

Article

하계 동중국해 북부 해역에서 초미소남세균의 다양성 및 분포 양상

최동한\*

한국해양연구원 해양바이오연구센터  
(426-744) 경기도 안산시 상록구 해안로 787

Picocyanobacterial Diversity and Distribution During Summer  
in the Northern East China Sea

Dong Han Choi\*

Marine Biotechnology Research Department, KORDI  
Ansan P.O. Box 29, Seoul 425-600, Korea

**Abstract :** In order to understand the spatial distribution of picocyanobacterial diversity during the summer in the northern East China Sea (ECS), their abundance and genetic diversity were investigated using flow cytometry and barcoded amplicon pyrosequencing of 16S-23S internal transcribed spacer sequences. *Synechococcus* abundance was high, with a range of  $0.2 \times 10^5$  to  $1.8 \times 10^5$  cells  $\text{ml}^{-1}$ . However, *Prochlorococcus* were found only in the eastern part of the studied area, showing a marked variation among stations [range of n.d. (not detected) to  $3.3 \times 10^4$  cells  $\text{ml}^{-1}$ ]. Eleven *Synechococcus* clades and five *Prochlorococcus* ecotypes were found to have a proportion higher than 1% among picocyanobacterial sequences, indicating high picocyanobacterial diversity in the ECS. The picocyanobacterial compositions were markedly different among stations, as well as among depths. Inflow of the Tsushima Warm Current and Changjiang diluted water was of primary importance in determining picocyanobacterial lineage diversity in the studied area. In addition, light intensity and nutrient conditions also appeared to be important in the vertical and horizontal distribution of picocyanobacterial diversity.

**Key words :** *Synechococcus*, *Prochlorococcus*, diversity, East China Sea

1. 서 론

해양에서 초미소남세균(picocyanobacteria)은 중요한 일차생산자로서 잘 알려져 있다(Li 1994; Liu et al. 1997). 담수역에서 남세균은 매우 다양한 종류가 분포하는데 반해 해양 남세균은 질소고정 남세균을 포함한 제한된 종류만이 잘 알려져 있으며, 그 중 초미소남세균은 *Synechococcus*와 *Prochlorococcus* 두 속이 대부분을 차지한다. 이들 중 *Synechococcus*는 열대에서 극지, 외양에서 연안에 이르는 거의 모든 해역에 분포하는데, 특히 연안 해역에서 높은 개

체수(ml 당 수백~수백만으로 계절적 변동을 보임)를 보이며, 일차생산력의 20%까지 기여하는 것으로 보고되었다(Li 1994). 반면, *Prochlorococcus*는 주로 열대 및 아열대의 빈영양 해역에서 분포하며, 외해역에서 약 50%의 일차생산력을 담당하는 것으로 보고되었다(Liu et al. 1997).

해양 초미소남세균의 다양성 연구는 2000년대에 들어서면서 다양한 유전자 마커(genetic marker)을 이용하여 수행되었으며, 이들이 매우 높은 유전적 다양성을 갖고 있음이 알려졌다(Toledo and Palenik 1997; Rocap et al. 2002; Fuller et al. 2003; Ahlgren and Rocap 2006; Jenkins et al. 2006; Mühling et al. 2006; Penno et al. 2006; Haverkamp et al. 2008; Paerl et al. 2008; Choi and

\*Corresponding author. E-mail : dhchoi@kordi.re.kr

Noh 2009; Lavin et al. 2010; Rusch et al. 2010; Huang et al. 2011; West et al. 2011). *Synechococcus*는 현재까지 약 20여개 이상의 clade가 구분되었으며(Choi and Noh 2009; Huang et al. 2011), 다양한 clade에 속하는 배양체의 비교 유전체 연구는 이들 각각의 clade들이 낮은 유전체 유사성을 갖으며, 종 수준에서 구별될 가능성을 제시하였다(Dufresne et al. 2008). *Prochlorococcus*는 높은 광량에 적합한 생태형(HL-ecotypes)과 낮은 광량에 적합한 생태형(LL-ecotypes)으로 나눌 수 있으며, 각각은 다시 6개와 7개의 생태형들로 나누어진다(Rocap et al. 2002; Martiny et al. 2009; Lavin et al. 2010; Huang et al. 2011; West et al. 2011). 다양한 해역에서 이들의 다양성에 대한 분포 연구들이 수행되었으며, 이들의 생물지리학적 분포에 대한 많은 지식들이 축적되고 있다. 그러나, 동중국해 주변 해역에서 이들 초미소남세균의 시공간적 분포 특성에 대한 연구는 매우 드문 실정이다.

동중국해는 계절에 따라 대마 난류, 황해 냉수 및 양자강 연안수 등 다양한 해류 및 수괴의 영향을 받아 매우 복잡한 물리적 특성을 갖는다(Beardsley et al. 1985). 특히 하계에 북부 해역의 서쪽은 양자강 저염수의 유입으로 저염의 수괴가 광범위하게 나타나며(Zhang et al. 1994), 반면 동쪽 해역은 쿠로시오 분지류인 대마난류의 영향을 받는 것으로 알려져 있다. 이러한 주변 해류의 유입 및 확장은 동중국해 해역의 생물의 분포, 특히 다양성에 영향을 미칠 것으로 여겨진다. 본 연구에서는 이러한 동중국해 물리적 순환이 초미소남세균의 다양성 분포에 미치는 영향을 파악하고, 아직 생태적 특성이 명확히 규명되지 않은 *Synechococcus*의 다양한 clade들의 분포 양상을 통해 이들의 생태적 특성에 대해 살펴보고자 하였다. 이를 위해 동중국해의 북부 해역에서 초미소남세균의 개체수와 다양성을 각각 flow cytometer와 barcoded pyrosequencing 방법을 통해 조사하였다.

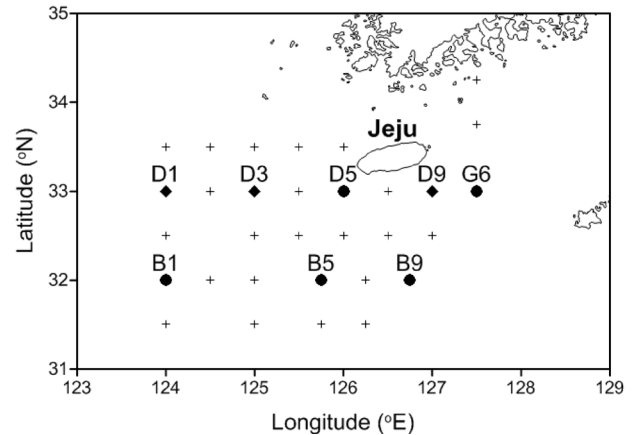
## 2. 재료 및 방법

### 연구 정점 및 시료 채취

본 연구는 2007년 7월 19일부터 27일까지 동중국해 북부 해역에서 수행되었다(Fig. 1). 시료는 로젯에 연결된 Niskin 채수기를 이용하여 채수하였으며, 분석은 표층과 최대염록소층(SCM)의 두 층에서 행해졌다.

