-005	*Cladonia pocillum*		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.230' S / 58, 46.384' W
2015KGS-007	Unidentified	*Asterochloris* sp3. (신종후보3)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.007' S / 58, 45.680' W
2015KGS-008	Unidentified		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.007' S / 58, 45.680' W
2015KGS-009	Unidentified	"*Asterochloris irregularis*"	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.007' S / 58, 45.680' W
2015KGS-010	*Cladonia gracilis*	"*Asterochloris irregularis*"	Barton Peninsula, King George Island 62, 12.973' S / 58, 45.611' W
2015KGS-012	Unidentified	"*Asterochloris irregularis*" *Asterochloris* sp3. (신종후보3)	Barton Peninsula, King George Island 62, 12.942' S / 58, 45.382' W
2015KGS-014	*Cladonia chlorophaea*	"*Asterochloris irregularis*"	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.069' S / 58, 45.399' W
2015KGS-015	*Cladonia borealis*		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.069' S / 58, 45.399' W
2015KGS-016	*Cladonia squamosa*	"*Asterochloris irregularis*"	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.069' S / 58, 45.399' W
2015KGS-017	*Cladonina gracilis* subsp. *gracilis*	"*Asterochloris irregularis*"	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.069' S / 58, 45.399' W
2015KGS-018	Unidentified		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.527' S / 58, 46.723' W
2015KGS-021	Unidentified		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.525' S / 58, 46.723' W
2015KGS-026	*Cladonia* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 14.190' S / 58, 43.078' W
2015KGS-029	*Cladonia* sp.	"*Asterochloris irregularis*"	Barton Peninsula, King George Island 62, 14.191' S / 58, 43.079' W
2015KGS-032	*Cladonia* sp.		Barton Peninsula, King George Island

KOPRI 극지연구소

			62, 14.274' S / 58, 43.270' W
2015KGS-039	*Cladonia* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.691' S / 58, 46.851' W
2015KGS-042	*Cladonia* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.689' S / 58, 46.828' W
2015KGS-049	*Cladonia* sp.	*Asterochloris* sp2. (신종후보2)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.510' S / 58, 46.710' W
2015KGS-050	*Cladonia* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.510' S / 58, 46.710' W
2015KGS-051	*Cladonia* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.502' S / 58, 46.090' W
2015KGS-052	*Cladonia* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.502' S / 58, 46.690' W
2015KGS-053	*Cladonia* sp.	"*Asterochloris irregularis*"	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.502' S / 58, 46.690' W
2015KGS-059	*Cladonia* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.785' S / 58, 46.879' W
2015KGS-063	*Cladonia* sp.	"*Asterochloris irregularis*" *Asterochloris* sp2. (신종후보2)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.367' S / 58, 47.021' W
2015KGS-064	*Cladonia* sp.	"*Asterochloris irregularis*" *Asterochloris* sp3. (신종후보3)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.149' S / 58, 45.955' W
2015KGS-069	*Cladonia* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 12.928' S / 58, 45.619' W
2015KGS-074	*Cladonia* sp.	"*Asterochloris irregularis*"	Barton Peninsula, King George Island 62, 12.976' S / 58, 45.611' W
2015KGS-075	*Cladonia* sp.	"*Asterochloris irregularis*" *Asterochloris* sp3. (신종후보3)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.221' S / 58, 46.309' W
2015KGS-077	*Cladonia* sp.	"*Asterochloris irregularis*" *Asterochloris* sp3. (신종후보3)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.221' S / 58, 46.309' W
2015KGS-080	*Cladonia* sp.	*Asterochloris* sp3. (신종후보3)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.223' S / 58, 46.310' W
2015KGS-085	*Cladonia* sp.	*Asterochloris* sp2. (신종후보2)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.242' S / 58, 46.212' W
2015KGS-087	*Cladonia* sp.	*Asterochloris* sp3. (신종후보3)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.236' S / 58, 46.153' W
2015KGS-091	*Cladonia* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.232' S / 58. 46.211' W

표 3) 2015년 남극 지의류에 공생하는 phycobiont의 배양주

Strain No.	**Host name**	**Photobiont**	**Collection site (Latitude and Longitude)**
2015KGIC-01	*Placosis contortuplicata*		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.219' S / 58, 46.442' W
2015KGIC-02	*Ochrolechia frigida*	*Trebouxia* sp (신종후보4)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.219' S / 58, 46.442' W
2015KGIC-03	*Sphaerophorus*	*Trebouxia* sp	Barton Peninsula, King George Island

	globosus	(신종후보5)	62, 13.219' S / 58, 46.442' W
2015KGIC-04	*Himantormia lugubris*	*Stichococcus* sp.	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.219' S / 58, 46.442' W
2015KGIC-05	*Usnea aurantiaco-atra*		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.219' S / 58, 46.442' W
2015KGIC-06	foliose		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.219' S / 58, 46.442' W
2015KGIC-07	*Psoroma* sp.	*Trebouxia* sp (신종후보4)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.228' S / 58, 46.439' W
2015KGIC-08	*Cladonia gracilis*		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.228' S / 58, 46.439' W
2015KGIC-09	*Cladonia* sp.	*Asterochloris* sp2. (신종후보2)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.228' S / 58, 46.439' W
2015KGIC-10	*Psoroma hypnorum*		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.228' S / 58, 46.439' W
2015KGIC-11	crustose		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.229' S / 58, 46.429' W
2015KGIC-12	foliose	*Trebouxia* sp. (신종후보4)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.229' S / 58, 46.429' W
2015KGIC-13	*Caloplaca* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.229' S / 58, 46.429' W
2015KGIC-14	*Ochrolechia frigida*	*Trebouxia sp.* (신종후보 2)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.229' S / 58, 46.429' W
2015KGIC-15	*Psoroma* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.229' S / 58, 46.429' W
2015KGIC-16	*Lepraria* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.227' S / 58, 46.401' W
2015KGIC-17	*Himantormia* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.227' S / 58, 46.401' W
2015KGIC-18	crustose		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.218' S / 58, 46.366' W
2015KGIC-19	crustose		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.218' S / 58, 46.366' W
2015KGIC-20	*Stereocaulon alpinum*		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.220' S / 58, 46.344' W
2015KGIC-21	*Lepraria* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.179' S / 58, 46.043' W
2015KGIC-22	*Acarospora* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.179' S / 58, 46.043' W
2015KGIC-23	*Rhizoplaca* sp.	*Trebouxia* sp (신종후보6)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.152' S / 58, 45.969' W
2015KGIC-24	foliose		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.152' S / 58, 45.969' W
2015KGIC-25	*Psoroma* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.147' S / 58, 45.939' W
2015KGIC-26	foliose		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.116' S / 58, 45.893' W
2015KGIC-27	*Xanthoria candelaria*	*T. decolorans*	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.116' S / 58, 45.893' W
2015KGIC-28	*Caloplaca* sp.	*T. arboricola*	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.116' S / 58, 45.893' W
2015KGIC-29	*Rhizocarpon* sp.		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.116' S / 58, 45.893' W
2015KGIC-30	foliose	*T. impressa*	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.116' S / 58, 45.893' W
2015KGIC-31	*Amandinea* sp.	*Coccomyxa* s2014p. *Ellipsoidion* sp	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.116' S / 58, 45.893' W
2015KGIC-32	crustose	*Trebouxia* sp.	Barton Peninsula, King George Island

KOPRI 극지연구소

		(신종후보1)	62, 13.120' S / 58, 45.893' W
2015KGIC-33	*Cladonia* sp.	"*A. irregularis*"	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.123' S / 58, 45.889' W
2015KGIC-34	*Usnea antarctica*		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.123' S / 58, 45.889' W
2015KGIC-35	*Psoroma* sp.	*Elliptochloris* sp	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.123' S / 58, 45.889' W
2015KGIC-36	*Pseudephebe pubescens*		Barton Peninsula, King George Island 62, 13.123' S / 58, 45.889' W
2015KGIC-37	*Stereoaulon* sp.	*Asterochloris* sp1. (신종후보1)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.123' S / 58, 45.889' W

표 4) 2016년 남극 세종기지 주변과 칠레 Morro Chico 주변에서 채집된 지의류와 광합성 공생 녹조류. ( ) 안은 확보된 배양주의 숫자.

