

## 부산 연안역의 진핵플랑크톤 종다양성에 대한 메타게놈 분석 연구

윤지미 · 이지은 · 이상래<sup>1</sup> · 노태근<sup>1</sup> · 이진애<sup>2</sup> · 정익교<sup>3</sup> · 이동섭<sup>3,\*</sup>

부산대학교 지구환경시스템학부

<sup>1</sup>부산대학교 해양연구소

<sup>2</sup>인제대학교 환경공학부

<sup>3</sup>부산대학교 해양학과

## Metagenomic Approach on the Eukaryotic Plankton Biodiversity in Coastal Water of Busan (Korea)

JIMIE YOON, JEE EUN LEE, SANG-RAE LEE<sup>1</sup>, TAEKEUN RHO<sup>1</sup>, JIN AE LEE<sup>2</sup>,  
IK KYO CHUNG<sup>3</sup> AND TONGSUP LEE<sup>3,\*</sup>

*Division of Earth Environmental System, Pusan National University, Busan 609-735, Korea*

*<sup>1</sup>Marine Research Institute, Pusan National University, Busan 609-735, Korea*

*<sup>2</sup>School of Environmental Science and Engineering, Inje University, Gimhae 621-749, Korea*

*<sup>3</sup>Department of Oceanography, Pusan National University, Busan 609-735, Korea*

플랑크톤의 종조성에 대한 정보는 해양 생태계 내에서 물질과 에너지 순환을 이해 하는데 필수적이다. 또한 수층의 물리화학적 특성과 변동에 민감하기 때문에 해양환경 특성을 이해하는데 중요한 정보를 제공한다. 본 연구는 메타게놈 분석 기법(metagenomics)을 적용하여 낙동강 유출수, 장강 희석수, 남해 연안수, 쓰시마 난류수 등의 혼합으로 복잡한 환경특성을 가질 것으로 예상되는 부산 연안역의 수괴 내에 존재하는 플랑크톤 종다양성을 분석하였다. 표층 해수에서 18S rDNA 클론라이브러리를 구축하였고 세 정점에서 분석된 370개의 클론들 중에서 94개의 phylotype들을 발굴하였다. 계통분석 결과 phylotype들은 Dinophyceae(42개), Ciliophora(15개), Bacillariophyta(7개), Chlorophyta(2개), Haptophyceae(1개), Metazoa(Arthropoda(17개), Chaetognatha(1개), Cnidaria(2개), Chordata(1개)), Rhizaria(Acantharea(2개), Polycystinea(1개)), Telonemida(1개), Fungi(2개) 등의 다양한 계통군들에 속하는 것으로 나타났다. 근접하게 위치한 세 정점에서 나타난 플랑크톤 종조성 차이는 이들 정점들이 여러 기원의 수괴(water mass) 혼합에 따른 다양한 물리화학적 환경요인의 영향에 기인한 것으로 판단된다. 향후 메타게놈 분석 기법을 통한 플랑크톤 종조성 연구는 다양한 물리화학적 특성을 가진 연안 해양생태계를 이해하는데 유용할 것으로 판단된다.

The species composition of plankton is essential to understand the material and energy cycling within marine ecosystem. It also provides the useful information for understanding the properties of marine environments due to its sensitivity to the physicochemical characteristics and variability of water masses. In this study we adopted metagenomics to evaluate eukaryotic plankton species diversity from coastal waters off Busan. Characteristics of water masses at sampling sites is expected to be very complex due to the mixing of various water masses; Nakdong River runoff, Changjiang diluted water (CDW), South Sea coastal water, and Tsushima warm current. 18S rDNA clone libraries were constructed from surface waters at the three sites off Busan. Clone libraries revealed 94 unique phylotypes from 370 clones; Dinophyceae(42 phylotypes), Ciliophora(15 phylotypes), Bacillariophyta(7 phylotypes), Chlorophyta(2 phylotypes), Haptophyceae(1 phylotype), Metazoa(Arthropoda(17 phylotypes), Chaetognatha(1 phylotypes), Cnidaria(2 phylotypes), Chordata(1 phylotype)), Rhizaria (Acantharea(2 phylotypes), Polycystinea(1 phylotype)), Telonemida(1 phylotype), Fungi(2 phylotypes). The difference in species diversity at the closely located three sites off Busan may be attributed to the various physicochemical properties of water masses at these sites by the mixture of water masses of various origins. Metagenomic study of species composition may provide useful information for understanding marine ecosystem of coastal waters with various physicochemical properties in the near future.

**Key words:** eukaryotic plankton, biodiversity, 18S rDNA, clone library, cryptic species

\*Corresponding author: tlee@pusan.ac.kr

## 서 론

부유생물(plankton)은 수생태계 내에서 1차 생산을 담당하고 있는 식물플랑크톤을 비롯하여 이를 먹이원으로 하는 동물플랑크톤, 그리고 물질의 재생을 담당하는 박테리아 등의 다양한 계통분류군들을 포함하고 있다. 또한, 크기가 1  $\mu\text{m}$  이하부터 수십 cm가 되는 것까지 다양한 크기로 존재하며 수온, 염분 등의 물리화학적 환경요인에 대한 광범위한 적응을 보이고 있다(Falkowski *et al.*, 1998). 해양 생태계에서는 초미세플랑크톤(picoplankton)과 같은 작은 크기의 생물에 대하여 “거기에 누가 사는가?”와 “그들은 무슨 일을 하고 있는가?”란 가장 기본적인 질문에 초점이 맞추어지고 있다(DeLong, 2009). 이러한 플랑크톤에게 지금까지 알려진 무생물학적 요구 조건이 갖추어지면 충분한 것인지 아니면 상호작용하는 생물 클러스터가 추가적으로 필요한 것인지에 대한 연구가 요구되며, 단 한 방울의 해수 안에 무려 백만 개체가 넘는 미생물이 존재하기 때문에 생물과 화학분야의 융합적 연구의 필요성을 제시하고 있다(Bowler *et al.*, 2009; DeLong, 2009). 또한, 플랑크톤의 군집을 이루는 종조성을 파악함으로써 수생태계를 이해하는데 중요한 정보를 얻을 수 있으며(Falkowski *et al.*, 1998; Bianchi *et al.*, 2003), 플랑크톤의 생태적 지위(ecological niche) 정보를 이용하여 생물의 생존과 생장의 환경요인을 분석하는데 유용한 정보로 활용될 수 있다(Pauly and Christensen, 1995; Duffy and Strachowicz, 2006).

현재까지 국내의 수생태계 플랑크톤 종조성 분석 연구들은 주로 형태형질을 근거로 한 우점종 중심의 연구들로 이루어져 왔다. 최(1969)는 1965년부터 1966년까지 한국 연근해, 대한해협과 동해 표층수에서 채수하여 포르말린으로 고정된 환경 시료 내에 존재하는 식물플랑크톤에 대한 연구를 수행하여 각 해역에 분포하는 우점종 등을 분석하였다. 또한, 심 등(1989)은 1985년 우리나라 동해 서남해역에서 식물플랑크톤 군집 분석을 실시하여 미세플랑크톤(nanoplankton; 2.0-20  $\mu\text{m}$ )이 해당 해역의 일차생산량과 주요한 연관관계가 있음을 확인하였다. 이를 통해 해양생태계에서 미세플랑크톤과 초미세플랑크톤(picoplankton; 0.2-2.0  $\mu\text{m}$ )이 차지하는 중요성이 강조되었다. 더불어 심 등(1995)은 동해 남부해역에서 하계 식물플랑크톤 군집의 집괴분석을 실시하여 수괴에 따른 플랑크톤 군집의 분포양상을 분석한 바 있다. 이처럼 한국 연근해 수역의 생태적 특성을 보고자 동식물플랑크톤의 군집구조가 분석되어 왔으며, 특히 육상기원의 수계와 연안수의 영향을 받아 염분과 영양염의 변화 등 물리화학적 환경의 변동이 심한 낙동강 하구역과 연안역은 주요 관심 연구지가 되어 왔다(문과 최, 1991; 권 등, 2001; 최 등, 2007; 문 등, 2008). 형태형질분석을 통한 종동정(species identification)을 기반으로 하는 기존의 플랑크톤 군집구조 분석연구는 현미경으로 관찰하기 어려운 미세 및 초미세 플랑크톤의 존재와 더불어 형태적 유사성(similarity) 및 가소성(plasticity) 등의 이유로 종동정에 있어 문제점이 보고되고 있다(Duffy and Stachowicz, 2006). 따라서 종동정의 정확성에 대한 검토가 필요한 실정이며 연구자의 숙련도에 따라 차이를 보이는 연구논문들의 종동정 데이터들을 비교분석하는데 있어서 보다 객관적인 방법이 필요하다.