### 초미소남세균의 개체수

초미소남세균 개체수 측정을 위한 시료는 현장에서 파라포름알데하이드와 글루타르알데하이드의 혼합액(최종 농도 각각 1%와 0.125%)으로 고정된 후 액체 질소에 넣어 냉동하였으며, 실험실에서는  $-80^{\circ}\text{C}$ 에 냉동보관하였



**Fig. 1.** Map showing the sampling stations in this study. The picocyanobacterial abundance and diversity were studied at both surface and SCM depths (●) or at only SCM depth (◆)

다. 시료를 해동한 후 Hoechst33342(최종농도  $1\ \mu\text{g ml}^{-1}$ )로 염색하고 Flow cytometer(Beckman-Coulter EPICS Altra)를 이용하여 *Prochlorococcus*와 *Synechococcus*를 계수하였다(Campbell and Vaulot 1993; Monger and Landry 1993).

### DNA 정제 및 Pyrosequencing

DNA 분석을 위해 해수 2 l를 0.2 Supor 여과지(지름 47 mm, Gelman)에 여과한 후 여과지를 2 ml cryovial에 넣고 1 ml의 STE buffer(100 mM NaCl, 10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0)를 넣어 액체질소에서 냉동 보관하였으며, 이후 실험실에서  $-80^{\circ}\text{C}$ 에 보관하였다. DNA의 추출 및 정제는 lysozyme, proteinase K, phenol-chloroform-isoamyl alcohol을 이용한 Somerville et al. (1989)의 방법을 이용하여 수행하였다.

초미소남세균의 다양성은 16S-23S internal transcribed spacer (ITS)의 염기서열분석을 통해 연구하였다. 대량의 염기서열을 얻기 위해 차세대 염기서열 분석법인 pyrosequencing 방법을 적용하였다. 이를 위해 PCR 증폭을 위한 forward primer의 5' 말단에 barcoding 염기서열(10 bps)을 추가하였다. 초미소남세균의 특이적인 primer는 ITS-af(5'-GGA TCA CCT CCT AAC AGG GAG-3')와 ITS-ar(5'-GGA CCT CAC CCT TAT CAG GG-3')을 이용하였으며(Lavin et al. 2008), PCR 증폭을 통해 251~325 bp 길이의 amplicon을 얻을 수 있었다.

PCR 반응은 1~10 ng의 DNA, Takara Ex Taq (2 units), 0.2 mM dNTP, 0.5  $\mu\text{M}$  primers, Takara Ex Taq buffer와 멸균된 증류수를 총 부피 50  $\mu\text{l}$ 가 되게 넣고, Lavin et al. (2008)의 조건에서 PCR을 수행하였다. 얻어진 PCR 산물은 DNA QuantLadders(Lonza Rockland Inc.)를 이용하여

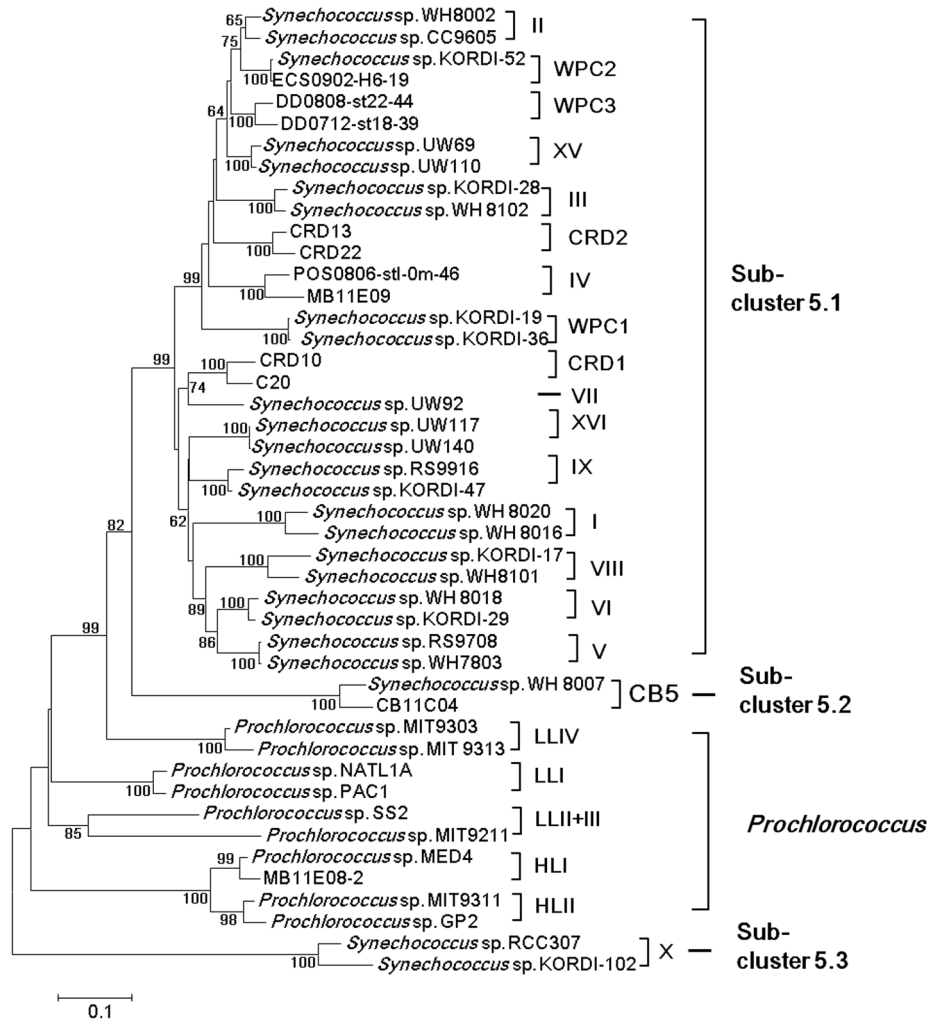


Fig. 2. Neighbor-joining tree of ITS sequences showing phylogenetic relationships among each picocyanobacterial clade. Numbers at the branching points represent bootstrap values. Scale bar, 0.1 nucleotide substitution per site

1% agarose gel에서 정량하였다. 동일한 양의 PCR 산물을 한 tube에 모은 후 AccuPrep PCR purification kit (Bioneer)를 이용하여 정제하였다. 정제된 산물을 다시 agarose gel에서 분리하여 200~400 bp 사이의 band를 잘라낸 후 Qiagen Gel Extraction kit(Qiagen)를 이용하여 증폭된 DNA를 추출하였다.

