

TSPP15020-028-12

남극 아문젠해 해빙해역의 미생물 생태연구

Microbial ecology in the sea-ice zone
of the Amundsen Sea



한양대학교

제 출 문

극지연구소장 귀하

본 보고서를 “서남극 아문젠해역 생태계와 해양순환 변동 연구”과제의 위탁연구
“남극 아문젠해 해빙해역의 미생물 생태 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.



| | |
|---------|---------|
| 총괄연구책임자 | : 이 상 훈 |
| 위탁연구기관명 | : 한양대학교 |
| 위탁연구책임자 | : 현 정 호 |
| 위탁참여연구원 | : 김 성 한 |
| “ | : 조 혜 연 |
| “ | : 최 아 연 |
| “ | : 목 진 속 |
| “ | : 안 성 욱 |

보고서 초록

| | | | | | |
|---|-------------------|---|-------|-------------|-------------|
| 위탁연구과제명 | | 남극 아문젠해 해빙해역의 미생물 생태 연구 | | | |
| 위탁연구책임자 | 현정호 | 해당단계 참여연구원수 | 6명 | 해당단계 연구비 | 60,000,000원 |
| 연구기관명 및 소속부서명 | 한양대학교 해양융합과학과 | | 참여기업명 | | |
| 국제공동연구 | 상대국명 : 상대국연구기관명 : | | | | |
| 요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자이내) | | | | 보고서 면수 | 42면 |
| <p>본 연구는 남극 아문젠 해에서 식물플랑크톤 최대 대증식 시기에 미생물 호흡율을 측정하여 미생물이 극지기후변화에 따른 남극해의 CO₂ 저장기능에 미치는 생물적 영향에 대한 정보 및 이에 관여하는 미생물 군집 구조에 대한 정보를 획득하기 위한 것임.</p> <p>아문젠 폴리나 해역 수층 내 일차 생산자의 대증식 전후 미생물 생체량은 일차 생산자의 생체량과 밀접한 상관관계를 나타내었으며, 대증식 이후 상관관계가 더욱 높게 나타남. 한편, 용존 유기물 분포와는 낮은 상관관계를 보임.</p> <p>수층 생산력이 높은 폴리나 해역(Stn 10 ann Stn 17) 과 ice-shelf(Stn 19) 그리고 외해 해역(Stn 83)의 저층 퇴적물 내 미생물 군집 구조를 살펴본 결과 조사된 모든 지역의 퇴적물 내 미생물 개체수는 표층 퇴적물(0-1 cm depth)에서 1.89×10^7 cells cm⁻³에서 9.9×10^7 cells cm⁻³ 범위로 나타났으며, 퇴적깊이에 따라 감소함.</p> <p>폴리나 해역에서는 Planctomycetes가 두 정점의 전 층에서 우점하여 나타났으며, 외해 정점에서는 Planctomycetes 및 진정세균의 비율은 감소하고, Thaumarchaeota에 속하는 고세균이 매우 우점함</p> <p>본 보고서를 통해 정리된 아문젠해 폴리나에서의 박테리아 생물량 및 생산력 분포와 조절요인으로서 제시된 용존 유기탄소와의 상관관계에 대한 결과는 향후 다른 연구결과과의 종합적인 분석을 통해 아문젠 해빙 해역내의 탄소순환 및 생물펌프의 기능을 이해하는데 핵심적인 정보를 제공할 것임. 또한, 폴리나 해역과 외해 저층 퇴적물 내 서식하는 미생물 군집 구조를 서로 비교함으로써 수층 생산력과 저층 미생물 군집 구조간의 상관관계를 이해하고 원소 및 탄소 순환을 이해하기 위한 기초 자료를 제공하고자 함</p> | | | | | |
| 색인어 (각 5개 이상) | 한글 | 아문젠해, 폴리나, 유기물분해, 미생물 생체량, 미생물 군집, 미생물 호흡 | | | |
| | 영어 | Amundsen Sea, Polynya, organic carbon mineralization, bacterial abundance, microbial community, microbial respiration | | | |

요 약 문

I. 제 목

남극 아문젠해의 해빙해역에서 수층 미생물 생태 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

최근의 온난화로 인해 빙하가 녹아내리는 속도가 가속화되는 남극해양에서 생지화학적 탄소순환을 보다 잘 이해하기 위해서는 수층미생물의 생물량과 대사활동 및 이를 조절하는 물리-화학-생물적 요인들에 대한 연구가 이루어져야 한다. 본 연구는 남극 아문젠 해에서 식물플랑크톤 최대 대증식 시기에 미생물 호흡율을 측정하여 미생물이 극지기후변화에 따른 남극해의 CO₂ 저장기능에 미치는 생물적 영향에 대한 정보 및 이에 관여하는 미생물 군집 구조에 대한 정보를 획득하기 위한 것이다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

2012년 1월 31일부터 3월 20일까지 진행 된 아문젠 해 해빙해역에서의 승선연구를 통해, 해빙지역, 폴리냐, ice-shelf 및 외양역에서 박테리아 세포 수와 호흡율의 공간적 분포와 식물플랑크톤 및 용존 유기탄소 농도 분포와의 연관성에 대해 연구하였으며, 이를 통해 미세생물 먹이망 및 생지화학적 탄소순환에서 미생물의 역할을 규명하고자 하였다. 또한 해빙기에 수층 생산력이 매우 높은 폴리냐 지역과 상대적으로 낮은 외양역의 퇴적물 내 탄소 및 원소 순환을 조절하는 미생물 군집구조를 서로 비교하고자 하였다.

IV. 연구개발결과

남극 아문젠 해역의 수층 내 초기 대증식 기간(early bloom) 동안 표층 환경에서는 Chl-a, DOC 그리고 DON의 농도는 polynya 중심부와 ice-shelf 지역에서 sea-ice가 분포된 marginal zone에서 보다 높게 측정되었다. 이에 따라 미생물 세포수 (BA, bacterial abundance)와 미생물 군집 호흡율 (CR, microbial community respiration)이 polynya 중심부와 ice-shelf 지역에서 더 높게 나타났다. CDOM 및 DOC 농도와 미생물 생체량 상관관계는 낮은 것으로 나타났다. 대증식 이후인 2월에 조사된 CDOM의 농도는 증가했으나, 미생물 생체량 변화에 큰 영향을 주지는 못하는 것으로 조사되었고, 수층 내 DOC 농도는 대증식 이후 큰 변화는 보이지 않았고, 미생물 생체량과 상관관계에도 영향을 주지 못했다. 반면, 수층 내 대증식 전후 미생물 생체량은 일차 생산자의 생체량과 밀접한 상관관계를 나타내었으며, 대증식 이후 상관관계가 더욱 높게 나타났다.

일차생산의 대증식 초기 기간과 대증식 후기 기간 동안 미생물 탄소 요구량 (bacterial carbon biomass, BCB)와 박테리아 생산력 (bacterial production, BP)를 비교한 결과 2월 대증식 후기에 미생물 생산력 및 호흡율이 증가되었으며, 이러한 결과는 대증식 이후 종속영양 미생물들이 일차생산자에 의해 생성된 유기물이 저층 퇴적물로 가라앉기 전에 미생물호흡에 의해 분해되었음을 의미한다. 한편, 대증식기 이후 높은 BP:PP의 비율 및 일차 생산자의 현존량과 박테리아 현존량 사이의 강한 양의 상관관계에도 불구하고, 낮은 BCB:Chl-a 비율은 원생동물에 의한 섭식으로 박테리아의 현존량이 감소했기 때문이다. 이상의 결과들은 종속영양 박테리아는 미세생물 먹이망에서 용존유기탄소와 상위 영양 단계 사이를 연결 해주며, 또한 일차 생산에 의해 생성된 유기탄소를 무기탄소로 전환하여 재순환 시키는 중요한 역할을 수행하고 있음을 시사한다.

수층 생산력이 높은 polynya 해역(Stn 10 and Stn 17) 과 ice-shelf(Stn 19) 그리고 외해 해역(Stn 83)의 저층 퇴적물 내 미생물 군집 구조를 살펴본 결과 구분되는 결과를 보였다. 조사된 모든 지역의 퇴적물 내 미생물 개체수는 표층 퇴적물(0-1 cm depth)에서 1.89×10^7 cells cm^{-3} 에서 9.9×10^7 cells cm^{-3} 범위로 나타났으며, 퇴적 깊이가 증가할수록 감소하였다. 일반적인 해양 퇴적물 내 미생물 개체수는 10^8 cells cm^{-3} 이상으로 분포하는데 비해 낮은 개체수 분포를 보였다. 진정세균의 개체수는

polynya 정점에서 고세균 개체수보다 높은 비율로 전체 미생물 개체수의 약 90%(Stn 10) 및 70%(Stn 17)를 차지하는데 반해 외해 지역에서는 고세균의 비율이 최대 71%까지 나타나 저층 미생물 생태계내 고세균의 역할이 강조되었다. 군집 구조 분석 결과 polynya 지역에서는 Planctomycetes가 두 정점의 전 층에서 우점하여 나타났으며, 외해 정점에서는 Planctomycetes 및 진정세균의 비율은 감소하고, Thaumarchaeota에 속하는 고세균이 매우 우점하여 전체 미생물 군집 내에서 최대 73%를 차지하기도 하였다.

V. 연구개발결과의 활용계획

본 위탁과제를 통해 획득된 아문젠해 해빙역-폴리냐에서의 미생물 생물량 및 생산력의 공간적 분포양상에 대한 정보는 온난화로 인한 해빙의 감소가 급격히 일어나는 극지에서 극지기후변화 및 CO₂ 저장기능에 대한 남극해의 기능 및 변화양상을 밝히는데 중요한 정보를 제공할 것이다.