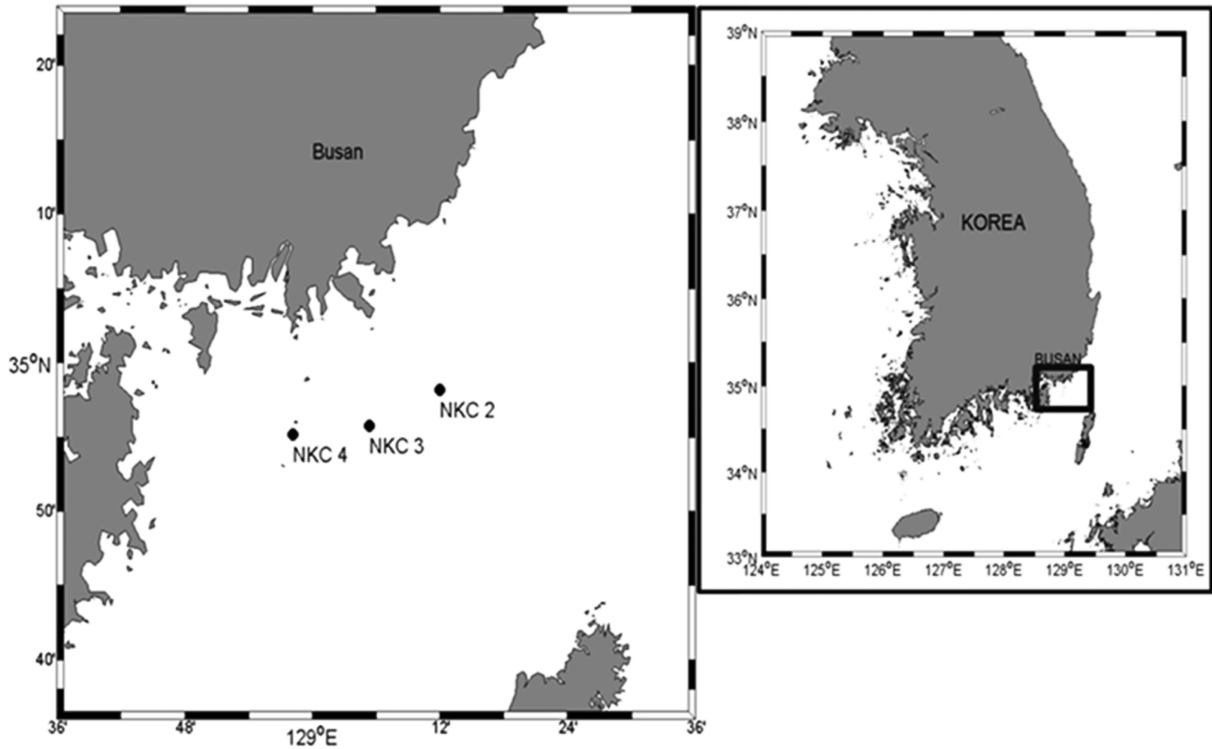
최근 생물해양학에 분자생물학적 방법인 메타게놈 분석 기법

(metagenomics, environmental genomics)이 도입되어 수생태계에 분포하는 플랑크톤 종다양성 연구에 새로운 전기를 제시하였다(López-García *et al.*, 2001; Moon-van der Staay *et al.*, 2001; DeLong, 2009; Not *et al.*, 2009; Rush *et al.*, 2007; Gilg *et al.*, 2010; McDonald *et al.*, 2010; Kim *et al.*, 2011; Simon and Daniel, 2011). 메타게놈 분석 기법은 환경시료에서 별도의 배양과정 없이 포함된 생물종 전체 DNA를 추출하고 유전정보를 담고 있는 특정 DNA 염기서열을 분석하여 생물종 정보를 얻는 방법이며, 환경시료에 포함되어 있는 모든 생물종에 대하여 분석이 가능하여 종조성을 파악하는데 시간을 단축시킬 수 있다. 또한, 현미경으로 파악한 종동정 정보와 비교하여 환경시료에서 발굴된 염기서열 정보는 유전자은행인 GenBank (NCBI; National Center for Biotechnology Information)에 수록되어 추가되는 종다양성 정보 및 염기서열과 비교 분석이 가능하며 추후에도 언제든지 생물종 정보를 확보할 수 있다는 것이 장점이 있다. 본 연구에서 18S ribosomal DNA를 표적유전자부위(target DNA region)로 선정해 메타게놈 분석 기법 중 클론라이브러리(clone library) 구축법을 통하여 염기서열 정보를 파악하였다. 이러한 18S rDNA 부위는 모든 진핵플랑크톤이 가지고 있으며 유전자은행에 다양한 계통분류군들에 속하는 생물종들의 참조데이터가 많이 축적되어 있어 종다양성 및 분포 현황에 대한 정보를 용이하게 확보할 수 있다. 메타게놈 분석 기법을 활용하여 얻어진 종다양성 정보들은 수생태계에서 생물종의 역할과 영양염 순환 메커니즘 파악에 이용된 바 있으며(Louie *et al.*, 2011; Monier *et al.*, 2012) 생물종 군집 자료는 수생태계의 화학해양학적 특성과의 상관관계를 추적하거나 수괴(water masses)별 종조성과 생물량에 대한 물리해양학적 분석에 활용 가능하다(Leppard and Munawar, 1992; Bianchi *et al.*, 2003).

연구해역인 부산 연안역은 쓰시마 난류와 장강 유출수로 희석된 해수가 남해안을 따라 동해로 진입하는 길목으로 남해안 연안수와 낙동강 유출수의 영향을 받는다(김과 이, 2004; 오 등, 2007). 이러한 다양한 수괴들은 부산 연안역의 수생태계에 분포하는 생물종에 다양한 서식환경을 제공할 수 있을 것으로 예상된다. 따라서 부산 연안역에서 채수된 환경시료에서 18S rDNA 클론라이브러리를 구축하였고 이의 분석을 통해 수생태계에 포함된 플랑크톤의 종다양성 정보를 수집하고자 하였다. 또한, 우점종을 중심으로 한 기존 연구와는 달리 우점종 뿐만 아니라 국내 미기록종과 신종 등의 새로운 계통분류군의 존재 가능성을 확인하고 분자생물학적 관점에서 해석을 시도하여 숨은 종다양성(cryptic species diversity)을 비롯하여 전체 해양에 많은 부분을 차지하고 있으나 그 크기가 작아 기존 분석법으로는 밝혀지지 못했던 종(희소종, rare species)과 같이 새로운 정보를 찾아보고자 하였다.

## 재료 및 방법

본 연구는 2010년 9월 29일 R/V 기상 2000호에서 현장조사를 실시하였다. 부산 연안에서 약 15 km 떨어진 해역의 세 정점에서 표층수를 채집하였고 세 정점 NKC2, NKC3, NKC4는 낙동강 하구 연안역에서 부산만에 이르는 구간까지 서로 약 10 km 간격으로 떨어져 있다(Fig. 1). 표층해수시료는 니스킨(Niskin) 채수병으로 채수되었고 이 중 실험에 필요한 1 L를 멸균된 2 L 무균채수



**Fig. 1.** The map of three sampling sites in the coastal water of Busan(Korea). NKC2 is located in 34°58'15.61"N, 129°11'56.39"E, NKC3 is located in 34°55'58.80"N, 129°5'9.60"E and NKC4 is located in 34°54'57.60"N, 128°58'12.02"E.

병에 옮겨 담았다. 여과기(Filter set, Gelman sciences)는 각 정점의 해수를 여과하기 전 10% 염산으로 세척하여 사용하였다. 해수는 현장에서 0.2 µm pore size mixed cellulose(직경 47 mm, Advantec)를 사용하여 500 mL를 여과하였으며 petri dish에 넣어 -20 °C의 냉동고에서 보관하였다. 실험실로 이동 후엔 초저온냉동고(-80 °C)에 보관하였다. 이로써 얻어진 환경시료는 DNA 추출과 PCR(중합효소증폭반응; Polymerase Chain Reaction), 클론라이브리더리 구축 등 Lee *et al.*(2010)의 방법에 따라 수행되었다.