얻어진 amplicon의 pyrosequencing은 마크로젠에서 GS-FLX Titanium system(454 Life Sciences)을 이용하여 분석하였다. 얻어진 염기서열은 barcode 염기서열에 따라 각 시료별로 분류하였으며, Mothur 프로그램(Schloss et al. 2009)을 이용하여 primer mismatch = 2, qwindow size = 50, qwindow average = 20의 기준으로 염기서열을 trimming 하였다. Mothur 프로그램으로 135~220 bp 범위 이외의 길이를 갖는 염기서열을 제거한 후, 19개의 *Synechococcus* clades와 6개의 *Prochlorococcus* ecotype에 속하는(Fig. 2

참고) 염기서열을 포함한 reference database를 이용하여 얻어진 염기서열을 정렬하였으며, 'chimera.slayer' 명령으로 chimera를 제거하였다. 최종적으로 얻어진 염기서열들은 'classify.seqs'로 1000 bootstrap과 60% cutoff option을 이용하여 각각의 clade로 구분하였다. Pyrosequencing을 통해 얻어진 염기서열은 NCBI의 sequence read archive (SRA, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Traces/sra>; accession number SRA048012)에 등록하였다.

#### 기타 분석

수온 및 염분은 CTD를 이용하여 측정하였으며, 엽록소는 fluorometer (10-AU, Turner Designs)를 이용하여 측정하였다(Parsons et al. 1984). *Synechococcus*의 군집분석은 clade %를 제공된 변환하여, Bray-Curtis 유사도를 계산한 후, PRIMER-6 프로그램(PRIMERE, UK)을 이용하

여 hierarchical cluster 분석을 수행하였다.

### 3. 결과 및 토의

#### 수온, 염분 및 엽록소 a

조사 정점의 표층에서 수온은 23.2~27.4 °C 범위로 나타났으며, 제주도 남동쪽 G6 정점에서 가장 높고 B1 정점에서 가장 낮았다(Fig. 3). 표층 염분은 31.0~32.9 psu 범위로 대체로 낮아(Fig. 3), 하계 양자강으로부터의 연안수의 영향이 넓게 나타난 양상을 보였다. 특히, 정점 B5 주변은 약 31 psu 정도의 낮은 염분 patch가 분포하였다. SCM층에서 수온은 SCM층의 형성 수심이 얇은 서쪽 해역에서 23 °C정도로 약 15 °C의 수온을 보인 중앙 부분에 비해 높았으며, 염분이 34.4 psu 이상으로 대마난류의 특성을 갖는 제주 남동 해역의 SCM층에서는 약 20 °C의 수온분포를 보였다(Fig. 3). 이러한 수온·염분 분포로부터 서쪽 해역의 표층과 SCM층 그리고 동쪽 해역의 표층에

서 양자강 희석수의 영향을 받는 반면, 동쪽 해역의 SCM층에서는 대마난류수의 영향을 받고 있음을 알 수 있었다(한국해양연구원 1997).

엽록소 a는 표층과 SCM층에서 각각 0.2~1.6  $\mu\text{g l}^{-1}$ 와 0.3~2.4  $\mu\text{g l}^{-1}$  범위로 나타났으며 비교적 정점간에 큰 변이를 보였다. 공간적으로 볼 때, 표층과 SCM층 모두 엽록소 a는 동쪽 해역에 비해 서쪽 해역에서 높은 특성을 나타내었다(Fig. 3).

#### 초미소남세균의 개체수

*Synechococcus*의 개체수는 정점에 따라  $0.2\sim 1.8 \times 10^5$  cells  $\text{ml}^{-1}$  범위의 변화를 보였다(Fig. 4). *Synechococcus*의 개체수는 저수온기에 낮고 고수온기에 증가 하는 계절변화를 나타내었는데(Vaulot and Ning 1988; Noh et al. 2005; Jiao et al. 2005), 본 하계 조사에서도 높은 수준의 *Synechococcus* 개체수를 나타냈다. 한편, *Prochlorococcus*는 n.d.(미검출)~  $3.3 \times 10^4$  cells  $\text{ml}^{-1}$  범위로 동쪽 정점들