Strain No.	**Host name**	**Photobiont**	**Collection site (Latitude and Longitude)**
2016KGIC-001A, B (2 strains)	*Stereocaulon alpinum*	*Asterochloris* sp.1	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.219' S / 58, 46.442' W
2016KGIC-002A, B (2)	*Cladonia* sp.	*Asterochloris* sp.1	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.219' S / 58, 46.442' W
2016KGIC-011A (1)	*Cladonia pocillum*	*Coccomyxa* sp.3	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.219' S / 58, 46.442' W
2016KGIC-012A, B (2)	*Rhizoplaca melanophthalma*	*Trebouxia* sp.4	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.219' S / 58, 46.442' W
2016KGIC-015A, C (2)	Unidentified	*Coccomyxa* sp.1	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.219' S / 58, 46.442' W
2016KGIC-018A-J (10)	*Cladonia* sp.	*Asterochloris* sp.2	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.219' S / 58, 46.442' W
2016KGIC-019A-J (10)	*Cladonia* sp.	*Asterochloris* sp.1	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.228' S / 58, 46.439' W
2016KGIC-020A-E (5)	*Cladonia* sp.	*Asterochloris* sp.1	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.228' S / 58, 46.439' W
2016KGIC-021 A-E (5)	*Cladonia gracilis*	*Asterochloris* sp.1	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.228' S / 58, 46.439' W
2016KGIC-022A (1)	*Psoraoma* sp.	*Trebouxia* sp (신종후보7)	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.228' S / 58, 46.439' W
2016KGIC-023A (1)	*Collema* sp.	*T. arbrocola*	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.229' S / 58, 46.429' W
2016KGIC-024A (1)	*Lepraria borealis*	*Coccomyxa* sp.4	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.229' S / 58, 46.429' W
2016KGIC-024B, D (2)	*Lepraria borealis*	*Coccomyxa* sp.2	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.229' S / 58, 46.429' W
2016KGIC-024C (1)	*Lepraria borealis*	*Coccomyxa* sp.5	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.229' S / 58, 46.429' W
2016KGIC-025A, B (2)	*Cladonia chlorophaea*	*Asterochloris* sp.1	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.229' S / 58, 46.429' W
2016KGIC-025C (1)	*Cladonia chlorophaea*	*Trebouxia* sp.3	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.227' S / 58, 46.401' W
2016KGIC-025D-H (5)	*Cladonia chlorophaea*	*Asterochloris* sp.1	Barton Peninsula, King George Island 62, 13.227' S / 58, 46.401' W
MC-03A-B (2)	*Xanthoria candelaria*	*T. decolorans*	Morro Chico, Chile 52, 3′.20″ S / 71, 25′.27″ W
MC-09A-C (3)	Unidentified	*A. italiana*	Morro Chico, Chile

KOPRI 극지연구소

			52, 3′.20″ S / 71, 25′.27″ W
MC-10A-D (4)	*Cladonia* sp.	*Trebouxia* sp. (신종후보3)	Morro Chico, Chile 52, 3′.20″ S / 71, 25′.27″ W
MC-11A (1)	Unidentified	*A. italiana*	Morro Chico, Chile 52, 3′.20″ S / 71, 25′.27″ W
MC-12A-J (10)	*Sphaerophorus globosus*	*A. glomerata*	Morro Chico, Chile 52, 3′.20″ S / 71, 25′.27″ W
MC-14A-D (4)	*Cladonia* sp.	*Coccomyxa* sp.2	Morro Chico, Chile 52, 3′.20″ S / 71, 25′.27″ W
MC-16A-C (3)	*Pseudocyphellaria scabrosa*	*A. italiana*	Morro Chico, Chile 52, 3′.20″ S / 71, 25′.27″ W

KOPRI 극지연구소

2) 2016년 남극 세종기지 및 칠레 Morro Chico에서 채집한 지의류의 형태 사진

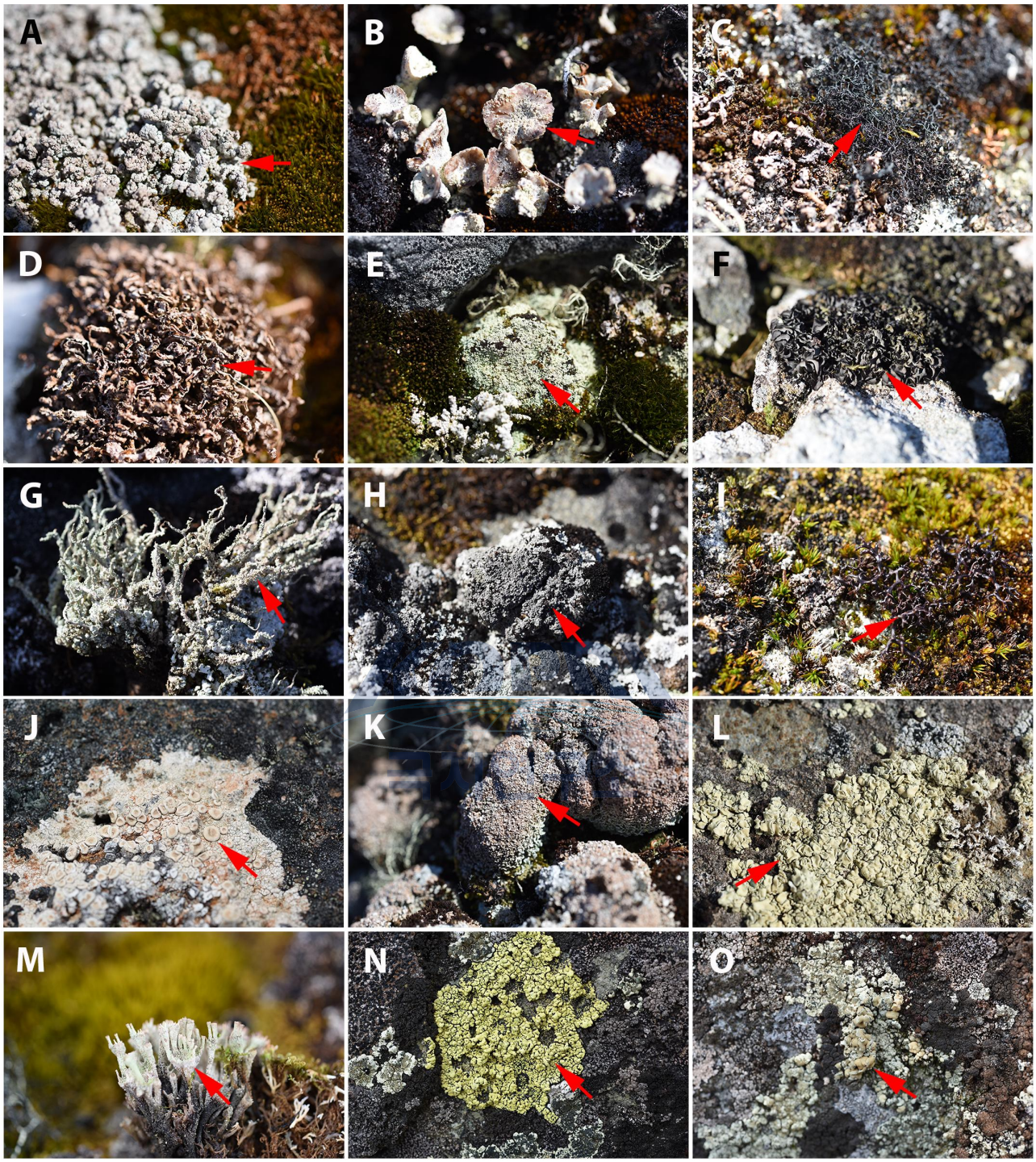

그림 1. 남극 세종기지 주변 지의류의 현장 사진. A. 2016KGIC-001 (*Stereocaulon alpinum*), B. 2016KGIC-002 (*Cladonia* sp.), C. 2016KGIC-003 (*Psudephebe pubescens*), D. 2016KGIC-004 (*Cladonia gracilis*), E. 2016KGIC-005 (*Lepraria* sp.), F. 2016KGIC-006 (*Collema* sp.), G. 2016KGIC-007 (*Cladonia scabriuscula*), H. 2016KGIC-008, I. 2016KGIC-009 (*Cetraria aculeata*), J. 2016KGIC-010 (*Ochrolechia fringida*), K. 2016KGIC-011 (*Cladonia pocillum*), L. 2016KGIC-012 (*Rhizoplaca melanophthalma*), M. 2016KGIC-013 (*Cladonia* sp.), N. 2016KGIC-014 (*Rhizocarpon geographicum*), O. 2016KGIC-015.