Summary

I . Title

Microbial ecology in the sea-ice zone of the Amundsen Sea

II. Object and Necessity

Long-term shifts in bacterial parameters have a potential to provide the best warning system for global environmental changes. Therefore, it is particularly important to measure bacterial abundance and metabolic rates and its physico-chemical and biological controls in polar ocean to better understand any shifts in biogeochemical carbon cycles. This study is to elucidate the role of bacteria in controlling the function of Southern Ocean as a CO₂ sink related to climatic changes.

III. Contents and Extents

During the Amundsen Sea polynya expedition from January 31 to March 20, 2012, we investigated the bacterial abundance and production and its coupling to phytoplankton in the polynya, sea-ice zone in the outer shelf, ice shelf and open sea of the Amundsen Sea to elucidate the role of microorganisms in microbial food web and biogeochemical carbon cycles.

IV. Result

Chl-a, DOC, and DON concentrations exhibited higher through the polynya stations and ice-shelf station than those at the marginal zone. Similarly, bacterial abundance and microbial community respiration exhibited higher at the polynya stations and ice-shelf zone compared to those at the marginal zone. During the cruise, January 2014 - February 2014, the relationship between concentrations of CDOM and DOC and prokaryotic abundance is not significant. After late bloom, February 2014, CDOM concentration increased in water column, compared to early bloom, which did not influence the prokaryotic abundance. DOC concentration did not increase after late bloom and was not a significant relationship with prokaryotic abundance. Whereas, a significant linear regression was obtained between the Chl-a and prokaryotic abundance in both early bloom ($r^2=0.2975$, $P<0.0001$, $n=95$) and late bloom ($r^2=0.7426$, $P<0.0001$, $n=47$). However, the correlation was weaker in Jan. (early bloom) than in Feb. (late bloom), which suggested a time-lag between bacteria and phytoplankton growth.

Role of bacteria in microbial loop was compared at two different bloom conditions, i.e., early and late bloom. In February (late bloom), but the prokaryotic production and community respiration rate increased at all stations, which implied that bacteria play a significant role in consuming photosynthetically fixed organic carbon after the bloom in the water column. Overall results indicated that heterotrophic bacteria play a significant role in microbial loop as a trophic link between DOC and higher trophic level and as a sink for the photosynthetically fixed C to respire back to CO_2 in the ASP.

The prokaryotic abundance and community structure between the sediments of the polynya stations, ice-shelf station, and open sea station were different distributions. The prokaryotic abundance calculated from the quantification of 16S rRNA genes appeared as low density at surface sediments of all stations, with $1.9 - 9.9 \times 10^7$ cells cm^{-3} , and decreased with depth. The prokaryotic cell abundances in the sediments of Amundsen Sea showed low cell density compared to general marine sediment ($> 10^8$ cells cm^{-3}).

Bacterial cell numbers were higher than archaeal cell numbers in the polynya stations, occupying 70 - 90% of total prokaryotic abundance, but archaeal proportion of total prokaryotic abundance increased maximum 71% in the open sea station, implying ecological role of archaea is emphasized in the open sea, where organic carbon content in sediment is extremely low. From the 16S rRNA gene analysis, Planctomycetes in Bacteria was as a prominent microbial group in the polynya stations, whereas Thaumarchaeota in Archaea appeared to be the most abundant microbial group (73% of the total prokaryotic 16S rRNA gene sequences) in the open sea sediment.

V. Utilization of research results

Spatial distribution on the bacterial abundance and production obtained along the sea-ice zone, polynya and ice shelf area will provide an information on the role of the Southern Ocean in controlling the carbon cycle and climatic change associated with the global warming in the Antarctic Ocean. The analysis of the abundance and composition of the prokaryotes in the sediment of the Amundsen provides new insights into the roles of prokaryotes in biogeochemical cycles in the Antarctic Ocean.

목 차

| | |
|--------------------------------|----|
| 요 약 문 | 3 |
| 목 차 | 9 |
| 그림목차 | 11 |
| 표 목 차 | 13 |
| | |
| 제 1 장 서론 | 14 |
| | |
| 제 2 장 국내외 기술개발 현황 | 17 |
| | |
| 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 | 19 |
| 제 1 절 연구 지역 및 연구 방법 | 19 |
| 제 2 절 연구 결과 및 토의 | 25 |
| | |
| 제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도 | 37 |
| | |
| 제 5 장 연구개발결과의 활용계획 | 38 |
| | |
| 제 6 장 참고문헌 | 39 |

Contents

| | |
|--|--------|
| Summary | 6 |
| Contents | 10 |
| List of figures | 11 |
| List of tables | 13 |
| Chapter 1 Introduction | 14 |
| Chapter 2 Internal and external technical developments status | 17 |
| Chapter 3 Content and results of the study | 19 |
| Section 1 Study area and sampling | 19 |
| Section 2 Results and discussion | 25 |
| Chapter 4 Achievement of research and development and external contributions | 37 |
| Chapter 5 Application plans of the results of the study | 38 |
| Chapter 6 References | 39 |

List of Figures

| | |
|--|----|
| Figure 1. Sampling stations(a) and ice coverage (b) in the Amundsen Sea polynya (ASP) | 20 |
| Figure 2. Basic manipulation for stable isotope probing | 23 |
| Figure 3. Distribution of CDOM in Jan. and Feb.(14-re) in the Amundsen Sea | 25 |
| Figure 4. Chemical and microbiological parameters in January, 2014 (early bloom) | 26 |
| Figure 5. Relationship between CDOM, DOC and bacterial abundance, community respiration at early bloom | 27 |
| Figure 6. Relationship between CDOM, DOC and bacterial abundance, community respiration at early bloom and late bloom | 28 |
| Figure 7. Relationship between Chl-a and bacterial abundance | 28 |
| Figure 8. Bacterial carbon biomass, bacterial production, phytoplankton biomass (Chl-C), primary production, BCB:Chl-C ratio, and BP:PP ratio | 29 |
| Figure 9. Distribution of geochemical constituents(NH_4^+ , NO_x , PO_4^{3-} , Fe^{2+}) in porewater and sulfate reduction rate and microbial parameters (DNA concentration, prokaryotic abundance from 16S rRNA gene quantification, microbial community composition) in the sediment of the polynya area (Stn 10 and Stn 17) of the Amundsen Sea in 2012. | 33 |

Figure 10. Distribution of geochemical constituents(NH_4^+ , NO_x , PO_4^{3-} , Fe^{2+}) in porewater and sulfate reduction rate and microbial parameters (DNA concentration, prokaryotic abundance from 16S rRNA gene quantification, microbial community composition) in the sediment of the ice shelf zone (Stn 19) and open sea (Stn 83) of the Amundsen Sea in 2012. 34



List of Tables

| | |
|---|----|
| Table 1. Primer sequences for real time PCR assays and cloning of 16S RNA gene used in this study | 24 |
| Table 2. The prokaryotic abundances calculated by the Q-PCR of 16S rRNA gene in the sediment of the Amundsen Sea | 31 |



제 1 장 서론

남극 해는 수층 내 높은 생산력과 심층수의 형성으로 인해 전지구적 탄소 순환에 중요한 역할을 수행하고 있다(Sarmiento and Toggweiler 1984, Sarmiento and Le Quéré 1996, Le Quéré et al. 2007, Takahashi et al. 2009). 특히 남극 해 연안에 형성되는 폴리냐는(polynya)는 해빙으로 둘러싸인 지역에 생긴 해역으로서 주변에 비해 얼음 층의 두께가 상대적으로 얇기 때문에 기후변화에 따른 생태계 변화가 가장 먼저 포착되는 곳으로 인식된다(Smith and Barber 2007). 일반적으로 polynya에서는 표층의 양호한 광조건으로 인해 일차생산력이 높게 나타나며, 이로 인한 저층으로의 유기물 플럭스가 높게 나타난다. 특히, 서남극해의 Amundsen Sea Polynya(ASP)는 단위면적 당 생산력이 $161 \text{ g C m}^{-2} \text{ y}^{-1}$ 으로 남극에서 가장 높게 나타나는 지역 중 한곳으로, 식물플랑크톤 대증식 기간 동안 높은 클로로필의 농도를 나타내며, 일차생산력과 생물량의 연간변화(interannual variability)가 변화가 기존에 연구된 Ross Sea Polynya(RSP)보다 더 심한 곳으로 인식 된다(<http://antarcticaspire.org/research>). 폴리냐 수층 내 높은 생산력은 대기 중 이산화 탄소를 격리 시키는 생물펌프를 강화시키는 원인이 되기도 한다.

하지만 일차생산자에 의해 전환 된 유기탄소는 입자성 유기탄소의 형태로 저층으로 침강하는 동안 수층에서 분해되거나, 퇴적물 내에서 미생물에 의한 분해를 통해 상당부분 무기탄소로 전환되어 다시 수층으로 재순환된다. 이러한 미생물 호흡과정을 통한 무기탄소의 재순환은 생물펌프를 통한 대기로 부터의 탄소 격리(carbon sequestration)을 약화시키는 역할을 한다. 수층에서 미생물 호흡을 통한 유기물 분해 및 이산화탄소의 되먹임(feed back)은 온난화로 인한 극지의 수온 상승 시 더욱 증가되는 것으로 인식된다. 예로서, Kirchman et al. (2009)은 수온이 -1.8°C 에서 4°C 로 증가하면 박테리아 생산력(BP)과 일차생산력(PP)의 비율(BP/PP)이 증가하여, 수층으로의 CO_2 재순환이 증가할 수 있음을 보였다. 따라서 ASP 수층의 생산력 변화에 따른 수층에서 호흡에 의한 유기물 분해 및 이에 따른 무기탄소의 재순환 그리고 유기물 분해에 관여하는 미생물 군집에 대한 연구는 아문젠 해빙역에서 온난화에 따른 수층의 탄소순환을 이해하고, 탄소저장고로서의 극지해양의 역할을 평가하기 위해 필수적으로 수행되어야 할 연구 분야이다.