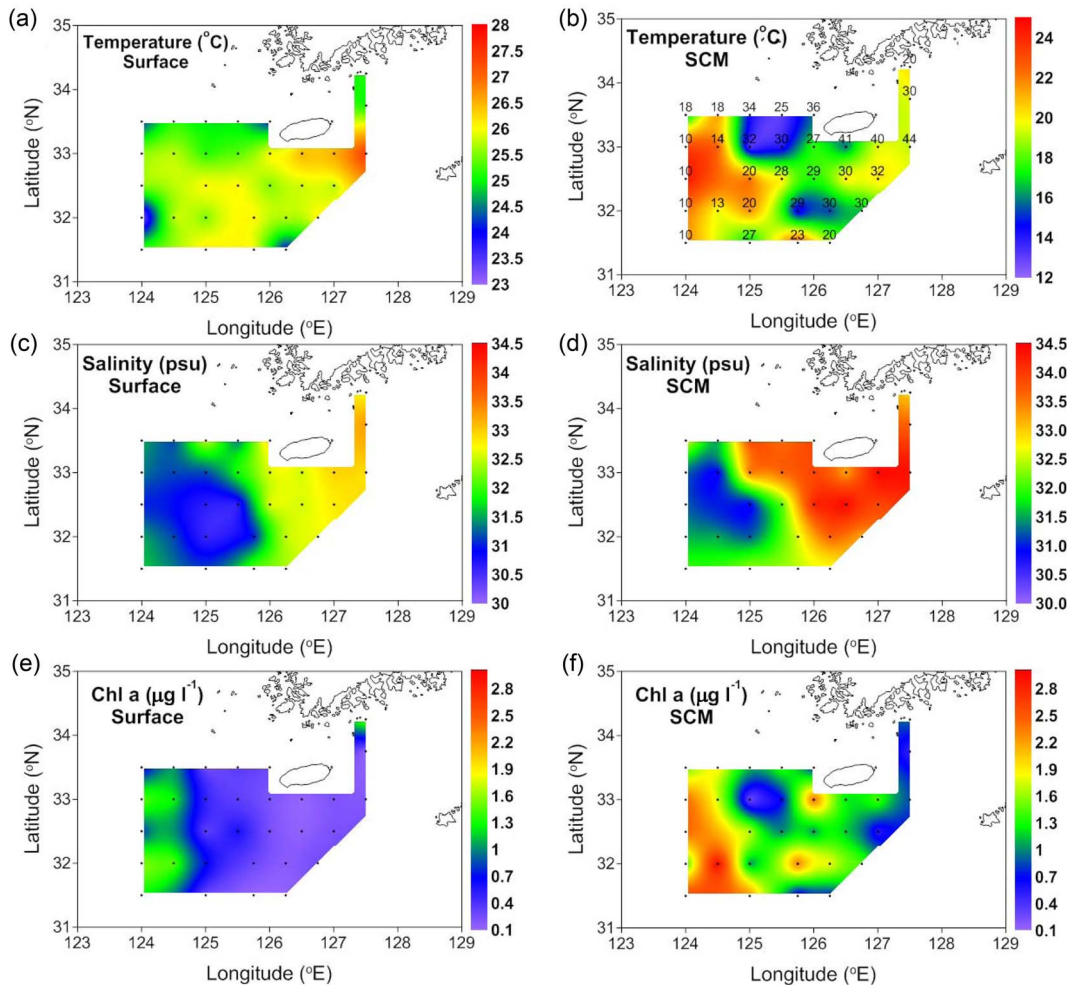


Fig. 3. Contour plots of temperature (a, b), salinity (c, d), and chl a (e, f) at surface and SCM depths. Numbers in (b) represent SCM depths at each station

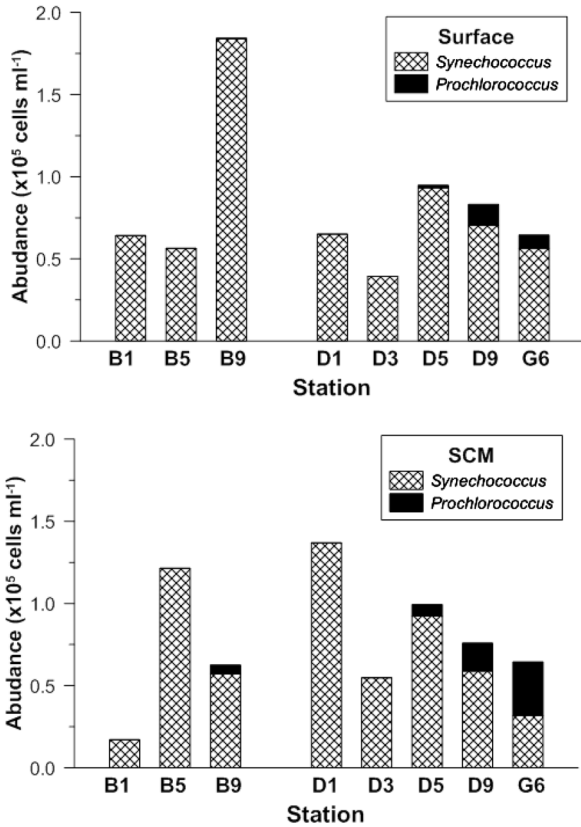


Fig. 4. Bar graphs showing the abundances of *Synechococcus* and *Prochlorococcus* at surface and SCM depths of each station

에서만 나타나 공간적으로 뚜렷한 분포특성을 보였으며, 표층보다는 SCM층에서 다소 높은 경향을 보였다(Fig. 4). 쿠로시오 해역에서 *Prochlorococcus*는 초미소남세균의 90% 이상을 차지하여 우점하나, 동중국해의 대륙붕과 만나는 경계면을 전이점으로 하여 급격히 수가 감소하고 대륙붕 해역에서는 *Synechococcus*가 우점하는 양상이 최근의 연구에서 보고되었다(Choi et al. 2011). 또한 빈영양 해역에서는 *Prochlorococcus*가 우점하나, 영양염의 농도가 높은 용승 해역에서는 *Synechococcus*가 우점하는 것으로 알려져 있다(Zwirgmaier et al. 2007). 이러한 점에서 볼 때, 동쪽 해역에서 *Prochlorococcus*의 출현은 대마난류를 통해 유입된 결과로 보인다. 더욱이 대마난류의 유입이 뚜렷한 동쪽 정점의 SCM층에서 양자강 희석수의 영향이 나타난 표층에 비해 높은 개체수가 나타나고, 서쪽 정점들에서 급격히 비율이 감소하는 공간적 분포특성은 *Prochlorococcus*의 분포를 통해 대마난류의 영향 범위를 생물학적으로 추적하는 것이 가능함을 시사한다.

초미소남세균의 다양성

본 연구에서 pyrosequencing 방법에 의해 최종적으로

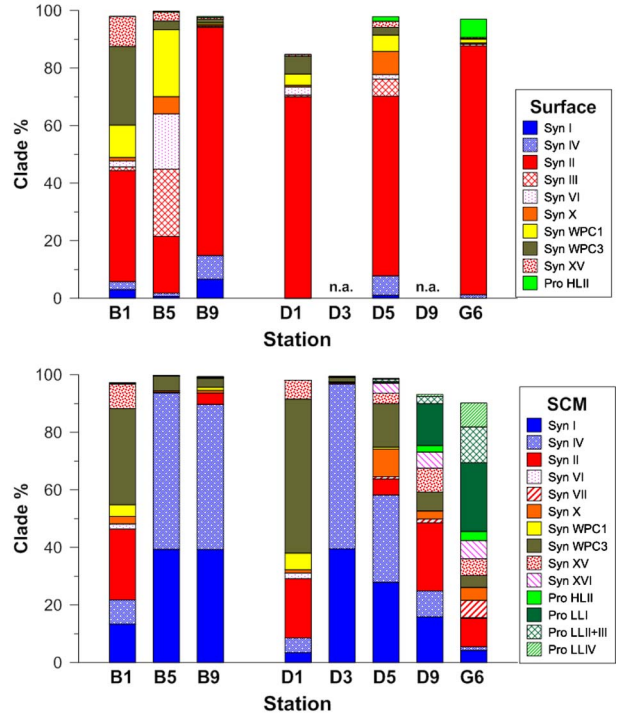


Fig. 5. Bar graphs showing percentages of sequences belonging to each picocyanobacterial clade among picocyanobacterial sequences at surface and SCM depths (n.a.: not available)

총 37,172개의 초미소남세균의 ITS 염기서열이 얻어졌다. *Synechococcus* 5.1 sub-cluster에 속하는 염기서열은 각 시료에서 45~100% 범위로 나타났으며, *Synechococcus* 5.3과 5.2 sub-cluster는 각각 0.1~10%와 n.d~0.2%로 낮게 나타났다. *Prochlorococcus*의 염기서열은 n.d~51%로 시료에 따라 큰 차이를 나타내었다.