여과과정을 통해 여과지에 모아진 크기가 0.2 µm 이상의 생물들을 DNeasy Plant Mini Kit(Quiagen, Germany)로 전체 DNA를 추출시켰다. 추출 결과는 Lambda DNA/HindIII marker 를 이용하여 1% agarose gel에 100 V, 45분 동안 전기영동으로 확인하였다. 추출된 DNA 중 진핵플랑크톤의 18S rDNA만을 증폭시키기 위해 primer A(Medlin *et al.*, 1988)와 primer SSU-inR1(Lee *et al.*, 2010)을 선택하여 PCR을 수행하였다. PCR 반응 결과는 100bp DNA Ladder marker Plus을 이용하여 2% agarose gel에 100 V, 25분 동안 전기영동하여 확인하였다. PCR에 의해 증폭된 산물은 High Pure PCR product Purification Kit(Roche)을 이용하여 gel purification 과정을 통해 정제하였다. 정제된 PCR 반응산물은 TOPO TA cloning Kit(Invitrogen, USA)로 클로닝(cloning)을 수행하였고 클론라이브리더리를 구축하였다.

클론라이브리더리에서 흰색 콜로니(colony)만을 멸균된 이쑤시개를 사용하여 선별하였고 colony PCR(콜로니 중합효소증폭반응)을 수행하였다. 각각의 strip tube 안에는 30 µL의 반응물과 1개의 콜로니로 구성되며 PCR 반응물은 amfXpand PCR master mix(2X,

GenDEPOT) 15 µL, primer A 1 µL, primer SSU-inR1 1 µL, DDW 13 µL를 혼합하여 분주하였다. PCR은 94 °C에서 10 분 동안 initial denaturation을 거쳐 94 °C에서 30 초의 denaturation, 55 °C에서 30 초의 annealing, 72 °C에서 1 분간 extension 과정을 40 회 반복하고 마지막으로 72 °C에서 7 분간 final extension 과정을 수행하였다. PCR-RFLP(제한효소절편다형성; Restriction Fragment Length Polymorphism) 분석은 Lee *et al.*(2010)에 따라 두 가지 제한요소 *MseI*와 *Tsp509I*를 사용하였으며 전기영동을 실시하여 agarose gel상에 각 클론(clone)들의 패턴을 얻었다. 이 중 반복되지 않고 고유한 패턴이라 판단되는 클론을 선택하고 염기서열 분석(sequencing)을 실시하여 염기서열을 보았다. 결정된 염기서열의 electropherogram들은 염기서열 분석 소프트웨어인 Sequencher v.4.9를 이용하여 양방향 염기서열 데이터를 교차 분석 후 단일 염기서열(contig)을 확보하였다. 이로써 확인된 염기서열은 NCBI GenBank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)에서 BLAST(Basic Local Alignment Search Tool) 검색을 통해 유사도 분석을 수행하였다.

유사도 분석결과 근연종으로 나타난 염기서열정보 및 유사도가 높은 uncultured environmental clone의 염기서열들을 포함하여 본 연구결과에서 결정된 클론들간의 분자계통분석을 실시하였다. 염기서열들은 소프트웨어 Clustal X(Jeanmougin *et al.*, 1998)를 이용하여 정렬하였고 소프트웨어 PAUP 4.0(Swofford, 2001)을 이용하여 neighbor-joining(NJ)방법(uncorrected-p model, midpoint rooting option)을 채택하여 분자계통수를 완성하였다. 또한, bootstrap 분석은 2000 replicates를 적용하여 실시하였다. 그리고 결정된 염기서열들 중의 chimera서열 존재확인을 위하여 Guillou

et al.(2008)에 따라 KeyDNAtools(<http://KeyDNAtools.com>)을 이용하여 Chimera test를 수행하였다.

## 결 과

세 정점의 환경시료에서 구축된 18S rDNA 클론라이브러리에서 진핵플랑크톤의 종조성을 파악하기 위하여 NKC2는 102개, NKC3은 172개, NKC4는 96개의 클론을 무작위로 선택하였다. 이들 중 PCR-RFLP의 패턴분석을 통하여 잠정적으로 고유한 패턴을 보이는 클론을 선별하고 염기서열을 결정하였다. 염기서열 분석 결과는 BLAST 검색을 통하여 NKC2에서는 22개, NKC3에서는 50개, NKC4에서는 22개의 phylotype들을 발굴하였다(Table 1). 발굴된 클론의 염기서열들은 GenBank에 등록하였다(Table 3, 4와 5; NKC2(JN814924-JN814946), NKC3(JN814947-JN814996), NKC4(JN814997-JN815019)).

각 정점 별 염기서열 분석 결과를 상위분류계급(High taxonomic rank) 기준으로 NKC2는 Alveolata(13개), Stramenopiles(2개), Haptophyceae(1개), Metazoa(6개)로 4개의 계통군으로 나뉘지며 NKC3은 Alveolata(31개), Stramenopiles(5개), Viridiplantae(2개), Metazoa(8개), Rhizaria(3개), Telonemida(1개)로 6개의 계통군 그리고 NKC4는 Alveolata(13개), Metazoa(7개), Fungi(2개)로 3개의 계통군으로 나누어졌다. 각각의 상위분류계급은 다시 강, 문의 하위분류계급으로 나누어 표기하였다. Alveolata는 Dinophyceae(외편모조류)와 Ciliophora(섬모충류), Stramenopiles는 Bacillariophyta(규조류), Viridiplantae는 Chlorophyta(녹조류), Rhizaria는 Acantharea(방사극충아강), Polycystinea(다낭류)로 나누어 표기하였으며 Metazoa는 Arthropoda(절지동물문), Chaetognatha(화살벌레류), Cnidaria(자포동물문) 그리고 Chordata(척삭동물문)으로 분류하여 표기하였다(Table 2). 이에 따라 세 정점에서 발굴된 phylotype들을 해당하는 분류군 별로 나누고 각 분류군에 따른 phylotype 개수를 표로 정리하였다(Table 2).

BLAST 검색 결과는 가장 높은 점수(Max score)의 유사도를 가지는 것을 우선 선택하였고, 생물종명을 가지고 있거나 유사도가 높은 염기서열 결과를 함께 기재하였다(Table 3, 4와 5). 최근 많은 수의 염기서열들이 메타게놈 분석 기법을 이용한 환경시료에서 발굴되고 있어 그 염기서열의 생물정보가 대부분 uncultured environmental clone으로 표기 되어있다.

Chimera test 결과, 총 94개의 클론 중에서 Guillou et al. (2008)의 기준에 의거한 chimera 염기서열로 판단할 만한 염기서열은 발견되지 않았다. 다만 NKC3-130의 경우 Chimera test 결과가 전체 523 bp 중 5'부분의 47번째에서 270번째 염기서열 구간이 Dinophyceae(12; KeyDNAtools(Guillou et al., 2008) 결과로부터 얻은 key 수치)와 유사하고 449번째에서 509번째 염기서열구간은 Ciliophora(12)와 유사한 것으로 평가되어 chimera 서열로 의심이

**Table 2.** Higher-level taxonomic affiliation of phylotypes at each sampling sites. Taxonomic grouping was determined by the result of BLAST analysis

Taxonomic affiliation		Sampling sites		
		NKC2	NKC3	NKC4
Alveolata	Dinophyceae	10	21	11
	Ciliophora	3	10	2
Stramenopiles	Bacillariophyta	2	5	
Haptophyceae	Haptophyceae	1		
Viridiplantae	Chlorophyta		2	
Metazoa	Arthropoda	4	8	5
	Chaetognatha			1
	Cnidaria	1		1
	Chordata	1		
Rhizaria	Acantharea		2	
	Polycystinea		1	
Fungi				2
Telonemida	Telonema		1	
Total		22	50	22

되었으나 Sargasso Sea에서 발굴된 AY664962 등과 98%의 높은 유사도(87% coverage)를 가지며 특히 99% coverage로 비교된 Sargasso Sea에서 발견된 AY664915와는 92%의 유사도를 보이므로 chimera 서열로 단정하기는 어렵다.

## 토 의

조사 정점인 세 정점은 약 10 Km 간격으로 위치해 있으며, 서로 근접한 해역의 진핵플랑크톤 종다양성을 보고자 18S rDNA 클론 라이브러리를 구축하였다. 클론라이브러리 구축법에는 PCR-RFLP 기법을 도입하여 다양한 분류군에 속하는 phylotype들을 발굴하였다. PCR-RFLP 기법을 도입하는 이유는 클론 전부에 대하여 중복 결과를 배제하고 잠재적으로 고유한 염기서열을 분석하기 위해서이다(Guillou et al., 2008; Lee et al., 2010). 본 연구에서 선택한 두 가지 제한효소(MseI과 Tsp509I)는 Lee et al.(2010)에서 PCR-RFLP 기법의 두 가지 제한효소의 선별 효율성을 검토하기 위하여 동일한 패턴을 가지는 클론에 대한 분석을 실시하였고, 김 등(2010)에서는 동일 패턴에 대한 클론분석 결과 동일한 염기서열을 가지는 phylotype으로 분석되었다. 따라서 본 논문에서도 이와 같은 방법으로 고유한 패턴을 가지는 클론을 선별하여 분석을 실시하였으며(Table 1) 추가적인 클론들 또한 분석하였으나 그 결과 역시 동일한 염기서열로 분석되었다.