종속 영양 미생물(heterotrophic prokaryotes)은 수층 내 환경에서 생지화학적 탄소 순환을 조절하는 중요한 구성원으로써(Kirchman 2008), 입자성 유기물(particulate organic carbon, POC)을 용해하고, 수층 내 빠른 용존 유기물(dissolved organic carbon, DOC) 순환에 중요한 역할을 수행한다(Carlson 2002, Nagata 2008). 종속영양 미생물에 의해 공급된 DOC는 미세생물 먹이망(microbial loop)를 통해 상위 영양단계로 에너지를 전달하는 역할을 하기도 하며, 호흡단계를 통해 이산화탄소로 배출되기도 한다. 결국, 높은 생산력으로 수층 내 유기탄소 공급이 높은 아문젠해 폴리냐 해역에서 종속영양 미생물의 생물량 및 호흡율과 일차생산 및 용존 유기탄소 농도분포와의 상관관계를 이해하는 것은 전지구적 탄소 순환을 이해하는데 중요하다.

한편, 수층으로부터 퇴적물로 공급된 유기물은 종속영양미생물의 호흡 과정을 통해 무기탄소로 재순환되며, 이 과정에 암모니아, 인산염과 같은 영양염이 함께 배출 되기도 한다. 수층으로부터 표층 퇴적물로 공급된 유기물은 대부분 호기성 미생물 군에 의해 분해되게 된다. 하지만 유기물 공급이 높은 퇴적환경에서는 표층 수 mm 이내에서 산소가 고갈되기 때문에 산소 대신 다양한 전자 수용체(질산염, 산화망간, 산화철, 황산염)를 이용하는 미생물 군들의 호흡 작용으로 인해 표층 수 cm 이내에서 다양한 원소들의 수직적 분포가 결정되기도 한다. 즉, 퇴적물 내 미생물 군집 분포는 유입되는 유기물의 종류와 양, 그리고 전자 수용체의 존재에 영향을 받으며, 결국 퇴적물 내 미생물 군집 구조를 파악하는 것은 탄소 및 원소들의 거동 이해하는데 필수적이다.

높은 수층 생산력을 지닌 아문젠 폴리냐는 수층에서 생성된 유기물의 대부분이 수층에서 분해되어 저층 퇴적물에 도달하는 양이 상대적으로 적어 퇴적물 내 유기탄소 함량은 0.7 - 1.0%로 보고되었으며, 이에 따라 총 유기물 분해율을 의미하는 산소소모율과 황산염 환원력이 낮은 것으로 조사되었다(Kim et al, 2016). 한편, sea-ice가 분포하는 open sea의 수층 내 일차 생산력은 폴리냐 해역보다 낮으며(Kim et al. 2014a), 미생물 생산력(bacterial production) 또한 현저히 낮게 나타났다(Hyun et al. 2016). 이에 따라 퇴적물 내의 유기탄소 함량은 0.4 - 0.5%로 낮게 나타났으며, 유기물 분해율 또한 폴리냐 지역에서 보다 낮은 것으로 보고되었다(Kim et al. 2016). 대조적인 특징을 가진 두 지역에서 탈질산화에 관여하는 기능성 유전자의 정량 결과 폴리냐 지역에서 더 높게 나타났으며, 혐기성 암모니

아 산화 (anaerobic ammonia oxidation, anammox)와 연관된 미생물 그룹은 폴리냐 지역에서 표층 3 cm 깊이까지 증가하는 양상으로 조사되었고, 외해지역에서는 4 cm 깊이 부근에서만 10^5 copies cm^{-3} 수준으로 검출되어 두 지역 내 서식하는 미생물 군집이 서로 다르게 분포하고 있음을 시사하였다 (Choi et al. 2016).

본 연구에서는 서로 다른 특징을 가진 남극 아문젠 해역의 폴리냐 지역과 외해에서 (1) 수층 내 박테리아 생물량 및 호흡율과 일차생산력 및 용존 유기탄소 농도분포와의 연관관계 분석하고자 하였으며, (2) 수층 내 일차 생산력 및 용존 유기 탄소 분포와 퇴적물 내 미생물 군집 분포간의 관계를 알아보하고자 하였다.



제 2 장 국내외 기술개발 현황

현재까지 북극의 Northeast Water(NEW), North Water(NOW) 지역 그리고 남극의 Ross Sea Polynya (RSP)에서 수층의 박테리아 생태와 생물펌프의 기능과 관련한 미생물의 역할 등에 관한 연구가 진행되었으나(Ducklow and Yager 2006), 아문젠해의 polynya에서는 상대적으로 많은 연구가 이루어지지 않았다.

남극의 polynya 지역에서의 부유생태계 연구는: (1) 1994년 11월-12월과 1995년 12월- 1996년 1월에 수행된 미국의 Ross Sea Polynya Project (Smith and Gordon 1997), (2) 1996년-1998년 사이 Ross Sea에서의 해양-대기변동과 생태계 반응연구(Research on Ocean-Atmosphere Variability and Ecosystem Response in the Ross Sea; ROAVERRS) (Arrigo et al. 1999), (3) 1996년 10월-1997년 12월에 US JGOFS의 일환으로 수행된 남극환경과 남극해 과정연구(Antarctic Environment and Southern Ocean Process Study; AESOPS) (Smith et al. 2000a)등이 있었다.

Amundsen Sea Polynya에서는 2007년에 스웨덴 연구팀에 의해 단기간의 현장 연구가 이루어진 이래, 2010년 12월에 미국과 스웨덴이 ASPIRE (Amundsen Sea Polynya International Research Expedition; <http://antarcticaspire.org/research>)를 국제공동 연구로 수행하였다. 현재까지 알려진 Amundsen Sea Polynya(ASP)는 단위면적 당 생산력이 가장 높고 식물플랑크톤 대증식 기간 동안 높은 클로로필의 농도를 나타내며, 일차생산력과 생물량의 연간변화(interannual variability)가 변화가 기존에 연구된 RSP보다 더 심한 곳으로 인식된다.

아문젠해 내 polynya에서 미생물의 생태에 관한 연구는 최근에 ASPIRE 팀에 의한 남극 아문젠해의 해양-생태연구에 대한 예비결과를 요약 논문이 게재된 바 있으며(Yager et al. 2012), 최근(2012년 2-3월)에 극지연구소의 아문젠 해역 탐사의 일환으로 남극해 하계대증식 후반부에 미생물 요인과 환경요인간의 심도 있는 연구가 이루어 졌다(Hyun et al 2016). 그 결과 아문젠 해역에서 폴리나 중심부에서 미생물 생체량 및 생산력이 가장 높게 나타났으며, 이는 일차생산력과 매우 밀접한 상관관계를 보였다. 또한 높은 수층 내 생산력을 지닌 아문젠 해역의 퇴적물 내 유기물 분해율 및 질소제거율에 대한 연구 결과도 보고되었다(Kim et al 2016, Choi et al. 2016). 폴리나 수층 내 높은 생산력에 비해 퇴적물 내 유기물 함량은 매우 낮게 나

타났으며, 유기물 분해율도 낮은 것으로 조사되어 수층에서 생산된 유기물의 대부분은 수층에서 분해되는 것으로 보고되었다. 한편, 폴리냐 지역 및 외해 퇴적물내 탈질소화를 비교하여 본 결과 수층 내 일차 생산자에 의한 유기물 공급이 원활한 폴리냐 해역의 퇴적물에서 질소 제거율에 대한 잠재력이 더 높은 것으로 나타났다.

본 보고서를 통해 정리된 아문젠해 폴리냐에서의 박테리아 생물량 및 생산력 분포와 조절요인으로서 제시된 용존 유기탄소와의 상관관계에 대한 결과는 향후 다른 연구결과 (export flux, benthic mineralization, 수층의 $p\text{CO}_2$ 등)과의 종합적인 분석을 통해 아문젠 해빙 해역내의 탄소순환 및 생물펌프의 기능을 이해하는데 핵심적인 정보를 제공할 것이다. 또한, 폴리냐 해역과 외해 저층 퇴적물 내 서식하는 미생물 군집 구조를 서로 비교함으로써 수층 생산력과 저층 미생물 군집 구조간의 상관관계를 이해하고 원소 및 탄소 순환을 이해하기 위한 기초 자료를 제공할 것이다.



제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

제 1 절 연구 지역 및 연구 방법

1. 연구 지역 및 시료 채집

2013 - 2014년 남극해 하계 기간 동안 아라온 호 승선연구를 통해 아문젠 해를 중심으로 open sea 정점(Stns 1, 2), marginal sea 정점 (Stns 3, 4, 5), polynya 정점 (Stns 10, 13, 14, 19, 27) 그리고 Dotson 해역의 ice-shelf 정점 (Stns 22, 24, 26)과 Gets 해역의 ice-shelf 정점 (Stns 28, 30, 32)에서 초기 대증식 시기에 조사를 수행하였다(Fig. 1a). 여기서 polynya는 sea-ice coverage가 표면적의 10% 이하인 곳을 의미한다(Fig. 1b).

조사가 이루어진 총 16개 정점 중 5개 정점(Stn2 (open sea), Stn4 (outer shelf), Stn14 and Stn19 (polyna center) 및 Stn26 (ice shelf))에서 폴리냐 및 주변 해역 수층 내 서식하는 미생물 군집에 대한 정량 및 정성적인 분석 연구를 위하여 해수를 채취하였다. 핵산 추출을 위한 해수 4리터를 0.22 μm 의 membrane filter를 이용하여 여과한 후 급속 냉동 보관하여 유전자 분석을 위한 시료로 확보하였다.