*Prochlorococcus*

조사 정점과 수심에서 초미소남세균의 다양성은 매우 큰 차이를 나타내어(Fig. 5) 연구 해역이 매우 복잡한 생태환경을 갖고 있음을 시사하였다. 대마난류의 영향을 지시하는 *Prochlorococcus*는 개체수 분포와 마찬가지로 연구 해역의 동쪽 정점들에서만 1% 이상의 유의한 분포를 나타내었으며, 표층보다는 SCM층에서 상대적으로 높은 비율로 나타났다(Fig. 5). 표층에서 *Prochlorococcus*는 HLII 생태형만 나타났으며, 정점 G6와 D9에서 초미소남세균의 각각 6.3%와 1.6%를 차지하여 대마난류의 이동 경로에서 멀어지면서 감소하는 경향을 보였다. 이러한 결과는 일반적으로 유광대 상층에서 *Prochlorococcus*는 HLII 생태형이 절대적으로 우점한다는 보고와도 일치하였다(Zwirgmaier et al. 2007, 2008; Choi et al. 2011). 반면, SCM층에서는 HLII 생태형이 0.1~3.2%로 감소한 반면, 낮은 광

에 적응한 다양한 LL 생태형이 출현하여 정점 D9와 G6에서 *Prochlorococcus*의 비율은 각각 22.3%와 50.8%를 차지하였다. 이러한 결과는 이들 정점의 표층 아래에 대마난류가 유입되어 존재하고, 광 제한에 의해 낮은 광에 적응한 생태형이 상대적으로 빠르게 성장하여 우점하였기 때문으로 판단된다. 한편, 이 두 정점의 SCM층에서는 LLI 생태형이 가장 우점하는 *Prochlorococcus*로 나타났으며, LLII+III 생태형과 LLIV 생태형이 그 뒤를 이었다.

### *Synechococcus*

시기적 측면에서 하계로 제한된 연구임에도 불구하고 11개의 *Synechococcus* clade가 5% 이상의 점유율을 나타내 *Synechococcus*의 다양성은 높게 나타났다(Fig. 5). 또한 정점과 수심에 따른 clade의 조성의 차이도 비교적 크게 나타나, 연구 해역의 생태환경이 매우 역동적으로 변화하였음을 시사하였다. 표층에서는 정점 B1과 B5를 제외하면 clade II가 62~86%를 차지하여 가장 우점하였으며, SCM층에서는 정점에 따라 clades I, IV 또는 WPC3이 우점하는 복잡한 양상을 보였다. 정점 B1의 표층에서는 clades II, WPC3, WPC1 및 XV가 10% 이상을 차지하여 다양한 clades가 함께 우점하였고, 정점 B5의 표층에서는 clades WPC1, III, II와 VI가 19~23%를 차지하여 우점하였다. SCM층의 경우 정점 B5, B9와 D3에서는 clades I과 IV가 90% 이상을 차지하였으나, 연구 해역의 서쪽에 위치한 정점 B1과 D1에서는 clades II와 WPC3이 21~54%를 차지하여 높아 대조적인 양상을 보였다. 한편, 대마난류의 영향이 크게 나타난 정점 G6의 SCM층에서는 clades I과 IV의 점유율이 5%로 낮은 반면, clades II, III, XV, XVI, X, WPC3이 4~9%의 범위를 보여 다양한 clades가 유사한

기여도로 분포하는 양상을 보였다.

군집분석을 통해 *Synechococcus* clades 조성의 70% 유사성을 기준으로 할 때 5개의 그룹으로 시료를 나눌 수 있었다(Fig. 6). 그룹 A는 정점 B5, B9와 D3의 SCM층에서의 시료들로 *Synechococcus* clades I과 IV가 극 우점하는 양상을 보였다. Clades I과 IV는 각각 10°C와 15°C 정도의 수온에서 우점하는 저온성 clades로 알려져 있으며 (Zwirgmaier et al. 2008), 이들 시료가 채집된 수층의 수온이 13.1~16.5°C로 낮았던 것을 고려하면, 낮은 수온이 이들 시료의 다양성을 조절하는 중요한 요인으로 작용한 것으로 판단된다. 그룹 B는 정점 B5의 표층 시료만을 포함하며, clades III, VI와 WPC1의 점유율이 다른 정점에 비해 높은 특징을 보였다. 정점 B5는 주변에 비해 염분이 낮고 수온이 높은 patch의 가장자리에 위치한 점으로 볼 때(Fig. 3), 이들 clades들은 저염수 patch의 환경에 잘 적응하여 성장할 수 있는 연안성 특성을 갖는 *Synechococcus*로 여겨진다. 2010년 8월에 25 psu의 낮은 염분을 갖는 저염수 patch에서도 이들 *Synechococcus* clades들은 비교적 높은 점유율을 나타내어, 저염수의 유입환경에서 이들이 잘 성장할 수 있음을 시사하였다. 한편, clade III에 속하는 WH8102 균주는 유전체 분석을 통해 빈영양 대양 환경에 적응된 균주들로 분류되었으며 (Dufresne et al. 2008), clade III이 빈영양 환경인 지중해에서 우점하는 clade로 알려져 있다 (Mella-Flores et al. 2011). 그러나, 본 연구에서는 저염수 patch 주변에서 높고 대마난류의 영향을 많이 받았던 정점 G6에서 낮은 비율로 나타나 이전 연구와는 차이를 나타냈다. Clade III에 포함되는 다양한 배양체들의 생리적 특성에 대한 연구가 수행되지 않아, 이러한 상이한 결과의 원인에 대해서 논의하기는 어려우나,