이로써 분석된 세 정점의 phylotype들은 정점에 따라 나타나는 분류군의 차이를 보았다. Dinophyceae와 Ciliophora(Alveolata), Arthropoda(Metazoa)는 세 정점에서 공통으로 나타났으나 Bacillar-

**Table 1.** The number of selected clones and phylotypes from constructed clone libraries

Sampling sites	No. of libraries	Total no. of clones	No. of sequencing	No. of unique phylotypes
NKC2	1	102	28	22
NKC3	1	172	64	50
NKC4	1	96	45	22

**Table 3.** Phylotypes revealed from NKC2 clone library. Phylogenetic affiliations of phylotypes were adopted from the result of BLAST search and the phylogenetic analysis

Clone	Accession No.	Taxa	Result of BLAST search(NCBI)	Size (bp)	Max score	Accession number and Similarity
NKC2-9	JN814926		Uncultured eukaryotic clone	524	841	EF526881, Identities = 503/526 (96%), Gaps = 4/526 (0%)
		Dinophyceae	<i>Azadinium spinosum</i>		808	HQ324900, Identities = 499/527 (95%), Gaps = 11/527 (2%)
		Dinophyceae	<i>Karlodinium micrum</i>		808	AF274262, Identities = 500/529 (95%), Gaps = 9/529 (1%)
NKC2-83	JN814938		Uncultured eukaryotic clone	524	941	EU333087, Identities = 519/524 (99%), Gaps = 0/524 (0%)
		Dinophyceae	<i>Gyrodinium helveticum</i>		878	AB120004, Identities = 495/504 (99%), Gaps = 3/504 (0%)
NKC2-94	JN814942		Uncultured eukaryotic clone	525	965	AY664916, Identities = 524/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
		Dinophyceae	<i>Warnowia</i> sp.		920	FJ947040, Identities = 517/526 (99%), Gaps = 2/526 (0%)
		Dinophyceae	<i>Lepidodinium chlorophorum</i>		898	AY331681, Identities = 514/527 (98%), Gaps = 4/527 (0%)
NKC2-97	JN814943	Dinophyceae	Uncultured dinoflagellate clone	524	797	FN598262, Identities = 498/529 (95%), Gaps = 9/529 (1%)
		Dinophyceae	<i>Lepidodinium chlorophorum</i>		791	AY331681, Identities = 496/528 (94%), Gaps = 7/528 (1%)
		Dinophyceae	<i>Gymnodinium aureolum</i>		791	AY999082, Identities = 496/528 (94%), Gaps = 7/528 (1%)
NKC2-99	JN814944		Uncultured eukaryotic clone	526	859	AY665026, Identities = 506/525 (97%), Gaps = 6/525 (1%)
		Dinophyceae	<i>Warnowia</i> sp.		754	FJ947040, Identities = 484/519 (94%), Gaps = 11/519 (2%)
NKC2-12	JN814928		Uncultured eukaryotic clone	525	948	AY664948, Identities = 520/523 (99%), Gaps = 2/523 (0%)
		Dinophyceae	Dinophyceae sp.		876	AY434687, Identities = 508/524 (97%), Gaps = 4/524 (0%)
		Dinophyceae	<i>Heterocapsa</i> sp.		863	FJ549370, Identities = 510/529 (97%), Gaps = 9/529 (1%)
NKC2-100	JN814945		Uncultured eukaryotic clone	525	965	AY664962, Identities = 524/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
		Dinophyceae	<i>Lessardia elongata</i>		863	AF521100, Identities = 505/523 (97%), Gaps = 4/523 (0%)
		Dinophyceae	<i>Karlodinium micrum</i>		854	AF274262, Identities = 508/529 (97%), Gaps = 8/529 (1%)
NKC2-28	JN814929		Uncultured eukaryotic clone	522	697	GU433178, Identities = 469/511 (92%), Gaps = 16/511 (3%)
		Dinophyceae	Uncultured dinoflagellate clone		664	GQ402476, Identities = 466/514 (91%), Gaps = 21/514 (4%)
		Dinophyceae	<i>Amoebophrya</i> sp. ex <i>Prorocentrum minimum</i>		652	AY208894, Identities = 462/512 (91%), Gaps = 17/512 (3%)
NKC2-32	JN814931	Dinophyceae	Uncultured syndiniales clone	523	843	EU793362, Identities = 490/505 (98%), Gaps = 7/505 (1%)
			Uncultured alveolate clone		701	HM997334, Identities = 483/531 (91%), Gaps = 15/531 (2%)
NKC2-68	JN814935		Uncultured eukaryotic clone	523	856	JQ226593, Identities = 508/528 (96%), Gaps = 9/528 (2%)
		Dinophyceae	Uncultured syndiniales clone		804	EU793696, Identities = 478/497 (96%), Gaps = 9/497 (2%)
NKC2-77	JN814937	Bacillariophyta	<i>Achnanthes brevipes</i>	513	850	AY485476, Identities = 480/490 (98%), Gaps = 0/490 (0%)
		Bacillariophyta	<i>Navicula diserta</i>		815	AJ535159, Identities = 490/514 (96%), Gaps = 2/514 (0%)

Table 3. Continued.

Clone	Accession No.	Taxa	Result of BLAST search(NCBI)	Size (bp)	Max score	Accession number and Similarity
		Bacillariophyta	<i>Nitzschia longissima</i>		809	AY881968, Identities = 489/514 (96%), Gaps = 2/514 (0%)
NKC2-91	JN814940	Bacillariophyta	<i>Achnanthes brevipes</i>	513	878	AY485476, Identities = 485/490 (99%), Gaps = 0/490 (0%)
		Bacillariophyta	<i>Cymbella capitata</i>		837	HQ680519, Identities = 494/514 (97%), Gaps = 2/514 (0%)
		Bacillariophyta	<i>Nitzschia longissima</i>		837	AY881968, Identities = 494/514 (97%), Gaps = 2/514 (0%)
NKC2-92	JN814941		Uncultured eukaryotic clone	521	963	EF527095, Identities = 521/521 (100%), Gaps = 0/521 (0%)
		Ciliophora	<i>Strombidium cf. basimorphum</i>		870	FJ480419, Identities = 499/513 (98%), Gaps = 0/513 (0%)
NKC2-85	JN814939		Uncultured eukaryotic clone	494	822	AJ829840, Identities = 479/494 (97%), Gaps = 7/494 (1%)
		Ciliophora	Uncultured ciliate clone		691	FJ032670, Identities = 416/435 (96%), Gaps = 8/435 (1%)
		Ciliophora	<i>Parastrombidinopsis minima</i>		564	DQ393786, Identities = 438/497 (89%), Gaps = 30/497 (6%)
NKC2-102	JN814946		Uncultured eukaryotic clone	519	754	HM228002, Identities = 436/450 (97%), Gaps = 0/450 (0%)
		Ciliophora	Uncultured ciliate clone		651	GQ402487, Identities = 424/459 (93%), Gaps = 4/459 (0%)
NKC2-29	JN814930	Haptophyceae	<i>Chrysochromulina simplex</i>	523	966	AM491021, Identities = 523/523 (100%), Gaps = 0/523 (0%)
		Haptophyceae	<i>Chrysochromulina scutellum</i>		909	AJ246274, Identities = 513/523 (99%), Gaps = 2/523 (0%)
NKC2-11	JN814927	Chrodata	<i>Doliolum nationalis</i>	535	972	AB013012, Identities = 534/537 (99%), Gaps = 3/537 (0%)
NKC2-75	JN814936	Cnidaria	<i>Verella</i> sp.	533	863	AF358087, Identities = 511/532 (97%), Gaps = 4/532 (0%)
		Cnidaria	<i>Porpita porpita</i>		857	GQ424319, Identities = 511/533 (96%), Gaps = 6/533 (1%)
NKC2-1	JN814924		Uncultured eukaryotic clone	528	926	AY665124, Identities = 519/528 (99%), Gaps = 0/528 (0%)
		Arthropoda	<i>Acrocalanus monachus</i>		898	GU969201, Identities = 501/508 (99%), Gaps = 1/508 (0%)
		Arthropoda	<i>Neocalanus cristatus</i>		885	AF514344, Identities = 515/531 (97%), Gaps = 7/531 (1%)
NKC2-38	JN814932	Arthropoda	<i>Centropages furcatus</i>	525	959	GU969158, Identities = 523/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
NKC2-39	JN814933	Arthropoda	<i>Centropages furcatus</i>	526	966	GU969158, Identities = 523/523 (100%), Gaps = 0/523 (0%)
NKC2-67	JN814934		Uncultured eukaryotic clone	529	793	EF219017, Identities = 458/471 (97%), Gaps = 5/471 (1%)
		Arthropoda	<i>Paracalanus aculeatus</i>		787	GU969180, Identities = 457/471 (98%), Gaps = 5/471 (1%)
		Arthropoda	<i>Neocalanus cristatus</i>		760	AF514344, Identities = 498/537 (93%), Gaps = 18/537 (3%)
NKC2-102	JN814946		Uncultured eukaryotic clone	519	754	HM228002, Identities = 436/450 (97%), Gaps = 0/450 (0%)
		Ciliophora	Uncultured ciliate clone		651	GQ402487, Identities = 424/459 (93%), Gaps = 4/459 (0%)
NKC2-29	JN814930	Haptophyceae	<i>Chrysochromulina simplex</i>	523	966	AM491021, Identities = 523/523 (100%), Gaps = 0/523 (0%)
		Haptophyceae	<i>Chrysochromulina scutellum</i>		909	AJ246274, Identities = 513/523 (99%), Gaps = 2/523 (0%)