퇴적물 내 미생물 군집의 정량 및 정성 분석을 위한 퇴적물 시료는 2011년 -2012년도에 걸쳐 이루어진 아문젠 해 탐사시 box corer 또는 multi corer를 이용하여 polynya 정점 (Stn 10 and Stn 17), ice-shelf 정점 (Stn 19), 그리고 외해해역 (Stn 83)에서 채취되었다.

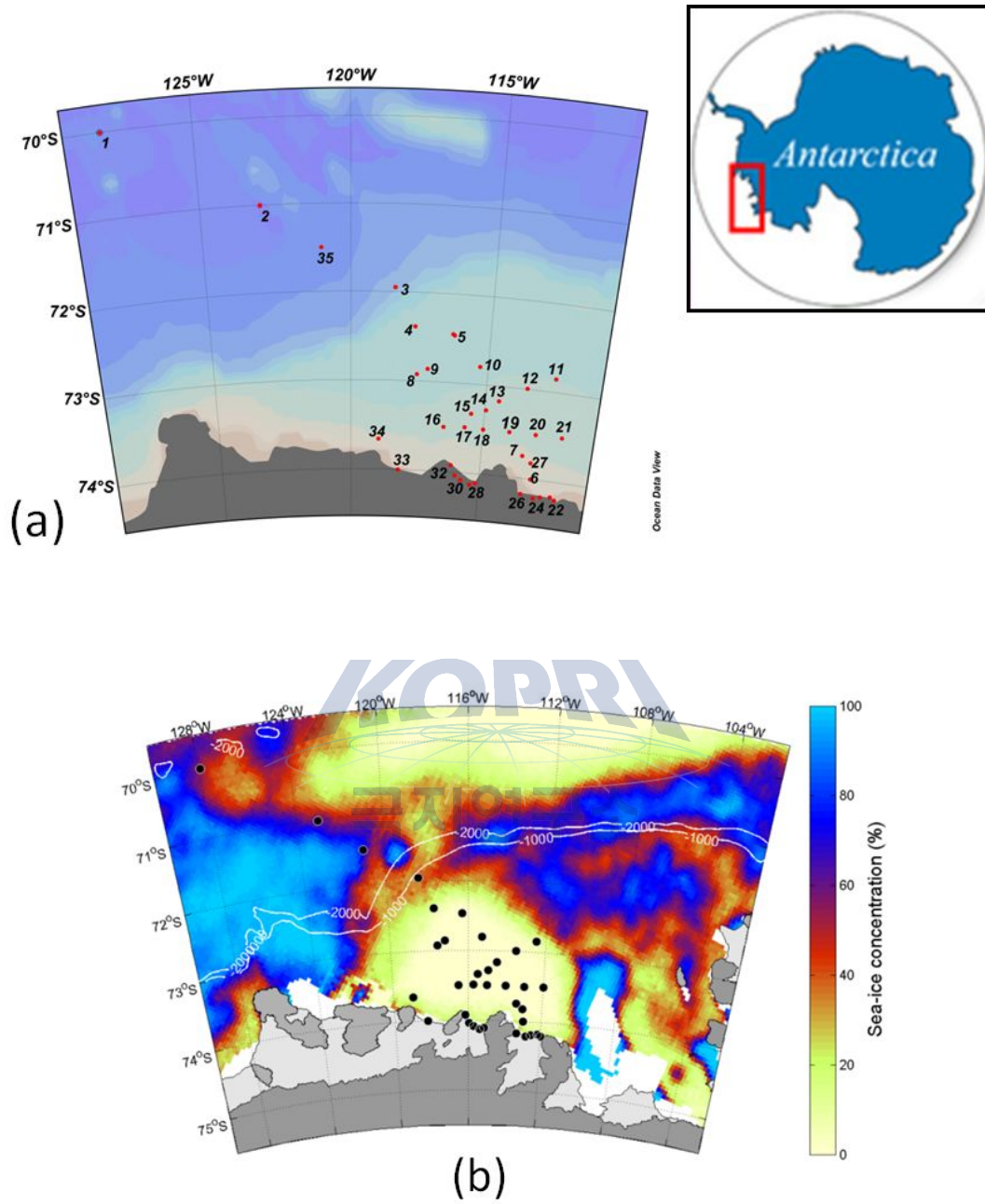


Fig. 1. Sampling stations(a) and ice coverage (b) in the Amundsen Sea polynya (ASP)

2. 환경 요인 분석

수층 엽록소 a는 해수 시료를 GF/F 로 필터링 한 뒤 90% 아세톤을 넣은 후 암소에서 24시간 동안 엽록소를 추출한 후, spectrophotometer (Shimadzu, UV-2401 PC)를 이용하여 분석하였다(Parsons et al., 1984). Chromophoric dissolved organic matter (CDOM) 분석을 위해 해수 시료는 증류수로 세척하여 준비한 0.2 μm syringe filter를 통해 여과된 해수를 150 ml 암병에 넣고 냉장 상태로 보관하였다(Stedmon and Markager, 2001). 시료의 흡광도는 10-cm 석영 셀을 통해 double-beam Shimadzu UV - 1800 spectrophotometer을 이용하여 350-900 nm 파장으로 분석하였다. 석영 셀은 증류수를 이용하여 세척하여 준비하여 이용하였다. 흡광도 375 nm 에서 측정되었으며, 375 nm에서의 흡광계수를 이용하여 계산하였다(Kowalczyk et al. 2005):

$$\text{CDOM}_{(375)} = 2.303A/l$$

(A is the absorbance at 375 nm and l is the cuvette path length (m).)

3. 미생물적 요인

3-1) 박테리아 세포수 및 생체량

박테리아 세포 수의 정량을 위해 채수한 해수를 글루타르 알데하이드 (glutaraldehyde)로 고정(최종농도 1%)한 후 실험실에서의 분석 때 까지 -20°C 에 서 냉동 보관하였으며(Hyun and Yang, 2003), DAPI 염색 방법을 이용하여 미생물 세포를 염색한 후 형광현미경(Zeiss Axiophot)을 이용하여 계수 하였으며 (Porter and Feig, 1980), 세포의 탄소량은 세포 당 20 fg C을 사용하여 계산하였다(Lee and Fuhrman 1997).

3-2) 박테리아 호흡률

군집 호흡률은 시간에 따른 용존산소의 감소율로 계산하며, 용존산소는 Labasque et al. (2004)에 따라 분석하였다. 해수 샘플을 300 ml BOD 병에 overflow 시켜 채수한 후, 해수순환이 이루어지는 암소에서 현장온도로 배양하였다. 각 샘플은 일정한 시간 간격에 따라 배양을 멈추고 고정시약(Manganese chloride solution, 2 ml; alkaline iodide solution, 2 ml)을 첨가한 후, 즉시 마개를 닫고 BOD병을 흔들어 준다. 분석시에 sulphuric acid 2 ml을 첨가한 후, spectrophotometer (Shimadze, UV-1800)를 이용하여 466 nm에서 5분 이내로 흡광도를 측정하였다.

4. Stable-isotope probing을 위한 해수 시료 배양

수층 내 특정 유기물 분해와 관련된 미생물 군집 분포 특성을 조사하기 위해 수층 내 유기물 (glucose, leucine) 분해 미생물 군집 및 biocarbonate를 탄소원으로 이용하는 미생물 군집을 알아보하고자 하여 해수 4리터에 안정동위원소 ^{13}C 로 표지된 기질을 매일 각각 투여하여 약 8일 동안 현장 조건으로 배양하였다. 또한 기질을 첨가하지 않고 같은 조건으로 해수시료를 배양하여 대조구로 설정하였다. 배양 초기 (0일), 배양 후 4일, 그리고 배양 후 8일의 시료를 각각 0.22 μm 의 membrane filter를 이용하여 여과한 후 여과지를 냉동 보관하여 stable-isotope probing (SIP) 분석을 위한 시료를 확보하였다. 향후 핵산을 추출하여 Whiteley et al. (2007) 방법에 따라 Fig. 2와 같은 흐름으로 수층 내 유기물을 직접 분해하는 미생물 군집을 검출해 내하고자 한다.