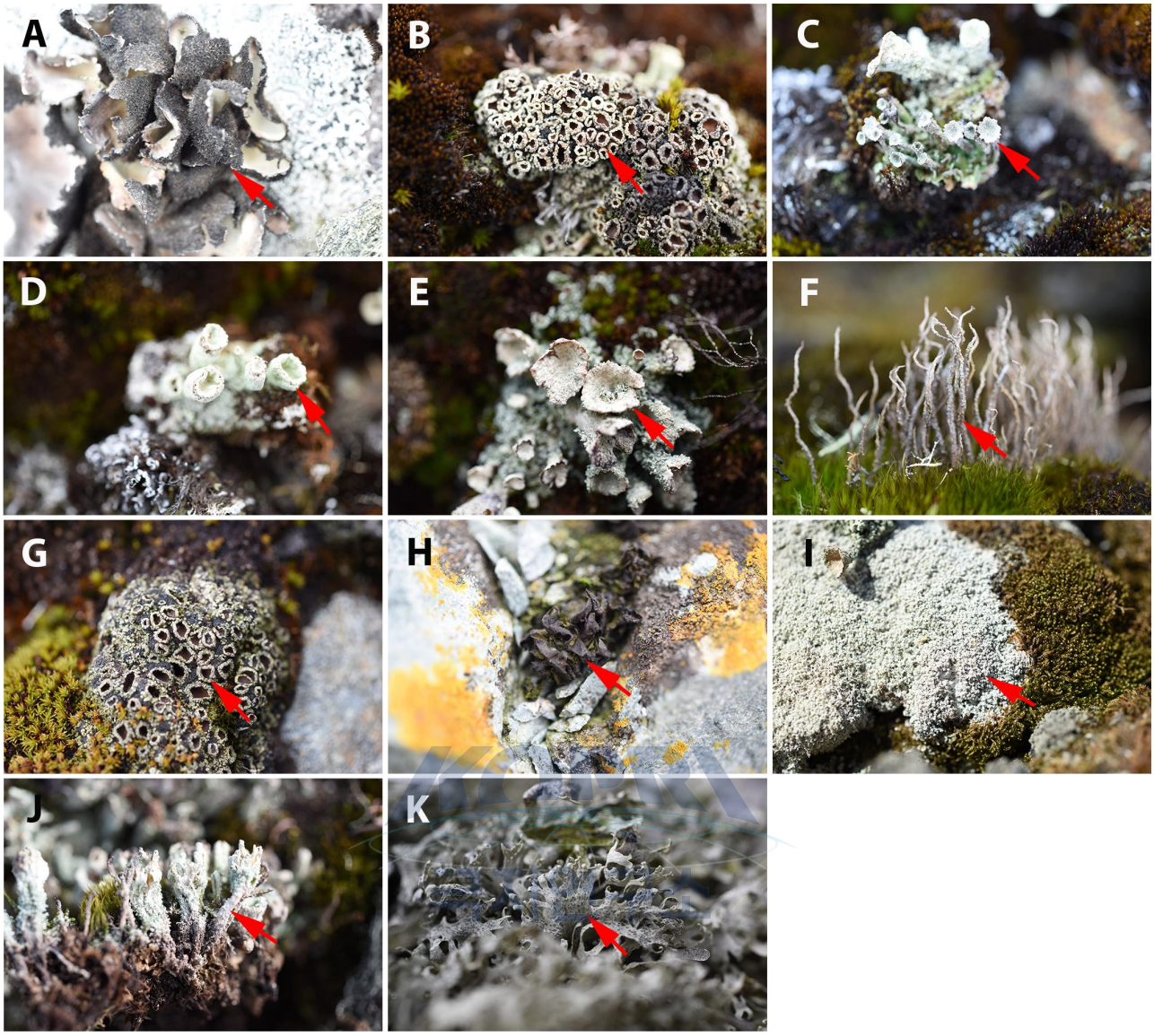

그림 2. 남극 세종기지 주변 지의류의 현장 사진. A. 2016KGIC-016 (*Umbilicaria antarctica*), B. 2016KGIC-017 (*Psoroma* sp.), C. 2016KGIC-018 (*Cladonia* sp.), D. 2016KGIC-019 (*Cladonia* sp.), E. 2016KGIC-020 (*Cladonia* sp.), F. 2016KGIC-021 (*Cladonia gracilis*), G. 2016KGIC-022 (*Psoraoma* sp.), H. 2016KGIC-023 (*Collema* sp.), I. 2016KGIC-024 (*Lepraria borealis*), J. 2016KGIC-025 (*Cladonia chlorophaea*), K. 2016KGIC-026.

그림 3. 칠레 Morro Chico지역에서 채집한 지의류의 현장 사진. A. 2016MC-001, B. 2016MC-002, C. 2016MC-003 (*Xanthoria candelaria*), D. 2016MC-004, E. 2016MC-005 (*Thamnolia vermicularis*), F. 2016MC-006, G. 2016MC-007 (*Parmelia saxitilis*), H. 2016MC-008 (*Cladonia* sp.), I. 2016MC-009, J. 2016MC-010 (*Cladonia* sp.), K. 2016MC-011, L. 2016MC-012 (*Sphaerophorus globosus*), M. 2016MC-013, N. 2016MC-014 (*Cladonia* sp.), O. 2016MC-015 (*Cladonia gracilis*), P. 2016MC-016(*Pseudocyphellaria scabrosa*).

○ 세부목표 가-2:

연 구 내 용	연 구 결 과 (우수성)
유전자 분석	지의류 공생 187 배양주의 유전적 다양성을 알아보기 위해 핵 ITS 부위를 먼저 염기서열 분석함 (그림 4, 5). Photobiont로 알려진 주요 속은 4속으로 알려지며, 특히, 2개 속 (*Asterochloris*, *Trebouxia*)에 속하는 종들 간의 유연관계를 알기위해 계통 분석을 실시하였음. ◉ *Asterochloris*속 - 본 속은 *Trebouxia*속과 형태가 매우 유사하여, 두 속간 또는 종간의 구분이 매우 어려움 (그림 8-10). - ITS 부위의 유전자 염기서열을 이용한 계통분석 결과 7개의 계통으로 나누어짐 (그림 4). ◉ *Trebouxia*속 - 분자분석은 핵 ITS1, 5.8S, ITS2 유전자 부분을 증폭한 후, 염기서열 분석을 실시함. 결과적으로 남극 지의류 공생 종은 8-9분류군 나누어짐 (그림 5). ◉ *Stichococcus*속 - 2배양주를 분리함. ◉ *Elliptochloris*속 - 7배양주를 분리함.

남극과 칠레에서 채집된 지의류 공생 녹조류 *Asterochloris*속은 7개의 계통군으로 나누어 졌다 (그림 4).

1) 칠레의 Morro Chico지역에 분리된 배양주는 *Asterochloris glmerata*에 속하는 계통

2) *Asterochloris glmerata*와 자매군을 형성하는 *Asterochloris* sp. nov. 1

3) *A. magna*와 자매군을 형성하며, 강하게 단계통을 형성하는 *Asterochloris* sp. nov. 2.

4) *A. woessiae*와 함께 단계통을 이루는 2016MorroChico-A 분류군

5) *A. woessiae*와 자매군을 형성하는 *A. sejongensis*. 현재 논문으로 출판중임.