**Table 4.** Phylotypes revealed from NKC3 clone library. Phylogenetic affiliations of phylotypes were adopted from the result of BLAST search and the phylogenetic analysis

Clone	Accession No.	Taxa	Result of BLAST search(NCBI)	Size (bp)	Max score	Accession number and Similarity
NKC3-129	JN814990	Dinophyceae	Uncultured dinoflagellate clone	521	821	GQ402476, Identities = 500/526 (96%), Gaps = 8/526 (1%)
		Dinophyceae	<i>Amoebophrya</i> sp. ex <i>Prorocentrum minimum</i>		776	AY208894, Identities = 492/526 (94%), Gaps = 8/526 (1%)
NKC3-17	JN814954		Uncultured eukaryotic clone	524	952	EF526908, Identities = 521/524 (99%), Gaps = 0/524 (0%)
		Dinophyceae	<i>Amoebophrya</i> sp. ex <i>Prorocentrum minimum</i>		736	AY208893, Identities = 490/532 (93%), Gaps = 16/532 (3%)
NKC3-88	JN814975		Uncultured eukaryotic clone	520	841	GU433129, Identities = 498/519 (96%), Gaps = 2/519 (0%)
		Dinophyceae	<i>Amoebophrya</i> sp. ex <i>Prorocentrum minimum</i>		726	AY208893, Identities = 483/525 (92%), Gaps = 12/525 (2%)
NKC3-123	JN814986		Uncultured eukaryotic clone	524	891	AY664881, Identities = 512/526 (98%), Gaps = 4/526 (0%)
		Dinophyceae	<i>Karodinium micrum</i>		841	EF492506, Identities = 507/530 (96%), Gaps = 11/530 (2%)
		Dinophyceae	<i>Cachonina</i> sp.		822	AB183639, Identities = 500/525 (96%), Gaps = 9/525 (1%)
NKC3-152	JN814994	Dinophyceae	<i>Lepidodinium chlorophorum</i>	525	920	AY331681, Identities = 516/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
		Dinophyceae	<i>Warnowia</i> sp.		898	FJ947040, Identities = 513/526 (98%), Gaps = 2/526 (0%)
		Dinophyceae	<i>Proterothropsis</i> sp.		881	FJ947037, Identities = 510/526 (97%), Gaps = 2/526 (0%)
NKC3-61	JN814967		Uncultured eukaryotic clone	525	959	AY664916, Identities = 523/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
		Dinophyceae	<i>Warnowia</i> sp.		915	FJ947040, Identities = 516/526 (99%), Gaps = 2/526 (0%)
		Dinophyceae	<i>Lepidodinium chlorophorum</i>		893	AY331681, Identities = 513/527 (98%), Gaps = 4/527 (0%)
NKC3-79	JN814973		Uncultured eukaryotic clone	525	965	AY664916, Identities = 524/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
		Dinophyceae	<i>Warnowia</i> sp.		926	FJ947040, Identities = 517/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
NKC3-145	JN814993		Uncultured eukaryotic clone	525	965	AY664916, Identities = 524/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
		Dinophyceae	<i>Warnowia</i> sp.		920	FJ947040, Identities = 517/526 (99%), Gaps = 2/526 (0%)
NKC3-90	JN814977		Uncultured eukaryotic clone	525	920	AY664916, Identities = 517/526 (99%), Gaps = 2/526 (0%)
		Dinophyceae	<i>Warnowia</i> sp.		887	FJ947040, Identities = 511/526 (98%), Gaps = 2/526 (0%)
		Dinophyceae	<i>Lepidodinium chlorophorum</i>		865	AY331681, Identities = 508/527 (97%), Gaps = 4/527 (0%)
NKC3-78	JN814972		Uncultured eukaryotic clone	525	942	EF527111, Identities = 520/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
		Dinophyceae	<i>Gymnodinium</i> sp.		870	AF274260, Identities = 507/525 (97%), Gaps = 0/525 (0%)
NKC3-163	JN814995		Uncultured eukaryotic clone	525	959	AY664919, Identities = 523/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
		Dinophyceae	<i>Gymnodinium</i> sp.		848	AF274260, Identities = 505/527 (96%), Gaps = 4/527 (0%)
NKC3-114	JN814984		Uncultured eukaryotic clone	525	915	AY664919, Identities = 515/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
		Dinophyceae	<i>Gymnodinium</i> sp.		821	AF274260, Identities = 503/530 (95%), Gaps = 10/530 (1%)

Table 4. Continued.

Clone	Accession No.	Taxa	Result of BLAST search(NCBI)	Size (bp)	Max score	Accession number and Similarity
NKC3-3	JN814949		Uncultured eukaryotic clone	524	963	AY664889, Identities = 523/524 (99%), Gaps = 0/524 (0%)
		Dinophyceae	<i>Gymnodinium aureolum</i>		830	DQ779991, Identities = 499/523 (96%), Gaps = 3/523 (0%)
NKC3-104	JN814982		Uncultured eukaryotic clone	525	913	EU780604, Identities = 498/500 (99%), Gaps = 0/500 (0%)
		Dinophyceae	<i>Amphidinium semilunatum</i>		660	AF274256, Identities = 477/534 (90%), Gaps = 18/534 (3%)
NKC3-130	JN814991		Uncultured eukaryotic clone	523	811	AY664962, Identities = 453/460 (99%), Gaps = 0/460 (0%)
		Dinophyceae	<i>Lessardia elongate</i>		721	AF521100, Identities = 438/461 (96%), Gaps = 4/461 (0%)
		Dinophyceae	<i>Prorocentrum triestinum</i>		710	EF492512, Identities = 436/461 (95%), Gaps = 3/461 (0%)
NKC3-45	JN814961		Uncultured eukaryotic clone	528	804	AY664962, Identities = 453/462 (99%), Gaps = 0/462 (0%)
		Dinophyceae	<i>Lessardia elongate</i>		725	AF521100, Identities = 440/463 (96%), Gaps = 4/463 (0%)
NKC3-72	JN814970	Dinophyceae	<i>Ceratium fusus</i>	525	918	AF022153, Identities = 502/504 (99%), Gaps = 1/504 (0%)
		Dinophyceae	<i>Ceratium tenue</i>		826	AF022192, Identities = 502/528 (96%), Gaps = 5/528 (0%)
NKC3-101	JN814981	Dinophyceae	<i>Noctiluca scintillans</i>	511	861	AF022200, Identities = 497/512 (98%), Gaps = 2/512 (0%)
		Dinophyceae	<i>Spatulodinium pseudonoclituca</i>		673	GU355685, Identities = 379/386 (99%), Gaps = 2/386 (0%)
NKC3-15	JN814952		Uncultured eukaryotic clone	519	643	HM227211, Identities = 469/525 (90%), Gaps = 17/525 (3%)
		Dinophyceae	Uncultured syndiniales clone		516	FN598291, Identities = 453/533 (85%), Gaps = 27/533 (5%)
NKC3-75	JN814971		Uncultured eukaryotic clone	522	952	FJ221511, Identities = 520/522 (99%), Gaps = 1/522 (0%)
			Uncultured eukaryotic clone		942	AY665065, Identities = 519/523 (99%), Gaps = 2/523 (0%)
		Dinophyceae	<i>Duboscquodinium collinii</i>		440	HM483399, Identities = 442/536 (83%), Gaps = 31/536 (5%)
NKC3-121	JN814985		Uncultured eukaryotic clone	526	331	AY919716, Identities = 407/513 (80%), Gaps = 31/513 (6%)
		Dinophyceae	<i>Adenoides eludens</i>		303	EF492484, Identities = 402/513 (79%), Gaps = 31/513 (6%)
NKC3-65	JN814969	Bacillariophyta	<i>Achnanthes brevipes</i>	513	872	AY485476, Identities = 484/490 (99%), Gaps = 0/490 (0%)
		Bacillariophyta	<i>Cymbella capitata</i>		832	HQ680519, Identities = 493/514 (96%), Gaps = 2/514 (0%)
		Bacillariophyta	<i>Nitzschia longissima</i>		832	AY881968, Identities = 493/514 (96%), Gaps = 2/514 (0%)
NKC3-128	JN814989	Bacillariophyta	<i>Achnanthes brevipes</i>	513	867	AY485476, Identities = 483/490 (99%), Gaps = 0/490 (0%)
		Bacillariophyta	<i>Cymbella capitata</i>		826	HQ680519, Identities = 492/514 (96%), Gaps = 2/514 (0%)
		Bacillariophyta	<i>Navicula diserta</i>		821	AJ535159, Identities = 491/514 (96%), Gaps = 2/514 (0%)
NKC3-139	JN814992	Bacillariophyta	<i>Achnanthes brevipes</i>	513	872	AY485476, Identities = 484/490 (99%), Gaps = 0/490 (0%)
		Bacillariophyta	<i>Cymbella capitata</i>		830	HQ680519, Identities = 492/513 (96%), Gaps = 2/513 (0%)
		Bacillariophyta	<i>Navicula diserta</i>		824	AJ535159, Identities = 491/513 (96%), Gaps = 2/513 (0%)