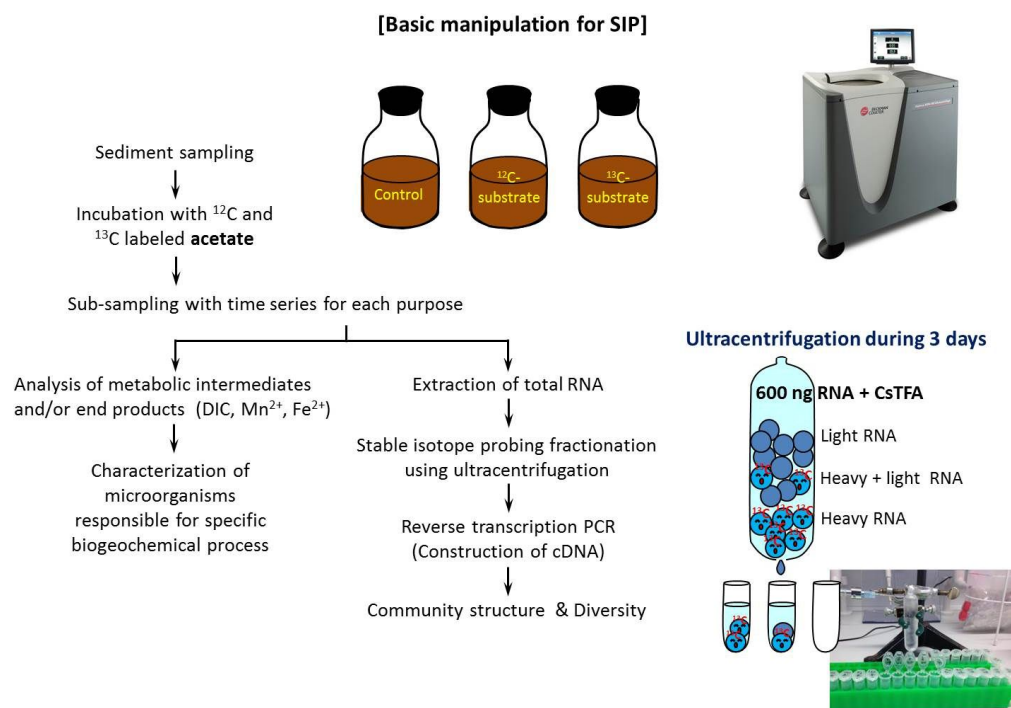


Fig. 2. Basic manipulation for stable isotope probing

5. 해수 및 퇴적물 내 미생물 군집 구조 분석

5-1) 핵산 추출

Polynya 정점 2 곳, ice-shelf 지역 1 곳, 외해 정점 1곳에서 표층부터 약 20 cm 깊이까지 깊이별로 얻어진 퇴적물 시료 48개를 대상으로 퇴적물 내 핵산을 추출하였다. 각 정점별 깊이별 얻어진 퇴적물 약 10 g을 PowerMax Soil DNA Isolation Kit(Mobio Co, USA)을 이용하여 추출하였으며, 추출된 DNA는 Nanodrop을 이용하여 순도 및 농도를 측정하였다. 수층 내 핵산 추출은 현재 연구실에서 진행 중에 있으며, 해수를 여과하여 얻어진 여과지를 PowerWater DNA Isolation Kit(Mobio Co, USA)에 적용하여 제조사 방법대로 처리하여 핵산을 추출하고 있다. 향후 수층 내 미생물 군집 구조분석 및 stable-isotope probing분석을 위한 주형으로 이용할 예정이다.

5-2) 미생물 생체량 정량 및 다양성 분석

퇴적물로부터 추출된 핵산 내 진정 세균(Bacteria) 및 고세균(Archaea)의 16S rRNA gene을 정량하기 위하여 TaqMan assay 방법을 이용하였으며, 정량에 사용한 primer와 probe들의 염기서열은 표에 나타내었으며, 미생물 군집 조성 분석은 극지연구소 황청연 박사님 연구실에서 수행되었다.

TABLE 1. Primer sequences for real time PCR assays of 16S RNA gene used in this study

| Targeted group | Primer/probe | Sequence (5'-3') | Reference |
|-----------------|--------------|------------------------------------|---------------------------|
| <i>Archaea</i> | 349F | GYG CAS CAG KCG MGA AW | Takai and Horikoshi, 2000 |
| | 806R | GGA CTA CVS GGG TAT CTA AT | Takai and Horikoshi, 2000 |
| | 516F | TGY CAG CCG CCG CGG TAA HAC CVG C | Takai and Horikoshi, 2000 |
| <i>Bacteria</i> | 331F | TCC TAC GGG AGG CAG CAG T | Nadkarni et al., 2002 |
| | 797R | GGA CTA CCA GGG TAT CTA ATC CTG TT | Nadkarni et al., 2002 |
| | 518F | CGT ATT ACC GCG GCT GGC AC | Nadkarni et al., 2002 |



제 2 절 연구 결과 및 토의

1. 수층 내 미생물

1-1. 수층 내 환경 요인 및 미생물 생체량 및 호흡율(early blom)

남극 아문젠 해역의 수층 내 초기 대증식 기간(early bloom) 동안 표층 환경에서는 Chl-a, DOC 그리고 DON의 농도는 polynya 중심부와 ice-shelf 지역에서 sea-ice가 분포된 marginal zone에서 보다 높게 측정되었다. 이에 따라 미생물 세포수 (BA, bacterial abundance)와 미생물 군집 호흡율 (CR, microbial community respiration)이 polynya 중심부와 ice-shelf 지역에서 더 높게 나타났다(Fig. 4).

중층 내 환경에서 DOC와 DON의 농도가 polynya 지역에서 외해와 marginal zone에서보다 높게 나타났으며, BA 또한 polynya 지역과 ice-shelf 지역에서 높게 측정되었다(Fig. 4). CR은 polynya 중심부에서 가장 높게 나타났고, sea-ice가 분포하는 외해 정점과 marginal ice zone 정점에서 낮게 조사되었다. CDOM은 marginal ice zone에서 가장 낮은 분포를 보였고, ice shelf 지역에서 비교적 높은 농도 분포를 보였다(Fig. 3). Polynya 중심부에서는 ice shelf 지역에서보다 CDOM 농도가 낮게 나타났으나, 1월 초기 대증식 이후 2월에는 급격히 증가하였다. 즉, 일차 생산자의 대증식은 수층 내 CDOM의 농도를 증가시키는 중요한 요소인 것으로 나타났다.

Fig.3 Distribution of CDOM in Jan. and Feb.(14-re) in the Amundsen Sea



Fig.4. Chemical and microbiological parameters in January, 2014 (early bloom)

1-2. 일차 생산 대증식 전 후 미생물 생체량

식물플랑크톤의 대증식 초기시기에 조사된 CDOM 및 DOC 농도와 미생물 생체량 그리고 호흡율의 상관관계는 Fig. 5에 나타내었다.



Fig. 5. Relationship between CDOM, DOC and bacterial abundance, community respiration at early bloom

CDOM 농도와 미생물 생체량 상관관계는 낮은 것으로 나타났으며, 호흡율과는 오히려 음의 상관관계를 갖는 것으로 나타났다. DOC와 미생물 생체량 및 호흡율의 상관관계 또한 낮게 나타났다. 대증식 이후인 2월에 조사된 CDOM 및 DOC 농도와 미생물 생체량의 상관관계를 Fig. 5 덧붙여 Fig. 6에 나타내었다. 수층 내 일차 생산자의 대증식 이후 CDOM의 농도는 증가했으나, 미생물 생체량 변화에 큰 영향을 주지는 못하는 것으로 조사되었고, 수층 내 DOC 농도는 대증식 이후 큰 변화는 보이지 않았고, 미생물 생체량과 상관관계에도 영향을 주지 못했다.



Fig. 6. Relationship between CDOM, DOC and bacterial abundance, community respiration at early bloom and late bloom

수층 내 대증식 전후 모두 미생물 생체량은 일차 생산자의 생체량과 밀접한 상관관계를 나타냈다(Fig. 7). 일반적으로 박테리아는 일차생산자의 현존량과 밀접한 연관관계를 가지지만, 이 연관관계가 1월(early bloom)에는 2월(late bloom)보다 약하게 형성된다. 이는 박테리아와 일차생산의 성장간의 time-lag를 의미한다.



Fig. 7. Relationship between Chl-a and bacterial abundance

1-3. 미세 생물 먹이망에서 종속영양 미생물의 역할

미세생물 먹이망 (microbial loop) 내에서 종속영양 미생물들의 역할을 알아보기 위해 일차생산의 대증식 초기 기간과 대증식 후기 기간 동안 bacterial carbon biomass (BCB)와 bacterial production (BP)를 비교하였다(Fig. 8). 그 결과 초기 대증식기 인 1월에 BCB와 BP는 모든 정점에서 식물플랑크톤의 생체량과 생산력에 비해 3% 이하 그리고 10%를 차지하였다. 2월에는(대증식 후기) BCB:Chl-a 비율이 여전히 낮는데 반해, BP는 외해지역에서 10%, maginal ice zone에서는 20% 이상, 그리고 polynya에서는 45%이상으로 증가하였다. 이것은 대증식 이후 종속영양 미생물들이 일차생산자에 의해 생성된 유기물을 분해하였음을 의미한다.

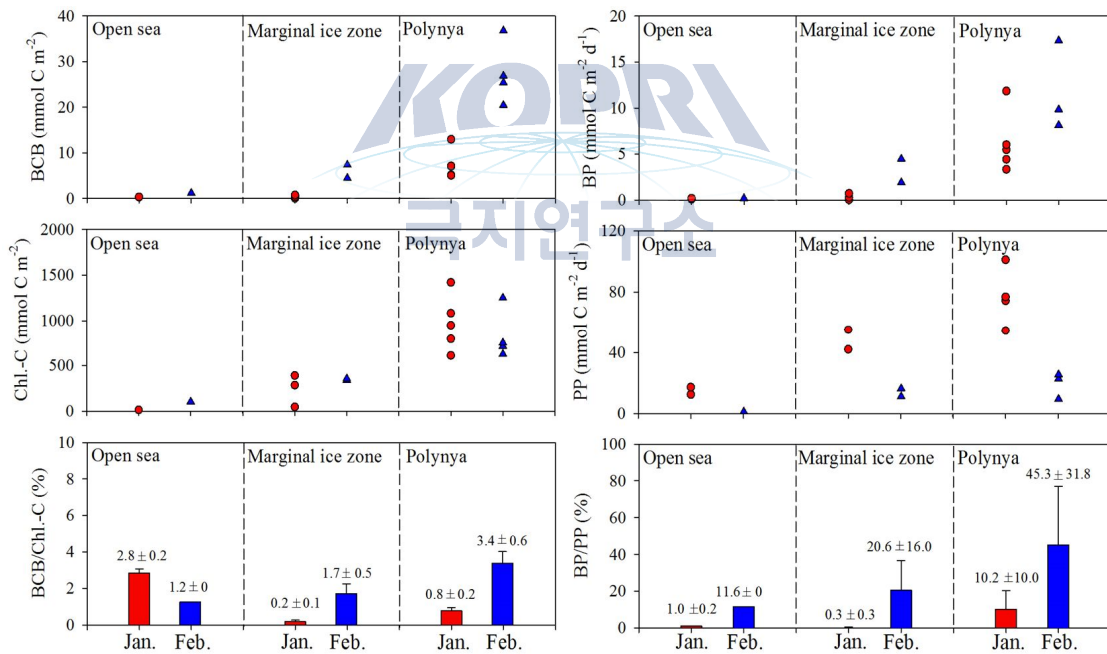


Fig. 8. Bacterial carbon biomass, bacterial production, phytoplankton biomass (Chl-C), primary production, BCB:Chl-C ratio, and BP:PP ratio