6) 칠레의 Morro Chico지역에서 분리 배양된 *A. italiana*에 속하는 계통

7) 강하게 단계통을 이루며, 계통적 위치가 불분명한 *Asterochloris* sp. nov. 3.

전체적으로 세종기지 주변과 칠레 Morro Chico지역에서 채집된 지의류 공생 *Asterochloris*속은 7개의 계통으로 나누어지며, 3개의 계통에 대해서는 새로운 분류군이 될 가능성이 매우 높다. 특히, 1종에 대해서 신종 보고를 하여 국제 학술지에 출판 중인 것까지 합치면, 4종이 신종이 될 것으로 사료된다. 그러므로 종다양성에 비해 신종 발굴의 빈도가 매우 높을 것으로 본다.

KOPRI 극지연구소

*Trebouxia*속의 계통은 이용 가능한 유전자 염기서열 자료가 매우 많으나, 대부분 공개된 염기서열 정보가 미동정 혹은 오동정 된 종으로부터 얻어진 결과로 , 종간 계통적 유연관계를 파악하기가 어렵다. 그럼에도 불구하고, 본 연구 수행 결과 남극 세종기지 및 칠레 Morro Chico에서 채집된 종 중에서 두 종 (*T. arboricola, T. decolorans*)만 확인 되었으며, 독립적으로 분류되는 5-7 무리의 새로운 분류군을 확인 할 수 있었다 (그림 5). 그러므로 다유전자 마커, 특정 유전자 염기서열의 이차구조 분석, 형태 분석 등으로 추가 연구를 필요로 한다.

1) *Trebouxia arboricola*에 속하는 배양주
2) *T. decolorans*에 속하는 배양주
3) *T. asymmetrica*와 자매군을 형성하는 단계통군
4) 두 개의 독립적인 단계통군들 *(Trebouxia* sp. nov. 2 & *Trebouxia* sp. nov. 3)
5). *T. impressa* complex에 속하는 세 개의 단계통군들 (*Trebouxia* sp. nov. 4, *Trebouxia* sp. nov. 5, *Trebouxia* sp. nov. 6)
6) *T. jamesii* 다음에 분기하고 있는 새로운 단계통군 (*Trebouxia* sp. nov. 7)

Trebouxia속의 종들도 두 종만 동정이 가능하며, 나머지 분류군들은 새로운 계통적 유연관계를 보인다. 또한, 이들 계통군들은 새로운 계통적 위치를 차지할 뿐만 아니라 새로운 종으로 보고되어야 할 것으로 사료된다.

KOPRI
극지연구소

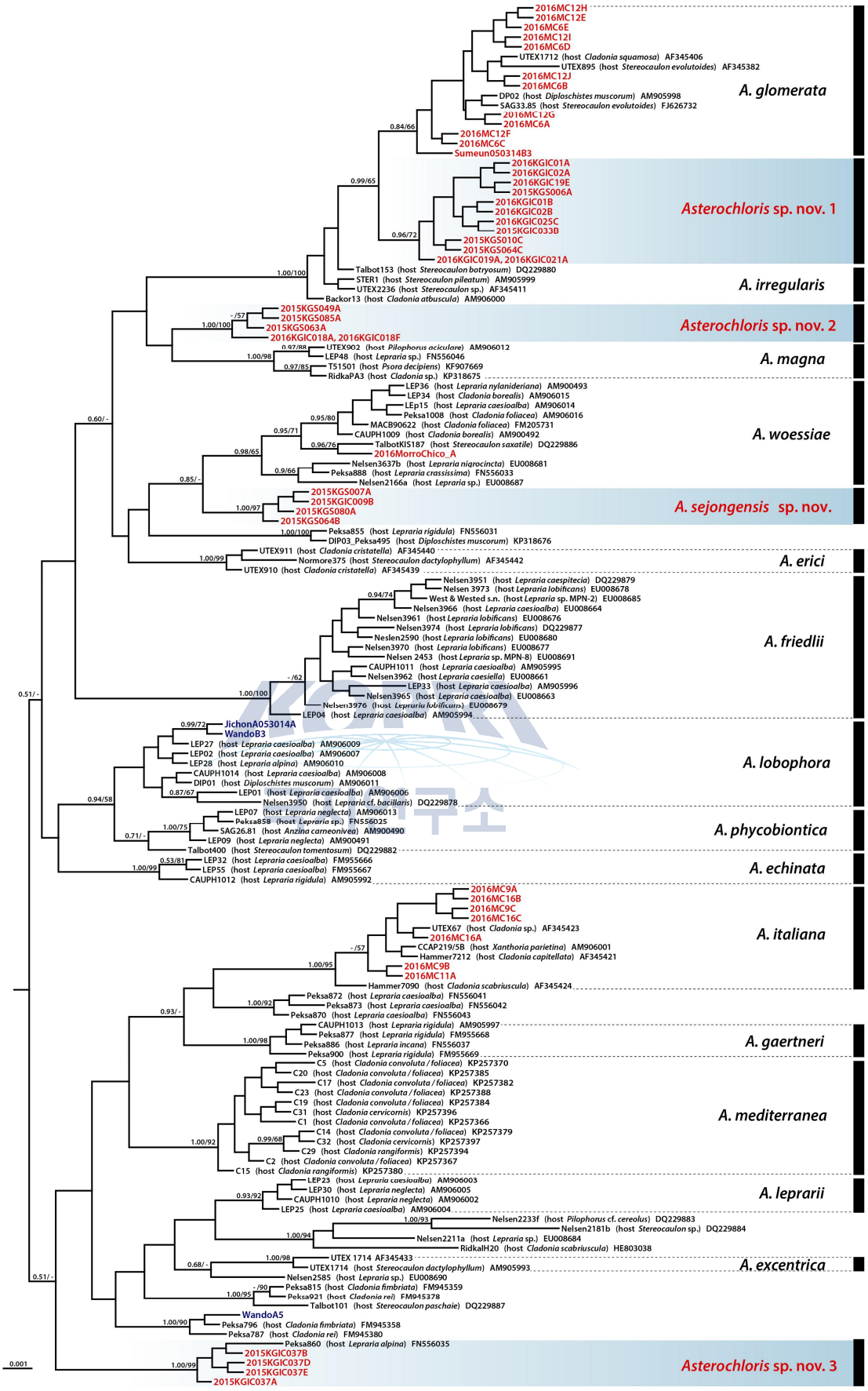

그림 4. Bayesian tree of the genus *Asterochloris* based on nuclear ITS1, 5.8S, and ITS2 sequences data.