**Table 4.** Continued.

Clone	Accession No.	Taxa	Result of BLAST search(NCBI)	Size (bp)	Max score	Accession number and Similarity
NKC3-95	JN814978		Uncultured stramenopiles clone	504	845	HM799827, Identities = 494/510 (97%), Gaps = 10/510 (1%)
		Bacillariophyta	<i>Cymbella zebra</i>		839	HQ680574, Identities = 493/510 (97%), Gaps = 10/510 (1%)
		Bacillariophyta	<i>Pseudo-nitzschia seriata</i>		839	GU373969, Identities = 493/510 (97%), Gaps = 10/510 (1%)
		Bacillariophyta	<i>Fragilariopsis cylindrus</i>		839	EF140624, Identities = 493/510 (97%), Gaps = 10/510 (1%)
NKC3-58	JN814966		Uncultured eukaryotic clone	521	952	FJ985881, Identities = 519/521 (99%), Gaps = 0/521 (0%)
		Bacillariophyta	<i>Chaetoceros rostratus</i>		926	X85391, Identities = 515/522 (99%), Gaps = 2/522 (0%)
		Bacillariophyta	<i>Asterionellopsis glacialis</i>		817	AY216904, Identities = 498/524 (96%), Gaps = 7/524 (1%)
NKC3-33	JN814959		Uncultured eukaryotic clone	513	869	GU474378, Identities = 503/518 (98%), Gaps = 6/518 (1%)
		Ciliophora	<i>Laboea strobila</i>		865	AF399151, Identities = 501/516 (98%), Gaps = 6/516 (1%)
NKC3-127	JN814988	Ciliophora	<i>Pseudotontonia simplicidens</i>	521	946	JF91015, Identities = 516/518 (99%), Gaps = 0/528 (0%)
		Ciliophora	<i>Strombidium cf. basimorphum</i>		843	FJ480419, Identities = 496/515 (96%), Gaps = 4/515 (1%)
		Ciliophora	<i>Varistrombidium kielum</i>		839	DQ811090, Identities = 498/519 (96%), Gaps = 3/519 (1%)
NKC3-52	JN814964		Uncultured eukaryotic clone	522	819	EU333072, Identities = 451/455 (99%), Gaps = 0/455 (0%)
		Ciliophora	<i>Pseudotontonia simplicidens</i>		741	FJ422993, Identities = 439/457 (97%), Gaps = 4/457 (0%)
		Ciliophora	<i>Strombidium cf. basimorphum</i>		725	FJ480419, Identities = 469/505 (93%), Gaps = 9/505 (1%)
NKC3-21	JN814955		Uncultured eukaryotic clone	519	948	EU333072, Identities = 517/519 (99%), Gaps = 0/519 (0%)
		Ciliophora	<i>Pseudotontonia simplicidens</i>		767	FJ422993, Identities = 490/525 (94%), Gaps = 10/525 (1%)
		Ciliophora	<i>Laboea strobila</i>		743	AF399151, Identities = 487/525 (93%), Gaps = 18/525 (3%)
NKC3-28	JN814958		Uncultured eukaryotic clone	513	767	GU433133, Identities = 483/515 (94%), Gaps = 7/515 (1%)
		Ciliophora	<i>Strombidium cf. basimorphum</i>	∞	660	GU206561, Identities = 469/521 (91%), Gaps = 15/521 (2%)
NKC3-98	JN814980		Uncultured eukaryotic clone	515	913	AY129053, Identities = 509/516 (99%), Gaps = 1/516 (0%)
		Ciliophora	<i>Varistrombidium kielum</i>		689	DQ811090, Identities = 475/523 (91%), Gaps = 11/523 (2%)
NKC3-62	JN814968		Uncultured eukaryotic clone	515	907	AY129053, Identities = 508/516 (99%), Gaps = 1/516 (0%)
		Ciliophora	<i>Varistrombidium kielum</i>		684	DQ811090, Identities = 474/523 (91%), Gaps = 11/523 (2%)
NKC3-124	JN814987		Uncultured eukaryotic clone	493	861	GU433146, Identities = 484/493 (99%), Gaps = 0/493 (0%)
			Uncultured eukaryotic clone		771	AJ829840, Identities = 474/499 (95%), Gaps = 13/499 (2%)
		Ciliophora	<i>Parastrombidinopsis shimi</i>		549	AJ786648, Identities = 449/516 (88%), Gaps = 36/516 (6%)
NKC3-166	JN814996		Uncultured eukaryotic clone	492	881	AY665101, Identities = 487/492 (99%), Gaps = 0/492 (0%)
		Ciliophora	<i>Parastrombidinopsis minima</i>		604	DQ393786, Identities = 457/514 (89%), Gaps = 31/514 (6%)

Table 4. Continued.

Clone	Accession No.	Taxa	Result of BLAST search(NCBI)	Size (bp)	Max score	Accession number and Similarity
NKC3-84	JN814974		Uncultured eukaryotic clone	508	867	AY665090, Identities = 497/510 (98%), Gaps = 3/510 (0%)
			Uncultured alveolate clone		773	DQ001414, Identities = 436/444 (99%), Gaps = 5/444 (1%)
		Ciliophora	<i>Zosterodasys agamaliievi</i>		501	FJ008926, Identities = 395/451 (88%), Gaps = 23/451 (5%)
NKC3-23	JN814957	Chlorophyta	Uncultured <i>Ostreococcus</i> clone	510	942	HM997279, Identities = 510/510 (100%), Gaps = 0/510 (0%)
		Chlorophyta	<i>Ostreococcus lucimarinus</i>		942	CP000592, Identities = 510/510 (100%), Gaps = 0/510 (0%)
		Chlorophyta	<i>Ostreococcus</i> sp.		942	AY425310, Identities = 510/510 (100%), Gaps = 0/510 (0%)
NKC3-47	JN814963	Chlorophyta	<i>Micromonas</i> sp.	511	944	HM191693, Identities = 511/511 (100%), Gaps = 0/511 (0%)
		Chlorophyta	<i>Micromonas pusilla</i>		944	AB183589, Identities = 511/511 (100%), Gaps = 0/511 (0%)
NKC3-22	JN814956	Rhizaria	<i>Acanthometra</i> sp.	518	957	GU246573, Identities = 518/518 (100%), Gaps = 0/518 (0%)
		Rhizaria	<i>Dorataspid</i> sp.		957	AB178586, Identities = 518/518 (100%), Gaps = 0/518 (0%)
		Rhizaria	<i>Haliommatidium</i> sp.		896	AF018159, Identities = 511/523 (98%), Gaps = 6/523 (1%)
NKC3-89	JN814976	Rhizaria	<i>Acanthometra</i> sp.	516	931	GU246574, Identities = 513/517 (99%), Gaps = 2/517 (0%)
		Rhizaria	<i>Hexaconus serratus</i>		926	AB178587, Identities = 511/516 (99%), Gaps = 0/516 (0%)
		Rhizaria	<i>Amphibelone cultellata</i>		845	AB178580, Identities = 501/521 (97%), Gaps = 8/521 (1%)
NKC3-97	JN814979		Uncultured eukaryotic clone	515	813	FJ785927, Identities = 495/521 (96%), Gaps = 7/521 (1%)
		Rhizaria	Uncultured polycystinea clone		750	FN598307, Identities = 487/524 (93%), Gaps = 14/524 (2%)
		Rhizaria	<i>Astrosphaera hexagonalis</i>		640	AB490706, Identities = 425/461 (93%), Gaps = 13/461 (2%)
NKC3-2	JN814948		Uncultured eukaryotic clone	526	972	GU433130, Identities = 526/526 (100%), Gaps = 0/526 (0%)
		Arthropoda	<i>Neocalanus cristatus</i>		872	AF514344, Identities = 510/528 (97%), Gaps = 3/528 (0%)
NKC3-7	JN814950		Uncultured eukaryotic clone	528	926	AY665124, Identities = 519/528 (99%), Gaps = 0/528 (0%)
		Arthropoda	<i>Acrocalanus monachus</i>		898	GU969201, Identities = 501/508 (99%), Gaps = 1/508 (0%)
		Arthropoda	<i>Neocalanus cristatus</i>		885	AF514344, Identities = 515/531 (97%), Gaps = 7/531 (1%)
NKC3-16	JN814953		Uncultured eukaryotic clone	528	920	AY665124, Identities = 518/528 (99%), Gaps = 0/528 (0%)
		Arthropoda	<i>Acrocalanus monachus</i>		893	GU969201, Identities = 500/508 (99%), Gaps = 1/508 (0%)
NKC3-57	JN814965		Uncultured eukaryotic clone	528	920	AY665124, Identities = 519/529 (99%), Gaps = 2/529 (0%)
		Arthropoda	<i>Acrocalanus monachus</i>		893	GU969201, Identities = 500/508 (99%), Gaps = 1/508 (0%)
NKC3-1	JN814947	Arthropoda	Copepod environmental sample	529	965	GQ402479, Identities = 527/529 (99%), Gaps = 2/529 (0%)
			Uncultured eukaryotic clone		965	EU371350, Identities = 527/529 (99%), Gaps = 2/529 (0%)