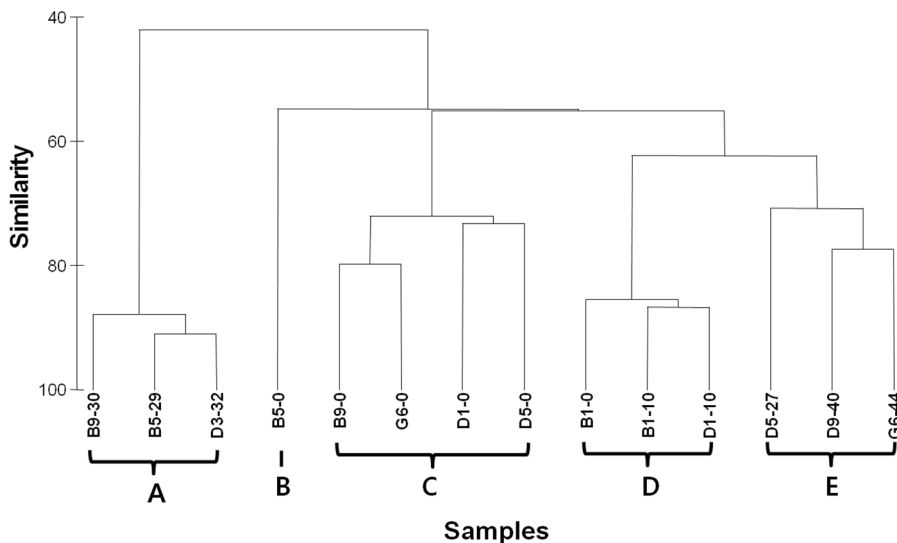


Fig. 6. Dendrogram from group-average-linked cluster analysis using Bray-Curtis similarities on square root-transformed clade percentages

clade III에 포함된 *Synechococcus*의 생리적 특성이 다양할 가능성을 시사하였다.

그룹 C는 연안 및 대륙붕의 난수 해역, 그리고 쿠로시오의 대륙붕 경계역에서 우점하는 *Synechococcus*로(Zwirgmaier et al. 2008; Choi et al. 2011), 난수성 특성을 갖는 clade II가 60~86%로 우점하는 특성을 나타내어 다른 그룹들과 구별되는 차이를 보였다.

그룹 D에는 연구 해역의 서쪽 정점인 D1의 표층과 성층이 약했던 B1의 표층 및 SCM 시료가 포함되었다(Fig. 6). D그룹은 WPC3 clade가 27~54%로 높은 점유율을 보였으며, 주변의 SCM 시료에 비해 상대적으로 낮은 clades I과 IV가 나타나 다른 시료들과 구별되는 차이를 나타내었다. 이들 시료에서 수온이 22°C 이상으로 높았으며, 엽록소 a의 농도도 높게 나타난 점을 고려하면, WPC3 clade는 높은 영양염 조건과 22°C 정도의 중온성 수온을 선호하는 clade로 판단된다.

그룹 E는 높은 *Prochlorococcus*가 나타난 시료들을 포함하였다(Fig. 6). 정점 G6에서 D5로 가면서 *Prochlorococcus*의 비율은 감소하고 저온성인 clade I과 IV의 *Synechococcus*는 증가하는 양상을 보여 서쪽으로 이동하면서 대마난류의 영향이 점차 감소하는 양상을 보였다. 이들 시료에서 *Synechococcus* clade VII은 정점 G6에서 6% 비율로 나타났으나, 서쪽 정점으로 이동하면서 비율이 감소하며 다른 정점들에서는 나타나지 않는 특성을 보였다. 비율의 변화는 크지 않았지만, clade XVI도 VII과 유사한 변화양상을 보여, clades VII과 XVI이 대마난류를 통해 동중국해로 유입되는 clade임을 시사하였다. 반면, clade WPC3은 서쪽으로 이동하면서 비율이 점차 증가하여 높은 영양염 조건을 선호한다는 앞의 주장을 뒷받침하였다.

#### 동중국해 주변수가 초미소남세균 다양성에 미치는 영향

대마난류의 영향을 받는 제주도 남동쪽 해역에서 다양한 *Prochlorococcus* 생태형이 나타났다. 표층은 높은 광을 선호하는 HLII 생태형이 나타났으나, 저염의 양자강 희석수의 영향으로 저층에 비해 그 비율은 낮았다. 반면, SCM 층에서는 낮은 광을 선호하는 것으로 알려진 LLI-IV 생태형에 속하는 다양한 *Prochlorococcus*가 50% 정도까지 나타났으며 이는 상층에 저염수의 유입으로 고염의 대마난류가 광이 낮은 저층에 주로 분포하였기 때문으로 보인다. 한편, 서쪽으로 이동하면서 *Prochlorococcus*의 비율은 급격히 감소하는 경향이 나타났는데, 이는 이들이 빈영양 환경에 적응하도록 유전자 구성을 최적화함으로써(Partensky and Garczarek 2010) 영양염이 증가된 환경에서 성장이 느려졌거나 연안의 다른 환경요인에 의해 성장이 제한되었기 때문으로 여겨진다(Mann et al. 2002). 반면, 연구 해역의 중앙에는 그 차이는 크지 않지만 주변보

다 저염을 갖는 patch가 나타났으며, 그곳에 위치한 정점 B5의 표층에서는 clade VI이 높은 비율로 나타나는 등 *Synechococcus* clade 조성이 다른 시료들과 비교적 큰 차이를 나타내었다(Fig. 6). 따라서, 양자강 희석수의 유입 및 대마난류의 영향범위의 변동과 같은 동중국해 해류 패턴의 변화는 동중국해 초미소남세균 다양성의 공간적 분포 양상에 변화를 야기할 것으로 여겨진다. 각각의 clades들에 대한 생리, 생태적 특성이 아직 명확히 규명되지 않아, 이러한 다양성의 변화가 생태계의 생산성 및 물질 순환에 어떻게 영향을 미칠지에 대해서 논의하기는 어렵지만, 본 연구는 초미세남세균 군집이 물리적 환경변화에 매우 민감하게 반응함을 보여주었다.

#### *Synechococcus* clades의 생태적 특성

최근에 수행된 생물지리학적 다양성 연구를 통해 주요 *Synechococcus* clade들(I, II, IV)의 생태적 분포특성이 제한적으로 밝혀졌다(Zwirgmaier et al. 2007, 2008; Tai and Palenik 2009; Mazard et al. 2011; Mella-Flores et al. 2011). 그러나 아직 많은 clade들의 생태적 분포특성은 아직 충분히 이해되지 못하였다. Clade V, VI와 VII은 16S rRNA 유전자의 변이가 적어 동일한 probe 염기서열을 이용하여 정량적 분포연구를 수행하여 왔다(Fuller et al. 2006; Zwirgmaier et al. 2008). 본 연구에서는 염기서열 분석을 통해 이들 clades를 구분하였고, 최소한 clade VI과 VII이 다른 생태적 특성을 갖고 있음을 밝힐 수 있었다(Fig. 5). 저염수 patch가 관측된 B5의 표층에서 clade VI의 비율은 약 20%로 높았으나, 그 주변 해역에서 2%로 낮아졌으며, 정점 G6와 B9에서는 검출되지 않았다. 반면, clade VII은 대마난류의 영향이 크게 나타난 G6에서 가장 높은 비율로 나타났다. 이러한 결과는 clade VI과 VII이 서로 다른 환경을 선호함을 시사한다. 즉, clade VII *Synechococcus*는 빈영양 해역에 분포하는 특성을 갖을 것으로 여겨지는 반면, clade VI은 연안의 제한적인 환경에서 우점하는 기회종의 특성을 가질 것으로 보인다. 유사하게 황해 중부 해역의 연구에서 하계에 clade VI이 높은 비율로 나타나, 연안성 clade임을 시사하였다(함 등 2011). Clade WPC1도 염분이 낮은 B5의 표층에서 가장 높았다가 주변에서 낮아지는 경향을 보였으나, clade VI과는 다르게 넓은 분포양상을 보여, 높은 영양조건을 선호하나 비교적 넓은 환경조건에 서식하는 것으로 나타났다. Clade VII과 유사하게 clade XVI도 대마난류를 통해 유입되는 양상을 보인 후 사라지는 양상을 보여, 대양성 환경에 적응한 clade로 여겨졌다. Clade WPC3은 최근에 동중국해의 연구를 통해 밝혀진 clade로서 그 생태적 특성에 대해서는 알려지지 않았다. 본 연구에서 clade WPC3은 엽록소 농도가 높았던 연구 해역 서쪽의 SCM 수심에서 높게 나타나, 비교