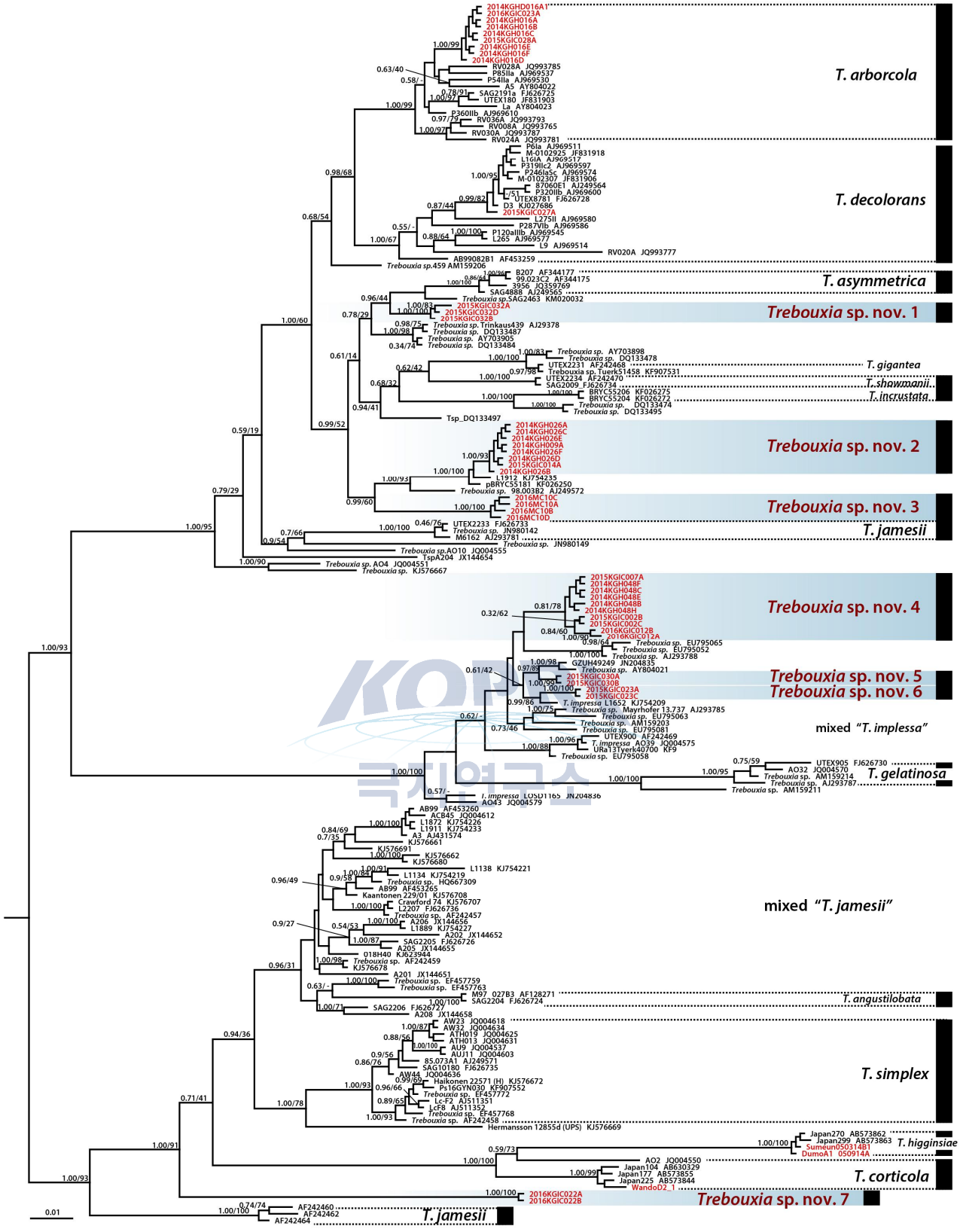

그림 5. Bayesian tree of the genus *Trebouxia* based on nuclear ITS1, 5.8S, and ITS2 sequences data.

○ **세부목표 가-3:**

연 구 내 용	연 구 결 과
형태분석	- *Stichococcus*와 *Elliptochloris*속의 형태 - *Asterochloris*와 *Trebouxia*속의 형태

A) *Stichococcus*속의 형태

2014KGH-022에서 분리한 1종은 트레복시아조강 (Trebouxiophyceae) *Stichococcus*속의 형태와 매우 유사하다. 세포의 모양은 원주형이며, 크기가 매우 작아 10μm 내외이다. 엽록체는 1-2개 가지고 있다. 분리한 배양체는 분열 속도가 빠른 특징을 가지고 있다. 특히 문헌에 biofuel 생산용 배양주로 이용된다.

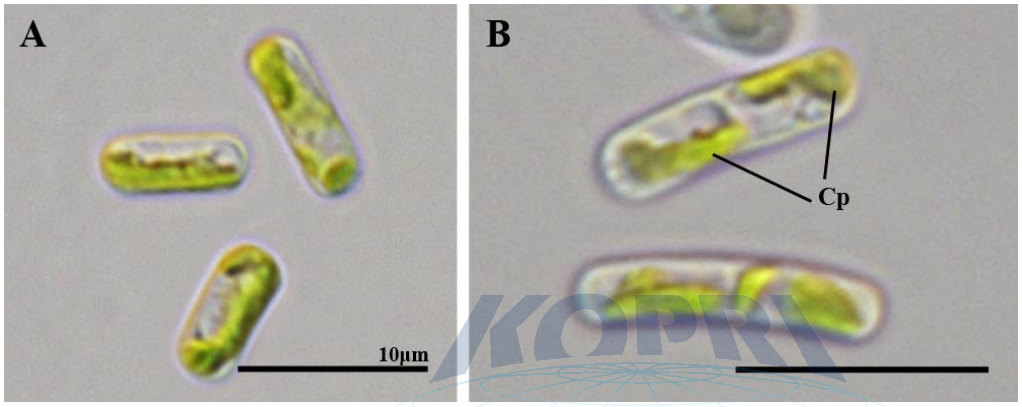

그림 6. 지의류에서 분리한 배양체. 작은 세포크기, 엽록체가 특징.

KOPRI 극지연구소

B) *Elliptochloris*속의 형태

2014KGH-032A-G (7배양주)는 트레복시아조강 (Trebouxiophyceae)의 *Elliptochloris*속의 종으로 밝혀졌으며, 세포질에는 과립형태의 광합성 저장산물이 차있으며, 엽록체는 세포 바깥 부분을 감싸고 있었다.

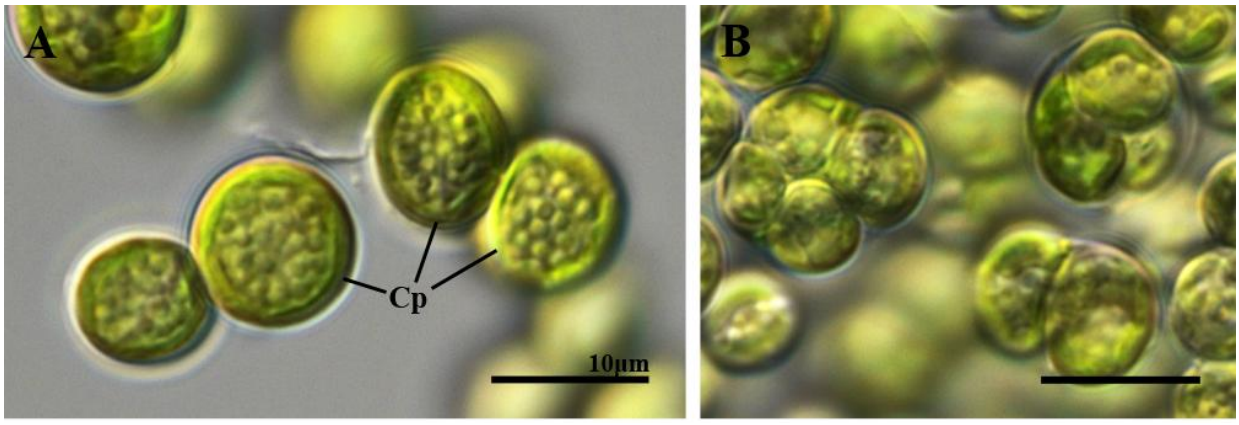

그림 7. 지의류 공생 녹조류의 다양성. A-B. *Elliptochloris* sp. (2014KGH-032A). Scale bars; 10μm.