**Table 4.** Continued.

Clone	Accession No.	Taxa	Result of BLAST search(NCBI)	Size (bp)	Max score	Accession number and Similarity
NKC3-12	JN814951	Arthropoda	Copepod environmental sample	529	898	GQ402479, Identities = 516/530 (98%), Gaps = 4/530 (0%)
			Uncultured eukaryotic clone		898	EU371350, Identities = 516/530 (98%), Gaps = 4/530 (0%)
NKC3-39	JN814960	Arthropoda	Copepod environmental sample	527	974	GQ402479, Identities = 527/527 (100%), Gaps = 0/527 (0%)
			Uncultured eukaryotic clone		974	EU371350, Identities = 527/527 (100%), Gaps = 0/527 (0%)
NKC3-46	JN814962	Arthropoda	Copepod environmental sample	529	893	GQ402479, Identities = 515/530 (98%), Gaps = 4/530 (0%)
			Uncultured eukaryotic clone		893	EU371350, Identities = 515/530 (98%), Gaps = 4/530 (0%)
NKC3-108	JN814983	Telonemida	Uncultured telonema clone	520	937	AM418563, Identities = 515/519 (99%), Gaps = 0/519 (0%)
		Telonemida	<i>Telonema antarcticum</i>		852	AJ564773, Identities = 502/521 (97%), Gaps = 6/521 (1%)

**Table 5.** Phylotypes revealed from NKC4 clone library. Phylogenetic affiliations of phylotypes were adopted from the result of BLAST search and the phylogenetic analysis.

Clone	Accession No.	Taxa	Result of BLAST search(NCBI)	Size (bp)	Max score	Accession number and Similarity
NKC4-1	JN814997	Dinophyceae	<i>Noctiluca scintillans</i>	511	944	GQ380592, Identities = 511/511 (100%), Gaps = 0/511 (0%)
NKC4-10	JN815001	Dinophyceae	Uncultured dinoflagellate clone		966	HM769615, Identities = 523/523 (100%), Gaps = 0/523 (0%)
			<i>Gyrodinium cf. gutrula</i>	523	966	FN669511, Identities = 523/523 (100%), Gaps = 0/523 (0%)
			<i>Gyrodinium dominans</i>		966	FN669510, Identities = 523/523 (100%), Gaps = 0/523 (0%)
NKC4-75	JN815018		Uncultured eukaryotic clone	524	843	AY664956, Identities = 481/493 (98%), Gaps = 2/493 (0%)
		Dinophyceae	<i>Gyrodinium dominans</i>		797	FN669510, Identities = 473/493 (96%), Gaps = 3/493 (0%)
NKC4-30	JN815011		Uncultured eukaryotic clone	524	946	AY664972, Identities = 520/524 (99%), Gaps = 0/524 (0%)
		Dinophyceae	<i>Gyrodinium helveticum</i>		878	AB120004, Identities = 495/504 (99%), Gaps = 3/504 (0%)
NKC4-69	JN815017		Uncultured eukaryotic clone	524	941	AY664972, Identities = 519/523 (99%), Gaps = 0/523 (0%)
			<i>Gyrodinium helveticum</i>		870	AB120004, Identities = 494/503 (98%), Gaps = 3/504 (0%)
			<i>Gyrodinium rubrum</i>		850	AB120003, Identities = 490/503 (97%), Gaps = 4/504 (1%)
NKC4-7	JN815000		Uncultured eukaryotic clone	525	965	AY664916, Identities = 524/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
		Dinophyceae	<i>Warnowia</i> sp.		926	FJ947040, Identities = 517/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
			<i>Proterothropsis</i> sp.		904	FJ947036, Identities = 513/525 (98%), Gaps = 0/525 (0%)
NKC4-36	JN815013		Uncultured eukaryotic clone	525	920	AY664916, Identities = 517/526 (99%), Gaps = 2/526 (0%)
		Dinophyceae	<i>Warnowia</i> sp.		887	FJ947040, Identities = 511/526 (98%), Gaps = 2/526 (0%)
			<i>Nematodinium</i> sp.		865	FJ947039, Identities = 506/525 (97%), Gaps = 0/525 (0%)
NKC4-79	JN815019		Uncultured eukaryotic clone	525	948	AY664936, Identities = 521/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)

Table 5. Continued.

Clone	Accession No.	Taxa	Result of BLAST search(NCBI)	Size (bp)	Max score	Accession number and Similarity
NKC4-65	JN815016	Dinophyceae	<i>Karlodinium micrum</i>		865	EF492506, Identities = 507/526 (97%), Gaps = 2/526 (0%)
			<i>Amphidinium semilunatum</i>		865	AF274256, Identities = 507/527 (97%), Gaps = 4/527 (0%)
			Uncultured eukaryotic clone	523	883	AY664881, Identities = 510/525 (98%), Gaps = 3/525 (0%)
NKC4-35	JN815012	Dinophyceae	<i>Karlodinium micrum</i>		835	AF274262, Identities = 506/530 (96%), Gaps = 12/530 (2%)
			<i>Lessardia elongata</i>		822	AF521100, Identities = 498/523 (96%), Gaps = 6/523 (1%)
			Uncultured eukaryotic clone	525	948	DQ647525, Identities = 521/525 (99%), Gaps = 0/525 (0%)
NKC4-15	JN815003	Dinophyceae	Uncultured syndiniales clone		926	FN598302, Identities = 518/526 (99%), Gaps = 2/526 (0%)
			Uncultured eukaryotic clone	522	952	FJ221511, Identities = 520/522 (99%), Gaps = 1/522 (0%)
NKC4-20	JN815005	Dinophyceae	<i>Gymnodinium catenatum</i>		440	DQ779989, Identities = 444/539 (83%), Gaps = 32/539 (5%)
			Uncultured eukaryotic clone	521	902	EF527095, Identities = 511/522 (98%), Gaps = 2/522 (0%)
		Ciliophora	<i>Varistrombidium kielum</i>		861	DQ811090, Identities = 502/519 (97%), Gaps = 3/519 (0%)
NKC4-23	JN815008		<i>Novistrombidium sinicum</i>		850	FJ422990, Identities = 503/523 (97%), Gaps = 5/523 (0%)
		Chlorophyta	Uncultured <i>Ostreococcus</i> clone	510	937	HM997279, Identities = 509/510 (99%), Gaps = 0/510 (0%)
			<i>Ostreococcus lucimarinus</i>		937	CP000592, Identities = 509/510 (99%), Gaps = 0/510 (0%)
NKC4-6	JN814999		<i>Ostreococcus tauri</i>		907	AY329635, Identities = 505/511 (99%), Gaps = 3/511 (0%)
		Chaetognatha	<i>Flaccisagitta enflata</i>	570	961	DQ351877, Identities = 527/530 (99%), Gaps = 1/530 (0%)
		Chaetognatha	<i>Aidanosagitta neglecta</i>		944	DQ351882, Identities = 524/530 (99%), Gaps = 1/530 (0%)
NKC4-13	JN815002	Cnidaria	<i>Geryonia proboscidalis</i>	527	968	EU247816, Identities = 526/527 (99%), Gaps = 0/527 (0%)
			<i>Liriope tetraphylla</i>		963	AY920756, Identities = 525/527 (99%), Gaps = 0/527 (0%)
			<i>Olindias sambaquiensis</i>		946	EU247814, Identities = 524/529 (99%), Gaps = 4/529 (0%)
NKC4-2	JN814998	Arthropoda	<i>Paracalanus parvus</i>	526	904	GU969181, Identities = 489/489 (100%), Gaps = 0/489 (0%)
NKC4-37	JN815014		Uncultured marine archaeon clone	526	966	JQ226647, Identities = 525/526 (99%), Gaps = 0/526 (0%)
		Arthropoda	<i>Paracalanus parvus</i>		898	GU969181, Identities = 488/489 (99%), Gaps = 0/489 (0%)
			<i>Neocalanus cristatus</i>		867	AF514344, Identities = 509/528 (96%), Gaps = 3/528 (1%)
NKC4-29	JN815010		Uncultured eukaryotic clone	528	926	AY665124, Identities = 519/528 (99%), Gaps = 0/528 (0%)
		Arthropoda	<i>Acrocalanus monachus</i>		898	GU969201, Identities = 501/508 (99%), Gaps = 1/508 (0%)
			<i>Paracalanus aculeatus</i>		894	GU969180, Identities = 484/484 (100%), Gaps = 0/484 (0%)
NKC4-52	JN815015		Uncultured eukaryotic clone	528	920	AY665124, Identities = 519/529 (99%), Gaps = 2/529 (0%)