적 높은 영양염을 선호하는 clade로 여겨진다. 또한 상대적으로 표층에서 SCM에 비해 높은 비율이 나타났는데, SCM의 낮은 수온이 성장을 제한했기 때문으로 보인다.

#### 4. 결 론

동중국해는 산사댐의 건설로 최근 부유물질 농도, 규산질 영양염 감소 등의 다양한 환경변화를 겪고 있으며, 하계에 홍수량 조절을 위한 대량 방류로 25 psu 이하의 저염수가 제주도 인근 해역까지 영향을 미치고 있음이 잘 알려져 있다(Gong et al. 2006; 한국해양연구원 2009). 또한 쿠로시오 해류는 우리나라 주변 해로의 열 공급원으로서 중요하며, 그 세기는 계절적 변동성을 갖는다. 동중국해는 세계적으로 생산성이 높은 중요한 어장으로 알려져 있는 점에서 동중국해의 생태환경에 대한 이해와 환경변화에 따른 생물 군집의 반응을 파악하는 것은 중요하다. 본 연구에서 하계 동중국해 북부 해역은 대마난류의 유입을 통해 빈영양성의 다양한 *Prochlorococcus* 생태형들이 동중국해로 수송되어 표층에 *Prochlorococcus* HLII 생태형, 저층에 *Prochlorococcus* LLI-IV 생태형이 분포하는 것으로 나타났으며, 양자강 희석수의 유입에 의해 기회종 특성을 가질 것으로 여겨지는 *Synechococcus* clade VI이 우점하는 양상을 보여, 주변 해류의 유입이 초미소남세균의 다양성에 영향을 미치는 것으로 나타났다. 또한 수온, 광량 및 영양조건도 수심에 따른 다양성의 분포 양상에 중요한 요인으로 나타났다. 따라서, 양자강 방류량의 변동 및 쿠로시오 세기의 변동은 초미소남세균의 다양성과 생태계 변화의 중요한 요인이 될 것으로 사료된다. 또한 다양한 clades들의 생물지리학적 분포 및 환경변화에 따른 다양성의 변화를 보다 면밀히 이해하기 위해서는 strains 수준에서의 생리적 연구가 필요할 것으로 여겨진다.

#### 사 사

본 연구는 국토해양부의 연구비 지원(PM56340, PM56330)으로 수행되었습니다.

#### 참고문헌

국토해양부 (2009) 산사댐 건설로 인한 남해(동중국해)의 해양 환경 영향연구. 한국해양연구원, BSPM 54990-2142-5, 306 p

한국해양연구원 (1997) 쿠로시오 해역과 동중국해의 해양순환-동중국해 동부해역 중심. 한국해양연구원, BSPN 00319-964-1, 563 p

함미선, 노재훈, 최동한, 안경호, 이승민 (2011) Pyrosequencing

을 이용한 황해의 cyanobacteria 다양성 분석. In: 2011년도 추계한국해양학회 초록집, 서울대학교, 서울, 2011년 11월 3일, pp 223

Ahlgren NA, Rocap G (2006) Culture isolation and culture-independent clone libraries reveal new marine *Synechococcus* ecotypes with distinctive light and N physiologies. *Appl Environ Microbiol* **72**:7193-7204

Beardsley RC, Limeburner R, Yu H, Cannon GA (1985) Discharge of the Changjiang(Yangtze River) into the East China Sea. *Cont Shelf Res* **4**:57-76

Campbell L, Vault D (1993) Photosynthetic picoplankton community structure in the subtropical North Pacific Ocean near Hawaii (station ALOHA). *Deep-Sea Res I* **40**:2043-2060

Choi DH, Noh JH (2009) Phylogenetic diversity of *Synechococcus* strains isolated from the East China Sea and the East Sea. *FEMS Microbiol Ecol* **69**:439-448

Choi DH, Noh JH, Hahn MS, Lee CM (2011) Latitudinal distribution of picocyanobacteria in surface water of the northwestern Pacific Ocean. *Ocean Sci J* **46**:265-271

Dufresne A, Ostrowski M, Scanlan DJ, Garczarek L, Mazard S, Palenik BP et al (2008) Unraveling the genomic mosaic of a ubiquitous genus of marine cyanobacteria. *Genome Biol* **9**:R90. doi:10.1186/gb-2008-9-5-r90

Fuller NJ, Marie D, Partensky F, Vault D, Post AF, Scanlan DJ (2003) Clade-specific 16S ribosomal DNA oligonucleotides reveal the predominance of a single marine *Synechococcus* clade throughout a stratified water column in the Red Sea. *Environ Microbiol* **69**:2430-2443

Fuller NJ, Tarran GA, Yallop M, Orcutt KM, Scanlan DJ (2006) Molecular analysis of picocyanobacterial community structure along an Arabian Sea transect reveals distinct spatial separation of lineages. *Limnol Oceanogr* **51**:2515-2526

Gong GC, Chang J, Chiang KP, Hsiung TM, Hung CC, Duan SW, Codispoti LA (2006) Reduction of primary production and changing of nutrient ratio in the East China Sea: effects of the Three Gorges Dam? *Geophys Res Lett* **33**:L07610

Haverkamp T, Acinas SG, Doleman M, Stomp M, Huisman J, Stal LJ (2008) Diversity and phylogeny of Baltic Sea picocyanobacteria inferred from their *psaA* and *psbA* operons. *Environ Microbiol* **10**:174-188