C) *Asterochloris*속의 형태

- 일반적인 형태는 구형 또는 타원형, 세포벽은 비후부가 있거나 없음.
- 엽록체의 모양은 입체적이며, 세포의 주변부를 감싸며, 가장자리의 모양이 다름.
- 핵은 세포의 가장자리에 위치
- 부동포자는 대부분 64개 이상 형성됨

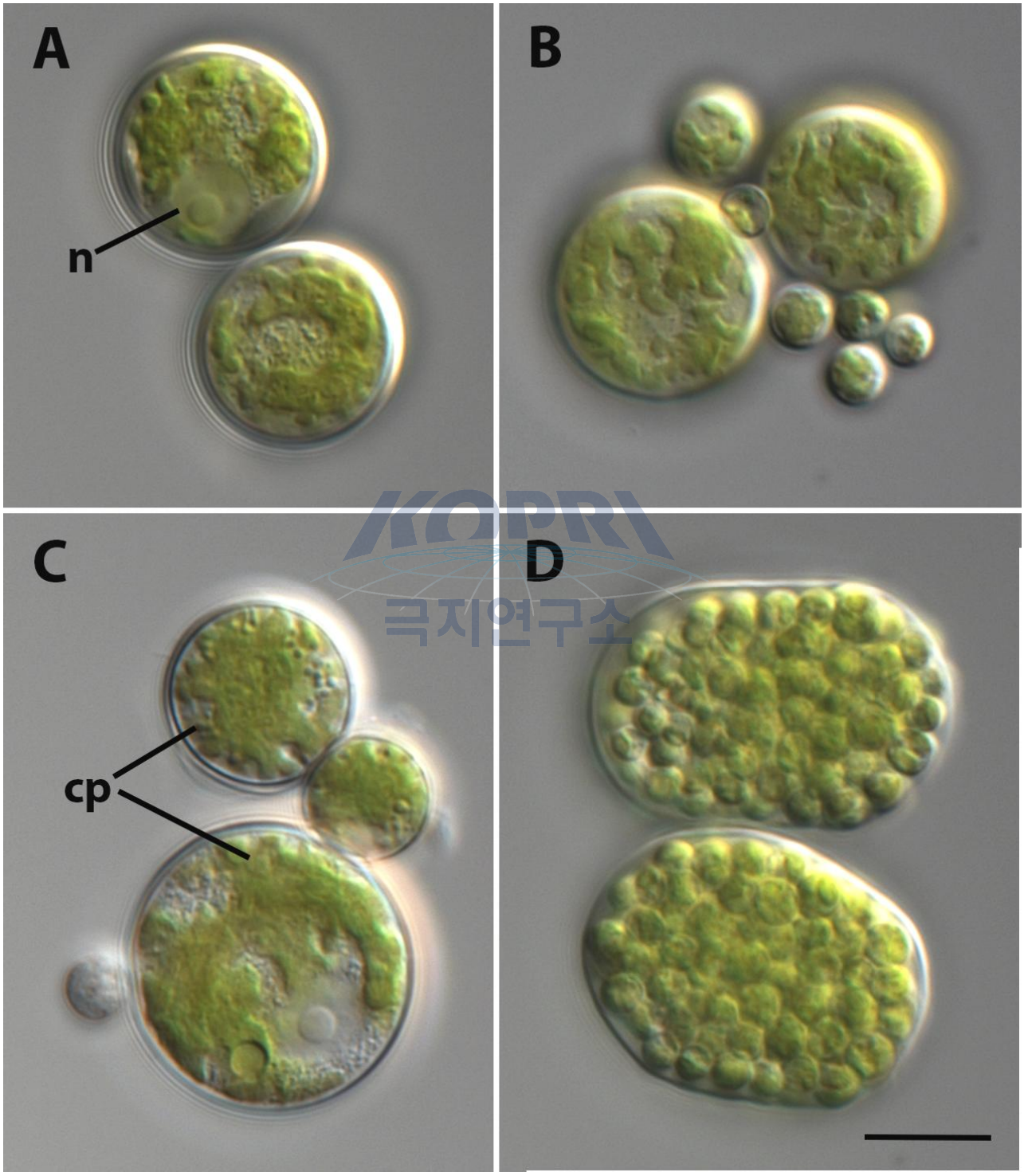

그림 8. Light micrographs of cell morphology of *Asterochloris* sp. (2016KGIC-021A). A. Light micrographs showing chloroplast and nucleus (n). B. Light micrograph showing deeply lobed chloroplast and young spores. C. Deeply lobed chloroplast shape. D. Aplanosporangium bearing more than 64 aplanospores. Scale bars=10 um.

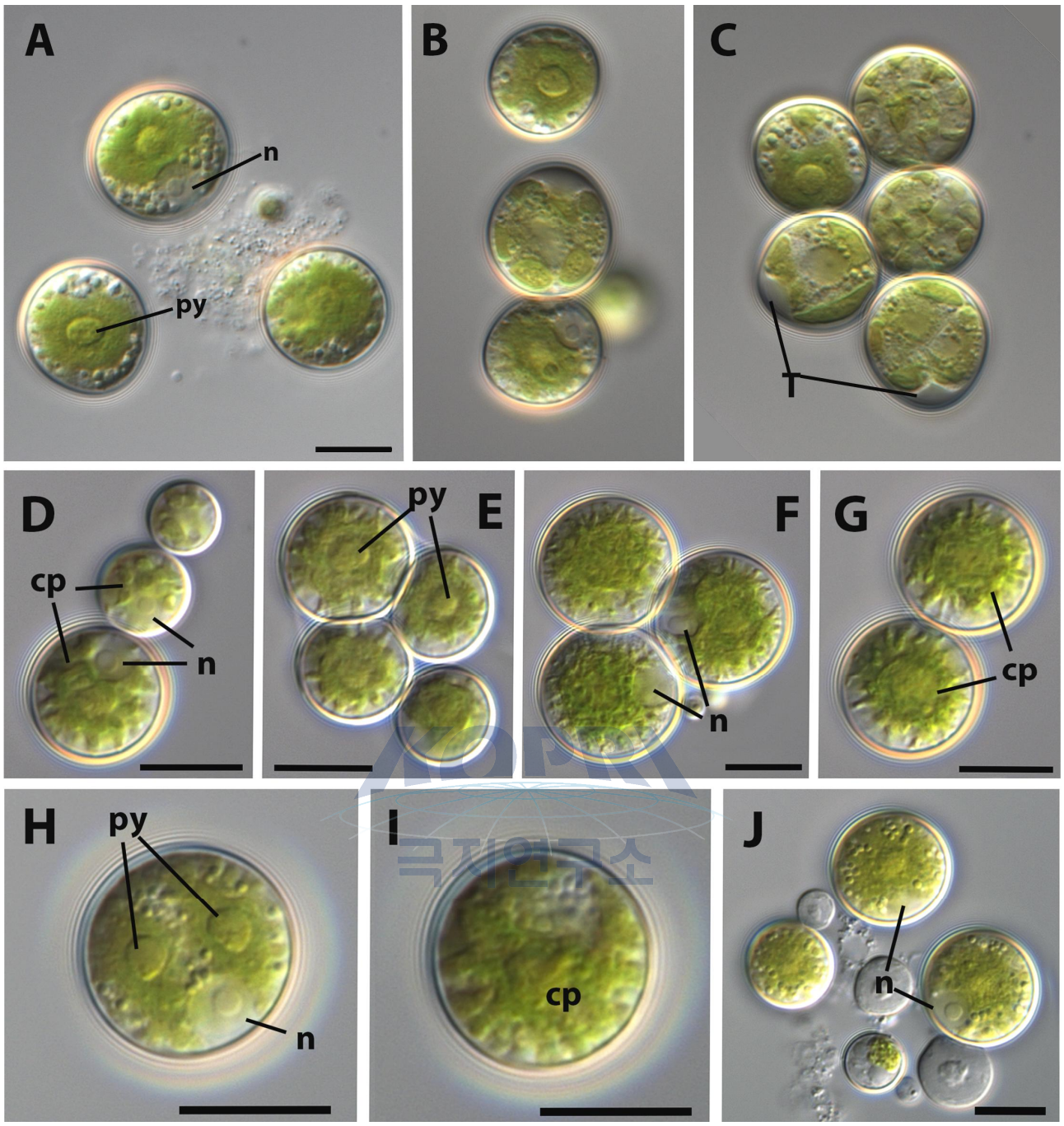

그림 9. Light micrographs of cell morphology from Antarctic *Asterochloris* taxa. A-C. Light micrographs showing cell morphology of *Asterochloris* sp. (2016KGIC-018F). A-B. Cells with laterally positioned nucleus (n) and one chloroplast bearing a pyrenoid (py). C. Aplanosporangium with cell wall thickening (T) and aplanospores (less than 32 cells). D-G. Light micrographs of *A. sejongensis* sp. nov. 2015KGS-064B showing various stages of life cycle. H-J. Light micrographs of 2015KGIC-037D showing chloroplast (cp), pyrenoid (py), and nucleus (n). Scale bars=10 um.