Polynya 중심부에서 박테리아와 일차생산자가 서로 비교적 약한 상관관계를 보이긴 하지만 높은 박테리아 호흡율 (CR)은 아문젠해 polynya 수층 내 대부분의 유기탄소는 저층 퇴적물로 가라앉기 전에 미생물 호흡에 의해 이산화탄소

로 전환되고 있음을 의미한다. 한편, 대증식기 이후 높은 BP:PP의 비율(i.e., 0.2 in marginal ice zone and 0.45 in the polynya) 및 일차 생산자의 현존량과 박테리아 현존량 사이의 강한 양의 상관관계에도 불구하고, 낮은 BCB:Chl-a 비율은 원생동물에 의한 섭식으로 미생물의 현존량이 감소했기 때문이다. 이상의 결과들은 종속영양 박테리아는 미세생물 먹이망에서 용존 유기탄소와 상위 영양 단계 사이를 연결 해주며, 또한 일차생산에 의해 생성된 유기탄소를 무기탄소로 전환하여 재순환 시키는 중요한 역할을 수행하고 있음을 시사한다.

2. 아문젠 해역 퇴적물 내 미생물 군집 분포

2-1. 퇴적물 내 미생물 생체량

2012년도 아문젠해 아라온 승선 연구시 채집된 퇴적물 내 미생물 군집 구조를 살펴보기 위해 DNA를 추출하여 16S rRNA gene을 정량하고, 염기서열 분석을 실시하였다. Polynya 중심부에 위치한 정점, ice-shelf가 위치한 정점, 외해 정점에서 추출된 DNA는 표층에서 가장 높은 농도를 보이고 퇴적 깊이가 증가할수록 농도가 감소하는 양상을 보였다. 퇴적물 내 미생물 현존량의 정량은 진정세균(Bacteria)과 고세균(Archaea)으로 구분하여 16S rRNA gene을 정량 PCR하여 copy number를 산출 해 낸 후, 진정세균은 세포당 4.1, 그리고 고세균은 세포당 1.5로 나누어 세포수를 계산하였다(Klappenbach et al. 2001). Polynya 중심부에 위치한 Stn10에서는 퇴적물 표층에서 진정세균은 1.67×10^7 cells cm⁻³, 고세균은 2.16×10^6 cells cm⁻³로 가장 높게 나타났다으며, 표층에서부터 저층 18 cm 깊이에 이르기까지 진정세균의 비율이 전체 미생물 세포수의 약 90%를 차지하였다. Stn17 표층에서 진정세균은 3.2×10^7 cells cm⁻³으로 검출되었고 저층 12 cm 깊이에서는 약 3배 감소하였다. 고세균의 경우 표층에서 1.47×10^7 cells cm⁻³으로 검출되었고, 저층으로 갈수록 4배 감소하였다. Stn10 정점에서보다 전체 미생물 세포수 중 고세균이 차지하는 비율이 최대 41%까지 증가하였다(Fig. 9).

한편, ice-shelf지역에 위치한 정점 Stn19에서는 표층에서 네 개 정점 중 가장 높은 세포수를 보였으며, 진정 세균은 6.78×10^7 cells cm⁻³ 그리고 고

세균은 3.11×10^7 cells cm^{-3} 으로 검출되었다. 퇴적깊이가 증가 할수록 고세균이 전체 미생물 세포수 중 차지하는 비율이 증가하여 최대 60%까지 고세균이 차지하는 것으로 조사되었다. 외해에 위치한 sea-ice 지역의 정점 Stn83에서는 표층 퇴적물에서 진정 세균은 2.04×10^7 cells cm^{-3} 으로 나타났고, 퇴적 깊이 6 cm 이하에서는 그 수가 급격히 감소하여 10 cm 부근에서는 4.05×10^4 cells cm^{-3} 까지 낮게 나타났다. 고세균은 1.05×10^7 cells cm^{-3} 으로 검출되었고, 전체 미생물 개체수 중 고세균이 차지하는 비율이 네 정점 중 가장 높은 비율인 최대 70%까지 나타났으며, 1-2 cm 깊이 이하에서는 고세균의 세포수가 진정세균의 세포수보다 많은 것으로 조사되었다(Fig. 10).

Table 2. The prokaryotic abundances calculated by the Q-PCR of 16S rRNA gene in the sediment of the Amundsen Sea

| Depth (cm) | Total prokaryotic cells cm^{-3} | | | | Bacterial cells cm^{-3} | | | | Archaeal cells cm^{-3} | | | |
|---------------|--|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | Stn10 | Stn17 | Stn19 | Stn83 | Stn10 | Stn17 | Stn19 | Stn83 | Stn10 | Stn17 | Stn19 | Stn83 |
| 0-1 | 1.89×10^7 | 4.67×10^7 | 9.90×10^7 | 3.09×10^7 | 1.67×10^7 | 3.20×10^7 | 6.78×10^7 | 2.04×10^7 | 2.16×10^6 | 1.47×10^7 | 3.11×10^7 | 1.05×10^7 |
| 1-2 | 1.30×10^7 | 4.89×10^7 | 6.03×10^7 | 3.06×10^7 | 1.20×10^7 | 3.09×10^7 | 4.01×10^7 | 1.40×10^7 | 9.68×10^5 | 1.80×10^7 | 2.02×10^7 | 1.66×10^7 |
| 2-3 | | 5.93×10^7 | 5.92×10^7 | | | 3.52×10^7 | 3.72×10^7 | | | 2.41×10^7 | 2.20×10^7 | |
| 3-4 | 2.25×10^7 | 4.76×10^7 | 4.57×10^7 | 2.24×10^7 | 2.06×10^7 | 3.20×10^7 | 2.89×10^7 | 1.56×10^7 | 1.84×10^6 | 1.56×10^7 | 1.69×10^7 | 6.79×10^6 |
| 4-5 | 9.90×10^6 | 3.45×10^7 | 3.82×10^7 | 4.00×10^7 | 9.13×10^6 | 2.80×10^7 | 2.45×10^7 | 2.33×10^7 | 7.74×10^5 | 6.43×10^6 | 1.37×10^7 | 1.67×10^7 |
| 5-6 | 1.69×10^7 | 3.29×10^7 | 3.68×10^7 | 1.27×10^7 | 1.60×10^7 | 2.13×10^7 | 2.08×10^7 | 6.00×10^6 | 9.10×10^5 | 1.15×10^7 | 1.60×10^7 | 6.69×10^6 |
| 6-7 | 1.16×10^6 | 3.53×10^7 | 4.97×10^6 | 8.12×10^5 | 1.06×10^6 | 2.19×10^7 | 3.02×10^6 | 4.08×10^5 | 9.40×10^4 | 1.35×10^7 | 1.96×10^6 | 4.05×10^5 |
| 7-8 | 1.17×10^7 | 2.47×10^7 | 1.29×10^7 | 1.33×10^6 | 1.08×10^7 | 1.61×10^7 | 8.16×10^6 | 5.76×10^5 | 9.70×10^5 | 8.58×10^6 | 4.78×10^6 | 7.57×10^5 |
| 8-9 | 1.70×10^7 | 2.31×10^7 | 6.31×10^6 | 1.21×10^6 | 1.60×10^7 | 1.49×10^7 | 3.43×10^6 | 3.55×10^5 | 1.00×10^6 | 8.25×10^6 | 2.89×10^6 | 8.56×10^5 |
| 9-10 | | 1.79×10^7 | 2.03×10^6 | 8.51×10^4 | | 1.22×10^7 | 9.52×10^5 | 4.05×10^4 | | 5.72×10^6 | 1.07×10^6 | 4.46×10^4 |
| 10-12 | 1.64×10^7 | 1.66×10^7 | 1.25×10^6 | 3.25×10^6 | 1.51×10^7 | 1.30×10^7 | 5.09×10^5 | 1.20×10^6 | 1.37×10^6 | 3.62×10^6 | 7.43×10^5 | 2.05×10^6 |
| 12-14 | 5.33×10^6 | | 1.19×10^6 | 2.06×10^6 | 4.77×10^6 | | 5.54×10^5 | 8.73×10^5 | 5.61×10^5 | | 6.39×10^5 | 1.19×10^6 |
| 14-16 | 2.05×10^6 | | 1.32×10^6 | 3.55×10^6 | 1.84×10^6 | | 5.59×10^5 | 1.24×10^6 | 2.07×10^5 | | 7.65×10^5 | 2.30×10^6 |
| 16-18 | 6.58×10^6 | | | | 5.96×10^6 | | | | 6.18×10^5 | | | |

아문젠 해 polynya를 중심으로 퇴적물 내 미생물 개체수를 정량한 결과, 모든 정점의 표층 퇴적물(0-3 cm depth)에서는 $> 10^7$ cells cm^{-3} 으로 나타났으나, 수층 생산력이 높은 polynya 중심부에서는 표층부터 저층까지 미생물 개체수 분포는 ice-shelf 지역이나 sea-ice 지역에서보다 높게 나타났고(Table 2), 진정세균의 개체수가 더 높게 나타났다. 반면, 외해쪽으로 갈수록 퇴적 깊이가 증가함에 따라 미생물 개체수는 급격히 감소하였고, 고세균의 비율이 증가하여 상대적인 중요성이 강조되었다.