Huang S, Wilhelm SW, Harvey HR, Taylor K, Jiao N, Chen F (2011) Novel lineages of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* in the global oceans. *ISME J* doi:10.1038/ismej.2011.106

Jiao N, Yang Y, Hong N, Ma Y, Harada S, Koshikawa H,



- Watanabe M (2005) Dynamics of autotrophic picoplankton and heterotrophic bacteria in the East China Sea. *Cont Shelf Res* **25**:1265-1279
- Jenkins BD, Zehr JP, Gibson A, Campbell L (2006) Cyanobacterial assimilatory nitrate reductase gene diversity in coastal and oligotrophic marine environments. *Environ Microbiol* **8**:2083-2095
- Lavin P, Gomez P, Gonzalez B, Ulloa O (2008) Diversity of the marine picocyanobacteria *Prochlorococcus* and *Synechococcus* assessed by terminal restriction fragment length polymorphisms of 16S-23S rRNA internal transcribed spacer sequences. *Rev Chil Hist Nat* **81**:515-531
- Lavin P, Gonzalez B, Santibanez JF, Scanlan DJ, Ulloa O (2010) Novel lineages of *Prochlorococcus* thrive within the oxygen minimum zone of the eastern tropical South Pacific. *Env Microbiol Rep* **2**:728-738
- Li WKW (1994) Primary production of prochlorophytes, cyanobacteria, and eukaryotic ultraphytoplankton: measurements from flow cytometric sorting. *Limnol Oceanogr* **39**:169-175
- Liu HB, Nolla HA, Campbell L (1997) *Prochlorococcus* growth rate and contribution to primary production in the equatorial and subtropical north pacific ocean. *Aquat Microb Ecol* **12**:39-47
- Mann EL, Ahlgren N, Moffett JW, Chisholm SW (2002) Copper toxicity and cyanobacteria ecology in the Sargasso Sea. *Limnol Oceanogr* **47**:976-988
- Martiny AC, Tai APK, Veneziano D, Primeau F, Chisholm SW (2009) Taxonomic resolution, ecotypes and the biogeography of *Prochlorococcus*. *Environ Microbiol* **11**:823-832
- Mazard S, Ostrowski M, Partensky F, Scanlan DJ (2012) Multi-locus sequence analysis, taxonomic resolution and biogeography of marine *Synechococcus*. *Environ Microbiol*. doi: 10.1111/j.1462-2920.2011.02514.x **14**(2):372-386
- Mella-Flores D, Mazard S, Humily F, Partensky F, Mahé F, Bariat L et al. (2011) Is the distribution of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* ecotypes in the Mediterranean Sea affected by global warming? *Biogeosciences* **8**:2785-2804
- Monger BC, Landry MR (1993) Flow cytometric analysis of marine bacteria with Hoechst 33342. *Appl Environ Microbiol* **59**:905-911
- Muhling M, Fuller NJ, Somerfield PJ, Post AF, Wilson WH, Scanlan DJ et al. (2006) High resolution genetic diversity studies of marine *Synechococcus* isolates using *rpoC1*-based restriction fragment length polymorphism. *Aquat Microb Ecol* **45**:263-275
- Noh JH, Yoo SJ, Lee JA, Kim HC, Lee JH (2005) Phytoplankton in the waters of the Jeju Ocean Research Station determined by microscopy, flow cytometry, HPLC pigment data and remote sensing. *Ocean and Polar Res* **27**:397-417
- Paerl RW, Foster RA, Jenkins BD, Montoya JP, Zehr JP (2008) Phylogenetic diversity of cyanobacterial *narB* genes from various marine habitats. *Environ Microbiol* **10**:3377-3387
- Parsons TR, Maita Y, Lalli CM (1984) A manual of chemical and biological methods for seawater analysis. Pergamon Press, Oxford, 173 p
- Partensky F, Garczarek L (2010) *Prochlorococcus*: advantages and limits of minimalism. *Annu Rev Mar Sci* **2**:305-331
- Penno S, Lindell D, Post AF (2006) Diversity of *Synechococcus* and *Prochlorococcus* populations determined from DNA sequences of the N-regulatory gene *ntcA*. *Environ Microbiol* **8**:1200-1211
- Rocap G, Distel DL, Waterbury JB, Chisholm SW (2002) Resolution of *Prochlorococcus* and *Synechococcus* ecotypes by using 16S-23S ribosomal DNA internal transcribed spacer sequences. *Appl Environ Microbiol* **68**:1180-1191
- Rusch DB, Martiny AC, Dupont CL, Halpern AL, Venter JC (2010) Characterization of *Prochlorococcus* clades from iron-depleted oceanic regions. *P Natl Acad Sci USA* **107**:16184-16189
- 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
- Somerville CC, Knight IT, Straube WL, Colwell RR (1989) Simple, rapid method for direct isolation of nucleic acids from aquatic environments. *Appl Environ Microbiol* **55**:548-554
- Tai V, Palenik B (2009) Temporal variation of *Synechococcus* clades at a coastal Pacific Ocean monitoring site. *ISME J* **3**:903-915
- Toledo G, Palenik B (1997) *Synechococcus* diversity in the California current as seen by RNA polymerase (*rpoC1*) gene sequences of isolated strains. *Appl Environ Microbiol* **63**:4298-4303
- Vaulot D, Ning X (1988) Abundance and cellular characteristics of marine *Synechococcus* spp. in the dilution zone of the Changjiang (Yangtze River, China). *Cont Shelf Res* **8**:1171-1186
- West NJ, Lebaron P, Strutton PG, Suzuki MT (2011) A novel clade of *Prochlorococcus* found in high nutrient

- low chlorophyll waters in the south and Equatorial Pacific Ocean. *ISME J* **5**:933-944
- Zhang J, Huang WW, Liu MG (1994) Geochemistry of major Chinese river-estuary systems. In: Zhou D, Liang YB, Zeng CK (eds) *Oceanology of China Seas*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 179-188
- Zwirgmaier K, Heywood JL, Chamberlain K, Woodward EMS, Zubkov MV, Scanlan DJ (2007) Basin-scale distribution patterns lineages in the Atlantic Ocean. *Environ Microbiol* **9**:1278-1290
- Zwirgmaier K, Jardillier L, Ostrowski M, Mazard S, Garczarek L, Vaultot D, Not F, Massana R, Ulloa O, Scanlan DJ (2008) Global phylogeography of marine *Synechococcus* and *Prochlorococcus* reveals a distinct partitioning of lineages among oceanic biomes. *Environ Microbiol* **10**:147-161

---

*Received Nov. 5, 2011*

*Revised Nov. 11, 2011*

*Accepted Nov. 21, 2011*