D) *Trebouxia*속의 형태

- 일반적인 형태는 구형 또는 타원형, 세포벽은 비후부가 있거나 없음.
- 엽록체의 모양은 대부분 판상이며, 세포의 주변부를 감싸며, 가장자리의 모양이 다름.
- 핵은 세포의 가장자리에 위치
- 자생포자(autospore) 또는 부동포자는 대부분 64개 이하 형성됨

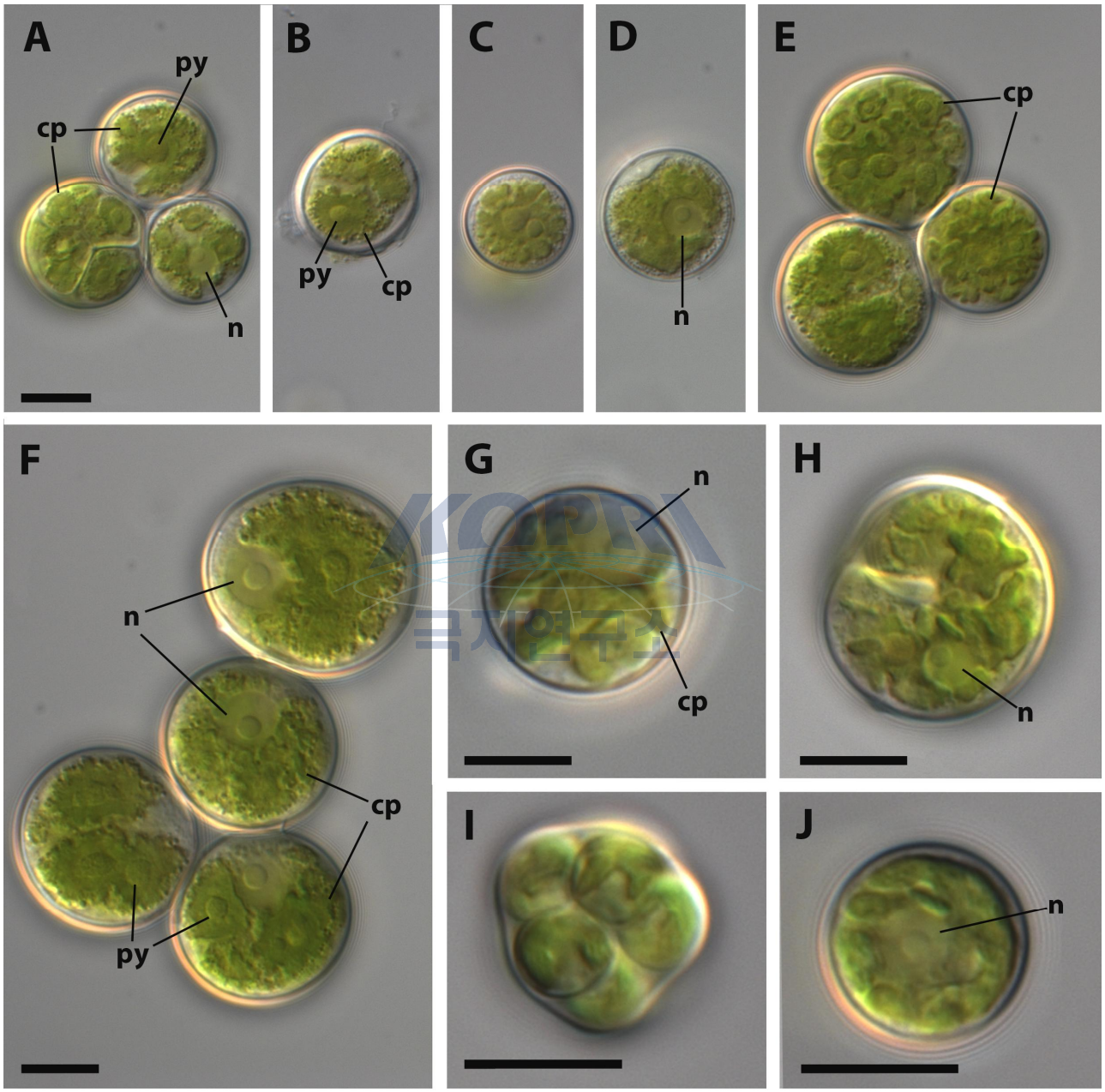

그림 10. Light micrographs of cell morphology from Antarctic *Trebouxia* taxa. A-B. Light micrographs of 2015KGIC-32D showing early step of aplanospore formation (A), chloroplast and pyrenoid. C-D. Light micrographs of 2014KGH-26A showing chloroplast and nucleus. E-F. Light micrographs of 2016MC-10A showing chloroplast (cp), pyrenoid (py) and nucleus (n). G-H. 2014KGH-048H. I-J. 2016KGIC-22A showing autospores in mother cell and nucleus (n). Scale bars=10 um. Scale bar in Fig. A. is the same to Figs B-E.

제 4장. 연구개발 목표 달성도 및 대외기여도

4.1. 연구개발 최종 목표

- 남극 킹조지섬 주변의 미세조류의 분류 및 계통학적 연구
- 미세조류의 종 및 유전적 다양성 확보
- 잠재적 생물자원공급에 용이한 culture collection 확립 (극지연구소와 충남대학교)

4.2. 연구개발 목표 및 달성도

성과목표	세부목표		달성 주요내용	달성도(%)
미세조류의 다양성과 계통연구	1-1	재료의 채집 및 배양	- 남극 킹조지섬 주변 채집 - 담수 및 지의류 공생 조류의 배양	100% 100%
	1-2	분자 및 형태 분석	- 배양 미세조류의 특정 유전자의 염기서열 분석 (핵 ITS1, 5.8S, ITS2) - 미세조류의 형태 분석	100% 100%
	1-3	분류 및 계통적 유연관계	-배양주의 동정 및 계통적 유연관계 확보	100%

KOPRI 극지연구소

4.3. 평가의 착안점

년도	성과목표	세부목표	가중치	평가의 착안점 및 척도
2014 - 2016	남극 킹조지섬 주변 미세조류의 다양성과 계통연구	○ 재료의 확보	10%	- 다양한 정점에 미세조류의채집 여부 - 극지연구소의 도움을 받아 지의류 재료 확보
		○ 배양주 확보	30%	- 다양한 미세조류의 분리 및 배양 여부
		○ 형태분석 (배양주의 형태 동정)	15%	- 분리된 배양체의 사진 촬영 여부
		○ 유전자 분석 - 핵 ITS1, 5.8S, ITS2 - 핵 actin gene/18S rDNA 분석	15%	배양물의 유전자원 정보 확보 여부 - 핵 ITS1, 5.8S, ITS2 - 필요시, 핵 actin gene/18S rDNA 분석
		○ 계통적 분석 - 다유전자 계통분석	30%	- 본연 구에서 분석한 유전자를 이용하여 계통학적 분석 여부

제 5장. 연구개발 결과의 활용계획

본 연구를 수행하면서 킹조지섬 주변에서 채집하여 배양하고 있는 신종 후보종들에 대한 연구결과를 국제학술지에 발표할 예정이다. 본 연구의 결과는 광학 수준의 형태 (LM, CM), 전자현미경 (TEM), 그리고 분자자료 분석을 추가적으로 분석한 후, 국제저명학술지에 발표할 예정이다.

현재 *Asterochloris*속 1종을 국제학술지 Phytotaxa에 출판중이며, 종소명을 세종기지의 이름을 붙여서 "*Asterochloris sejongensis*"로 명명하였다. 논문의 출판은 2017년 2월 중에 이루어질 것으로 사료된다 .