2.2. 퇴적물 내 미생물 군집 구조

진정 세균과 고세균의 16S rRNA gene을 동시에 증폭해 낼 수 있는 universal primer set을 이용하여 군집 구조를 살펴 본 결과 정량 PCR 결과와 마찬가지로 polynya 중심에 위치한 Stn10에서는 진정세균이 우점하였으며, 외해 정점인 Stn83에서는 고세균이 우점하였다(Figs. 9 and 10).

Stn10 정점 전 층에서 가장 우점한 미생물 군집은 Planctomycetes이며 3 - 4 cm 깊이에서는 전체 미생물 군집 중 74%까지 차지하였다. 다음으로는 Deltaproteobacteria(4 - 17%)와 Chloroflexi(2 - 11%) 군집이 우점하였다. 표층에서는 Thaumarchaeota에 속하는 고세균 군집이 10% 검출되었고, 퇴적깊이가 증가 할수록 marine benthic group B(MBGB)의 비율이 증가하는 양상으로 나타나 최대 10%까지 검출되었다. Stn17 정점에서도 Planctomycetes 그룹이 15 - 46%까지 차지하였으나, Thaumarchaeota 고세균 그룹이 11 - 48%까지 검출되었다. 그밖에 Gammaproteobacteria(4 - 21%)와 Deltaproteobacteria(2 - 13%)가 우점그룹으로 검출되었다(Fig. 9). Ice-shelf지역인 Stn19정점에서는 Thaumarchaeota 고세균 군집이 전 층에 걸쳐 33 - 57%를 차지하며 가장 우점하는 그룹으로 나타났다(Fig. 10). 다음으로는 Planctomycetes가 7 - 24%, Gammaproteobacteria가 3 - 17%, Deltaproteobacteria가 3 - 11%로 검출되었다. 외해에 위치한 Stn83정점에서도 Thaumarchaeota가 전층에 걸쳐 40 - 73%의 범위로 가장 우점하였으며, 네 정점에서 가장 높은 비율로 나타났다. Planctomycetes가 6 - 20%, Gammaproteobacteria가 1 - 12%, Deltaproteobacteria가 1 - 9%로 검출되었다. 모든 정점에서 Acidobacteria가 1 - 5% 수준으로 검출되었고, Stn83에서 Alphaproteobacteria의 비율이 최대 7%까지 나타나 네 정점 중 가장 높은 비율로 검출되었다(Fig. 10). 고세균 그룹 중 심해 해양 퇴적환경에서 우점하게 나타나는 MBGB는 Stn10에서만 뚜렷이 관찰되었고, 나머지 정점에서는 거의 검출되지 않았다.



Fig. 9. Distribution of geochemical constituents(NH_4^+ , NO_x , PO_4^{3-} , Fe^{2+}) in porewater and sulfate reduction rate and microbial parameters (DNA concentration, prokaryotic abundance from 16S rRNA gene quantification, microbial community composition) in the sediment of the polynya area (Stn 10 and Stn 17) of the Amundsen Sea in 2012.



Fig. 10. Distribution of geochemical constituents (NH_4^+ , NO_x , PO_4^{3-} , Fe^{2+}) in porewater and sulfate parameters (DNA concentration, prokaryotic abundance from 16S rRNA gene quantification, microbial sediment of the ice shelf zone (Stn 19) and open sea (Stn 83) of the Amundsen Sea in 2012.

수층 내 생산력이 높은 polynya에서는 일차생산자에 의해 생성된 유기물의 대부분이 수층 내에서 분해되어 퇴적층으로 도달하는 양이 상대적으로 적어 퇴적물 내 유기물 함량이 낮게 나타난다(Kim et al., 2016). 하지만 퇴적물 내 미생물 군집구조를 조사한 네 정점 중 polynya 중심부의 Stn10에서 퇴적물 내 유기물 함량이 가장 높게 나타났으며, 유기물 분해능을 지표하는 총 산소소모율과 황산염 환원력이 가장 높게 나타났다. Stn10과 Stn17에서는 전체 미생물 군집 중 bacteria가 차지하는 비율이 가장 높은 것으로 조사되었으며, polynya를 벗어나 외해쪽으로 갈수록 archaea의 비율이 증가하였다. 이러한 결과는 정량PCR 결과와도 일치하는 바이다. Stn10에서 가장 우점한 Planctomycetes는 퇴적환경에서 질산염을 이용하여 혐기성 암모니아 산화(anaerobic ammonia oxidation, anammox)를 수행하는 미생물 군집이 포함되어 있다. Choi et al. (2016) 등에 의하면 polynya 내부에 위치한 Stn17정점에서 anammox bacteria를 검출해낼 수 있는 16S rRNA gene을 정량 PCR한 결과, 퇴적깊이 6 - 7 cm 에서 전체 미생물 개체수의 약 39%를 차지하는 것으로 조사되었고, prokaryotic 16S rRNA gene 염기서열 분석 결과에서는 전체 군집의 33%를 차지하는 것으로 나타나 서로 유사한 결과를 보였다(Fig. 9). 아문젠해 polynya내에서 탈질산화 및 혐기성 암모니아 산화에 의해 제거되는 질소의 양은 다른 극지방에서 조사된 값보다 낮은 것으로 조사되었으나, 전체 질소 제거율 중 혐기성 암모니아 산화 작용에 의한 질소제거 비율이 46% 이상으로 높게 나타났다(Choi et al. 2016). 이와 상응하는 결과로 Polynya 퇴적물 내 Planctomycetes에 속하는 미생물 그룹이 우점하게 나타난 것은 잠재적인 혐기성 질소산화의 가능성이 외해 환경에서 보다 높은 것을 시사한다.

일반적으로 해양 퇴적 환경에서 전체 미생물 중 고세균이 차지하는 비율은 10 - 30% 정도 이다. 하지만, 빛이 도달하지 않는 심해 빈영양 환경에서 수심이 깊어질수록 고세균이 전체 미생물 생물량에서 차지하는 비율은 최대 50%까지 차지하는 것으로 보고되었다(Karner et al 2001). 특히 남극의 겨울과 같이 빛이 부족하고 빈영양 수역에서는 고세균의 비율이 높게 나타난다(Kirchman 2012). Stn83 정점의 경우 퇴적물 내 유기탄소의 함량이 0.4%로 극히 빈영양 상태로 Thaumarchaeota 고세균 군집이 우점하여 나타났다.

Thaumarchaeota의 경우 해양 환경에서 암모니아를 산화하여 에너지를 얻는 자가영양 미생물 군집으로 알려져 있다(Könneke et al. 2005). 다시 말해 Thaumarchaeota 고세균 군집은 외해 환경에서 극한 환경 조건에 적응하여 우점하는 것으로 여겨지며, 이러한 환경에서 무기탄소를 유기탄소로 전환하여 상위 영양단계로 에너지를 전달하는 일차생산자로서의 중요한 역할을 수행하고 것으로 사료된다.

2.3. Stable-isotope probing을 통한 아문젠해 수층 내 종속영양 미생물 군집

Stable-isotope probing (SIP)는 안정동위원소로 표지된 기질을 현장 시료에 직접 투여하고 일정 시간 배양하여 체내에 안정동위원소를 합성한 미생물 군집으로부터 핵산을 추출하고 이를 초고속 원심분리를 이용하여 동위원소가 표지된 핵산만을 분리해내는 기법으로, 탄소순환에 직접적으로 관여하는 미생물 군집을 검출하기 위해 이용되고 있다(Glaubitz et al. 2009; Webster et al. 2010; Vandieken et al. 2012).

남극 아문젠 해 수층 내 서식하는 미생물 군집 중 용존 유기탄소를 직접 분해하여 체내 합성하는 미생물 군집을 파악하고자, 아라온호에서 현장 해수에 안정동위원소 ^{13}C 로 표지된 glucose 및 식물플랑크톤이 배출하는 자외선 차단 물질(MAA)를 첨가하여 현장 조건으로 7일간 배양 한 후 $0.22\ \mu\text{m}$ 여과지에 모여진 시료를 대상으로 핵산을 추출하고 있다. 향후 추출된 핵산은 초고속 원심분리를 통해 안정동위원소로 표지된 핵산만을 분리해 내어 군집 다양성 분석을 위한 template로 이용할 예정이다.

제 4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

당해 연도(2015년도)에는 2013-2014년도 12-2월 사이의 승선연구를 통해 아문젠 해의 서로 다른 해양환경(sea-ice zone, polynya, ice shelf and offshore)내 (1) 종속영양미생물의 생물량 및 호흡율의 공간적 분포양상 및 (2) 박테리아 요인들의 조절요인으로서 식물플랑크톤으로부터 공급되는 유기물의 중요성에 대한 연구결과들을 획득하였다. 또한 2012년도 1-3월 사이의 승선연구를 통해 채취한 아문젠 해의 서로 다른 해양환경(sea-ice zone, polynya, ice shelf and offshore)내 퇴적물 내 미생물 군집 구성을 살펴보고, 수층 생산력과의 관계에 대한 연구 결과를 획득하였다.

이상의 연구결과들은 향후 다른 분야 연구결과들과의 종합적인 분석 및 토의를 통해 기후변화 및 온난화에 따른 아문젠 해역에서의 탄소순환 및 생물펌프의 기능을 밝히는데 중요한 정보를 제공할 것이다.



제 5 장 연구개발결과의 활용계획

본 위탁과제를 통해 획득된 아문젠해 해빙역-폴리나에서의 미생물 생물량 및 생산력의 공간적 분포양상에 대한 정보는 수층의 물리-화학 및 다른 생물요인들에 대한 연구결과들과 더불어 아문젠해 폴리나를 중심으로한 연안지역 부유생태계의 미세생물 먹이망 과정을 이해할 수 있는 기본정보를 제공할 것이다.

식물플랑크톤의 일차생산력 및 박테리아 생산력과 함께, (1) 해양의 수층 미생물 호흡 및 조절요인, (2) 수층의 용존 유기탄소의 시공간적 분포 및 조절요인 그리고 (3) 퇴적물 내에서의 유기물 분해정도 등에 대한 정보는 탄소순환 및 침강플럭스를 조절하는 생물요인을 이해하는데 중요한 정보를 제공할 것이며, 이는 온난화로 인한 해빙의 감소가 급격히 일어나는 극지해양의 탄소순환과 기후변화에 대한 해양의 탄소소절기능을 이해할 수 있는 중요한 정보를 제공할 것이다.

수층 내 일차 생산력이 높은 아문젠해 polynya 해역에서 수층 환경에서 종속영양 미생물 활성은 일차생산자에 의해 생성된 유기물에 매우 의존적이며, 수층에서 생성된 대부분의 유기물은 일부만이 저층으로 공급되고 대부분은 수층에서 분해되는 것으로 나타났다. 이러한 환경에서 수층 내 종속영양 미생물 군집을 파악하는 것은 탄소 순환을 이해하는데 필수적인 지식을 제공할 것이다. 향후 차년도 연구에 이루어질 stable-isotope probing 기법을 통한 수층 내 유기물 분해 미생물에 대한 연구는 유기탄소 순환에 직접적으로 관여하는 종속영양 미생물 군집에 대한 중요한 정보를 제공할 것이다.

또한, 본 위탁과제를 통해 축적된 연구결과들은 국내/외 학술대회 발표 및 학술지 게재를 통해, 극지연구의 중요성 및 대한민국의 극지 및 지구환경변화에 대한 연구역량 및 이해 노력을 제고할 수 있는 지표로 활용가능하다.

제 6 장 참고문헌

- Arrigo KR, Robinson DH, Worthen DL, Dunbar RB, DiTullio GR, VanWoert M, Lizotte MP. 1999. Phytoplankton community structure and the drawdown of nutrients and CO₂ in the Southern Ocean. *Science* 283:365-367
- Carlson CA. Production and removal processes. In: Hansell, D.A., Carlson, C.A. (Eds.), *Biogeochemistry of Marine Dissolved Organic Matter*. Elsevier Academic Press, pp.91-139.
- Choi A, Cho H, Kim S-H, Thamdrup B, Lee SH. Rates of N₂ production and diversity and abundance of functional genes associated with denitrification and anaerobic ammonium oxidation in the sediment of the Amundsen Sea Polynya, Antarctica. *Deep-Sea Res II*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsr2.2015.07.016>.
- DeLong EF. 1992. Archaea in coastal marine environments. *Proc Natl Acad Sci USA*. 89:5685 - 5689
- Ducklow HG, Carlson C, Smith Jr, WO. 1999. Bacterial growth in experimental plankton assemblages and seawater cultures from the *Phaeocystis antarctica* bloom in the Ross Sea, Antarctica. *Aquat Microb Ecol* 19, 215 - 227.
- Ducklow H, Yager PL. 2006. Pelagic bacteria in polynyas pp 323-361 in: *Polynyas: Windows into Polar Oceans* (WO Smith, Jr, and D Barber, editors), Elsevier Oceanography Series, 74 (David Halpern, series editor)
- Fuhrman JA, Azam F. 1980. Bacterioplankton secondary production estimates for coastal waters of British Columbia, Antarctica, and California. *Appl Envir Microbiol* 39, 1085-1095.
- Fuhrman JA, Azam F. 1982. Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters: evaluation and field results. *Mar Biol* 66, 109-122.
- Glaubitx S, Lueders T, Abraham W-R, Jost G, Jürgens K, Labrenz M. 2009. ¹³C-isotope analyses reveal that chemolithoautotrophic Gamma-and Epsilonproteobacteria feed a microbial food web in a pelagic redoxcline of the the central Baltic Sea. *Environ Microbiol* 11:326-337.
- Hyun J-H, Kim S-H, Yang EJ, Choi A, Lee SH. Biomass, production, and control of heterotrophic bacterioplankton during a late phytoplankton bloom in the Amundsen

- Sea Polynya, Antarctica. Deep-Sea Res II. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsr2.2015.10.001>.
- Hyun J-H, Yang EJ. 2003. Freezing seawater for the long-term storage of bacterial cells for microscopic enumeration. *J Microbiol* 41, 262-265.
- Karner MB, DeLong EF, Karl DM. 2001 Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature* 409:507-510.
- Kirchman DL. 2012. Processes in microbial ecology. Oxford University Press, Kirchman DL (2008) Microbial ecology of the oceans. Kirchman DL (Ed) Wiley p 593
- Kirchman DL, Morán XAG, Ducklow H. 2009. Microbial growth in the polar oceans - Role of temperature and potential impact of climate change. *Nature Reviews Microbiology* 7:451-459.
- Kim BK, Joo HT, Song HJ, Yang EJ, Lee SH, Hahm D, Rhee TS, Lee SH. 2014a. Large seasonal variation in phytoplankton production in the Amundsen Sea. *Polar Biol* 38, 319-331.
- Kim S-H, Choi A, Yang EJ, Lee SH, Hyun J-H. Low benthic respiration and nutrient flux at the highly productive Amundsen Sea Polynya, Antarctica. Deep-Sea Res II. <http://dx.doi.org/10.1016/j.dsr2.2015.10.004>.
- Klappenbach JA, Saxman PR, Cole JR, Schmidt TM. 2001 rrndb: the ribosomal RNA operon copy number database. *Nucleic Acids Res* 29:181-184
- Könneke M, Bernhard AE, la Torre de JR, Walker CB, Waterbury JB, Stahl DA. 2005. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature* 437: 543-546.
- Kowalczyk P, Stoń - Egiert J, Copper WJ, Whitehead RF, Durako MJ. 2005. Characterization of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in the Baltic Sea by excitation emission matrix fluorescence spectroscopy. *Mar Chem* 96, 273 - 292.
- Lee S, Furhman FA. 1987. Relationships between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton. *Appl Environ Microbiol* 53:1298-1303.
- Nadkarni MA, Martin FE, Jacques NA, Hunter N. 2002. Determination of bacterial load by real-time PCR using a broad-range (universal) probe and primers set. *Microbiol* 148:257-266
- Nagata T. 2008. Organic matter-bacteria interactions in seawater. In: Kirchman, D.L.

- (Ed.), *Microbial Ecology of the Oceans*. Wiley, pp.207-241.
- Parsons TD, Whitney FA, Harrison PJ. 2005. Macronutrient dynamics in an anticyclonic mesoscale eddy in the Gulf of Alaska. *Deep-Sea Res II* 52, 909-932. doi:10.1016/j.dsr2.2005.02.004.
- Smith Jr, WO, Anderson RF, Moore JK, Codispoti LA, Morrison JM. 2000a. The US Southern Ocean Joint Global Ocean Flux Study: An introduction to AESOPS. *Deep-Sea Res II* 47: 3073-3093
- Sarmiento JL, Toggweiler JR. 1984. A new model for the role of the oceans in determining atmospheric PCO₂. *Nature* 308:621-624.
- Sarmiento JL, Le Quéré C. 1996. Oceanic carbon dioxide uptake in a model of century-scale global warming. *Science* 274: 1346-1350.
- Smith Jr, WO and Gordon LI, 1997. Hyperproductivity of the Ross Sea (Antarctica) polynya during austral spring. *Geophys. Res. Lett.* 24, 233-236.
- Smith WO Jr, Barber DG, eds. 2007. *Polynyas: Windows to the World*. Elsevier Oceanography Series, vol. 74, Elsevier Science, Amsterdam, 474 pp.
- Stedmon CA, Markager S. 2001. The optics of chromophoric dissolved organic matter (CDOM) in the Greenland Sea: An algorithm for differentiation between marine and terrestrially derived organic matter. *Limnol Oceanogr* 46, 2087 - 2093.
- Takahashi T, Sutherland SC, Wanninkhof R, Sweeney C, Feely RA, Chipman DW, Hales B, Friederich G, Chavez F, Sabine C, Watson A, Bakker DCE, Schuster U, Metzl N, Yoshikawa-Inoue H, Ishii M, Midorikawa T, Nojiri Y, Körtzinger A, Steinhoffm T, Hoppema M, Olafsson J, Arnarson TS, Tilbrook B, Johannessen T, Olsen A, Bellerby R, Wong CS, Delille B, Bates NR, de Baar HJW. 2009. Climatological mean and decadal change in surface ocean pCO₂, and net sea air CO₂ flux over the global oceans. *Deep Sea Res II* 56: 554 - 577
- Takai K, Horikoshi K. 2000. Rapid detection and quantification of members of the archaeal community by quantitative PCR using fluorogenic probes. *Appl Environ Microbiol* 66:5066-5072
- Vandieken V, Pester M, Finke N, Hyun J-H, Friedrich MW, Loy A, Thamdrup B. 2012. Three manganese oxide-rich marine sediments harbor similar communities of acetate-oxidizing manganese-reducing bacteria. *ISME J* 6:2078-2090.

- Webster G, Rinna J, Roussel EG, Fry JC, Weightman AJ, Parkes RJ. 2010. Prokaryotic functional diversity in different biogeochemical depth zones in tidal sediments of the Severn Estuary, UK, revealed by stable-isotope probing. *FEMS Microbiol Ecol* 72:179-197.
- Whiteley AS, Thomson B, Lueders T, Manefield M. 2007. RNA stable-isotope probing *Nature Protocols* 2: 838-844
- Yager PL, Sherrel RM, Stammerjohn SE and 17 others. 2012. ASPIRE: The Amundsen sea polunya international research expedition. *Oeanography*. 25: 40-53





1. 이 보고서는 극지연구소 위탁과제 연구결과 보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 극지연구소에서 위탁연구과제로 수행한 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.