KOPRI
극지연구소

제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

대표적 지의류에 공생하는 미세조류인 *Asterochloris*속은 비교적 최근에 *Trebouxia* 속으로부터 엽록체 형태를 특징을 근거로 새로운 속으로 분류되었다 (Tschermak-Woess 1980). 이후 분자 분석의 도입으로 일부 *Trebouxia* 속의 종들이 다른 *Trebouxia* 종들과 독립적으로 분류되며 (Friedl and Zeltner 1994, Friedl and Rokitta 1997), *Asterochloris*속으로 재분류된 바 있다 (Helms et al. 2001, Piercey-Normore and DePriest 2001, Skaloud and Peksa 2008). 특히, 체코의 Skaloud and Peksa (2010)는 다양한 지의류와 많은 공생조류를 수집하여 이들의 생물다양성을 적극적으로 보고하였으며, 최근 Skaloud 등 (2015)은 신종 6종의 세포와 엽록체 형태, 염기서열 정보를 이용한 분자계통분석, 그리고 핵 ITS1, ITS2 유전자의 염기서열 이차구조에서 종 특이적 염기서열 변이를 분석하여 종 동정을 위한 분류체계를 정리하였다. 그러나 이들은 주로 유럽의 지의류와 공생조류를 중심으로 연구하였다. 극지방의 공생조류의 관한 연구는, 남극 James Ross Island에서 지의류 *Usnea antarctica* 종에서 2012년 채집되어 분리 배양된 *Trebouxia* sp. 종을 대상으로 온도에 따른 생장률에 관한 연구결과가 발표된 바 있다 (Balarinová et al. 2013).

극지방의 공생조류에 대한 분류학적 연구는 여전히 전무하였으며, 특히 지의류 공생조류에 대한 연구는 매우 미흡하다. 그러나, 다른 일부 미세조류의 경우 남극에서 신종을 발굴하는 등의 연구가 보고되는 것으로 보아 (Sciuto et al. 2015), 극지방의 생물다양성과 미세조류 배양주 확보 및 분류 연구는 반드시 필요함을 시사한다.

본 연구 수행 기간 동안, 수집된 지의류 시료에서 단일세포 분리배양하여 확보된 공생조류 배양주는 선행 연구 방법을 따라 비교분석 되었다. 다유전자 마커를 통한 분자 계통분석을 근거로 계통적으로 독립적으로 분류되는 무리에 연구를 집중하였다. 형태분석을 위해 광학과 공초점 현미경을 사용하여 세포와 엽록체 구조를 분석하였으며, *Asterochloris*속의 분류식별형질 (Key character)인 핵 ITS1, ITS2 rDNA 유전자의 이차구조를 분석을 근거로 확실한 신종후보로 선정하였다.

KOPRI 극지연구소

제 7장 참고문헌

Anesio, A. & Laybourn-Parry, J. 2012. Glaciers and ice sheets as a biome. *Trends Ecol. Evol.* 27: 219-225.

Archambault, P., Snelgrove, P. V. R., Fisher, J. A. D., Gagnon, J. - M., Garbary, D. J., Harvey, M., Kenchington, E. L., Lesage, V., Levesque, M., Lovejoy, C., Mackas, D. L., McKindsey, C. W., Nelson, J. R., Pepin, P., Piche, L. & Poulin, M. 2010. From sea to sea: Canada's three oceans of biodiversity. *PLoS ONE* 5:e12182.

Balarinová K. Váczi P. Hazdrová J, and Forbelská M. 2013. Temperature-dependent growth rete and photosynthetic performace of antarctic symbiotic alga *Trebouxia* sp. cultivated in a bioreactor. *Czech polar reports* 3:19-27.

Charvet, S., Vincent, W. F. & Lovejoy, C. 2012. Chrysophytes and other protists in high arctic lakes: molecular gene surveys, pigment signatures and microscopy. *Polar Biol.* 35: 733-748.

Ehrenberg, C. G. 1841. Einen Nachtrag zu dem Vortrage über Verbreitung und Einfluß des mikroskopischen Lebens in Süd- und Nord-Amerika. *Monatsber Dtsch Akad Wiss Berlin* 1841: 202⁻-207.

Falkowski, P. G., Katz, M. E., Knoll, A. H., Quigg, A., Raven, J. A., Schofield, O., & Taylor, F. J. R. 2004. The evolution of modern eukaryotic phytoplankton. *Science* 305:354-360.

Friedl, T. & Rokitta, C. 1997. Species relationships in the lichen alga *Trebouxia* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae): molecular phylogenetic analyses of nuclear-encoded large subunit rRNA gene sequences. *Symbiosis* 23:125⁻48.

Friedl, T. and Zeltner, C. 1994. Assessing the relationships of some coccoid green lichen algae and the Microthamniales (Chlorophyta) with 18S ribosomal RNA gene sequence comparisons. *J. Phycol.* 30:500⁻6.

Helms, G., Friedl, T., Rambold, G. & Mayrhofer, H. 2001. Identification of photobionts from the lichen family Physciaceae using algal-specific nrITS sequencing. *Lichenologist* 33:73⁻86.

Johannessen, O. M., Shalina, E. V., & Miles, M. W. 1999. Satellite evidence for an Arctic sea ice coverage in transformation. *Science* 286:1937-9.

Laybourn-Parry, J. & Pearce, D. A. 2007. The biodiversity and ecology of Antarctic lakes: models for evolution. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 362:2273-2289.

Luscinska, M. and Kyc, A. (1993) Algae inhabiting creeks of the region of "H. Arctowski" Polish Antarctic Station, King George Island, South Shetlands. *Polish Polar Research* 14: 393-405.

Paulin, M., Daugbjerg, N., Gradinger, R., Ilyash, L., Ratkova, T., & Quillfeldt, C. 2011. The pan-Arctic biodiversity of marine pelagic and sea-ice unicellular eukaryotes: a first-attempt assessment. *Mar. Biodiv.* 41:13-28.

Piercey-Normore, M. D. & DePriest, P. T. 2001. Algal switching among lichen symbioses. *Am. J. Bot.* 88:1490⁻8.

Sciuto, K., Lewis, L. A., Verleyen, E., Moro, I., and La Rocca, N. 2015. *Chodatodesmus australis* sp. nov. (Scenedesmaceae, Chlorophyta) from Antarctica, with the emended description of the

KOPRI 극지연구소

genus *Chodatodesmus,* and circumscription of *Flechtneria rotunda* gen. et sp. nov. *J. Phycol.* 51:1172-1188

Skaloud, P. & Peksa, O. 2008. Comparative study of chloroplast morphology and ontogeny in *Asterochloris*. *Biologia* 63:869–76.

Skaloud, P. & Peksa, O. 2010. Evolutionary inferences based on ITS rDNA and actin sequences reveal extensive diversity of the common lichen alga *Asterochloris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *Mol. Phyl. Evol*. 54:36–46.

Skaloud, P., Steinova, J., Rıdka, T., and Vancurova, L. 2015. Assembling the challenging puzzle of algal biodiversity: species delimitation within the genus *Asterochloris* (Trebouxiophyceae, Chlorophyta). *J. Phycol.* 51:507-527.

Thomas, D. N. & Dieckmann, G. S. 2010. Sea ice, 2nd edn. Wiley-Blackwell, Oxford.

Tschermak-Woess, E. 1980. *Asterochloris phycobiontica*, gen. et spec. nov., der phycobiont der Flechte *Varicellaria carneonivea*. *Plant Syst. Evol*. 135:279–94.

Tremblay, G., Belzile, C., Gosselin, M., Poulin, M., Roy, S., & Tremblay, J.-É. 2009. Late summer phytoplankton distribution along a 3500 km transect in Canadian Arctic waters: strong numerical dominance by picoeukaryotes. *Aquat. Microb. Ecol.* 54:55-70

Unrein, F. & Vinocur, A. 1999. Phytoplankton structure and dynamics in a turbid Antarctic lake (Potter Peninsula, King George Island). *Polar Biol.* 22:93-101.

Vincent W. F. 2000. Evolutionary origins of Antarctic microbiota: invasion, selection and endemism. *Antarctic Sci.* 12:374-385.

Wright, S. W., Ishikawa, A., Marchant, H. J., Davidson, A. T., van den Enden, R. L. & Nash G. V. 2009. Composition and significance of picophytoplankton in Antarctic waters. *Polar biol.* 32:797-808.

KOPRI 극지연구소

(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.

KOPRI 극지연구소