Table 5. Continued.

Clone	Accession No.	Taxa	Result of BLAST search(NCBI)	Size (bp)	Max score	Accession number and Similarity
NKC4-27	JN815009	Arthropoda	<i>Acrocalanus monachus</i>		893	GU969201, Identities = 500/508 (99%), Gaps = 1/508 (0%)
		Arthropoda	<i>Neocalanus cristatus</i>		880	AF514344, Identities = 514/531 (97%), Gaps = 7/531 (1%)
			Uncultured eukaryotic clone	528	915	AY665124, Identities = 517/528 (98%), Gaps = 0/528 (0%)
NKC4-21	JN815006	Arthropoda	<i>Acrocalanus monachus</i>		887	GU969201, Identities = 499/508 (99%), Gaps = 1/508 (0%)
		Arthropoda	<i>Neocalanus cristatus</i>		874	AF514344, Identities = 513/531 (97%), Gaps = 7/531 (1%)
		Fungi	Uncultured fungus clone	527	970	AB451532, Identities = 525/525 (100%), Gaps = 0/525 (0%)
NKC4-17	JN815004	Fungi	<i>Exidiopsis calcea</i>		902	AY293130, Identities = 514/527 (98%), Gaps = 0/527 (0%)
		Fungi	<i>Auricularia</i> sp.		896	DQ234542, Identities = 513/527 (98%), Gaps = 0/527 (0%)
		Fungi	<i>Gelatorporia subvermisporea</i>	527	974	AF334906, Identities = 527/527 (100%), Gaps = 0/527 (0%)
		Fungi	<i>Byssomerulius albostramineus</i>		968	AY219404, Identities = 526/527 (99%), Gaps = 0/527 (0%)
		Fungi	<i>Leptoporus mollis</i>		968	AY293140, Identities = 526/527 (99%), Gaps = 0/527 (0%)

iophyta는 NKC2, NKC3 정점에서 나타났고 Haptophyceae는 NKC2, Acantharea와 Polycystinea(Rhizaria), Telonemida는 NKC3 정점, Fungi는 NKC4 정점에서만 나타났다(Table 2). 또한, NKC2와 NKC4 정점의 결과에서 같은 수의 phylotype들이 나타났고 다른 두 정점에 비해 많은 phylotype들이 나타났던 NKC3 정점은 비교적 다양한 분류군을 보였다(Table 4). 그러나 본 연구에서 얻은 phylotype들은 아직 분류체계가 밝혀지지 않은 uncultured environmental clone들과 주로 높은 유사도를 보였고 이러한 클론이 대분류체계 내에서의 정확한 분류학적 위치에 대해서는 추가적인 연구 필요성을 제시하고 있다(Fig. 2).

**세 정점에서 공통으로 발굴된 생물종과 phylotype들**

세 정점에서 공통으로 발굴된 Ciliophora 분류군에 속하는 phylotype들은 모두 빈섬모충류(oligotrichs)에 속하는 것으로 나타났다. 클론 NKC3-33은 *Laboea strobila*와 98% 유사도를 가지며 계통학적으로도 매우 유사하고(Fig. 2) 기존의 형태적 연구 중에서 연구정점과 인근해역인 장목에서 관찰된 바 있다(Kim and Jang, 2008). 또한, 김 등 (2010)의 클론 NH18S-11이 클론 NKC3-33과 98% 유사도를 가지며 *Laboea strobila*와는 96% 유사도를 가지는 것으로 나타났다. 그리고 클론 NKC3-33과 GenBank에 수록된 *Laboea*속 생물종을 BLAST 검색한 결과, *Laboea strobila*의 각기 다른 연구에서 보고된 염기서열(Snoeyenbos-West et al., 2002; Agatha et al., 2004)과 94-98%를 가지는 것으로 나타났다. 그러나 GenBank에 수록된 *Laboea strobila* 간의 비교분석을 실시한 결과는 종내에서 99%의 변이를 보이는 것으로 나타나 이러한 변이가 종내변이인지 중간변이인지는 GenBank에 수록된 *Laboea*속 생물종이 *Laboea strobila* 1 종이므로 중간 유연관계를 결정하기는 어렵다. 그럼에도 불구하고 연안역에 *Laboea strobila* 근연분

류군이 존재하며 그 유전적 변이의 다양성이 관찰되었으므로 추후 *L. strobila* 근연 생물종에 대한 분리, single cell analysis와 같은 연구를 통해 그 실체가 구명되어야 한다고 판단된다. 클론 NKC3-21, NKC3-52은 남중국해에서 보고된 uncultured environmental clone과 가장 높은 유사도인 99%를 보였고 *Pseudotontonia simplicidens*와는 각각 94%, 97%의 유사도를 보였다. 그러나 클론 NKC3-127은 *Pseudotontonia simplicidens*와 99%의 높은 유사도를 보였으며 계통학적으로도 매우 유사함을 보여주었다. 또한, 본 연구에서 발굴된 종인 *Laboea strobila*, *Nocistrombidium sinicum*, *Pseudotontonia simplicidens*, *Strombidium* cf. *basimorphum*, *Varistrombidium kielum*는 국내에 보고된 자료가 없다. 유충섬모충류(tintinnids)에 속하는 섬모충류의 경우 세포조직의 구성 특징으로 인해 많은 연구가 진행되어 종조성에 대한 보고가 있으나 빈섬모충류의 경우는 형태적 분석이 어려워 환경시료에 많은 양 존재함에도 불구하고 고정시료에서 관찰하기 힘든 점이 지금까지 국내에서 미보고된 이유로 판단된다(정 등, 2002; 김과 이, 2003; Kim and Jang, 2008; 문 등, 2008). 본 연구를 통한 빈섬모충 관련 phylotype들은 기존의 연구 방법인 섬모충 세포의 고정과 염색 없이도 분석이 가능 했음을 보여주었다. 또한, Fig. 3에서 Ciliophora 분류군에 속하는 클론 NKC3-62, NKC3-98, NKC3-28은 새로운 신속 이상 분류군의 존재 가능성을 제시하고 있다.

외편모조에 속하는 *Warnowia* sp.는 Hoppenrath et al.(2009)에 따르면 태평양, 대서양 등 전세계적으로 광범위하게 분포되어 있으며 Sargasso Sea에서 유사한 클론이 발굴되었다고 보고되어 있다. 본 연구에서 발굴된 클론 NKC2-94, NKC2-99, NKC3-61, NKC3-79, NKC3-90, NKC3-145, NKC3-152, NKC4-7, NKC4-36은 이러한 *Warnowia* sp. 및 근연분류군과 비교적 높은 유사성을 보인다. Arthropoda 분류군에 속하는 클론 NKC2-1, NKC3-2,

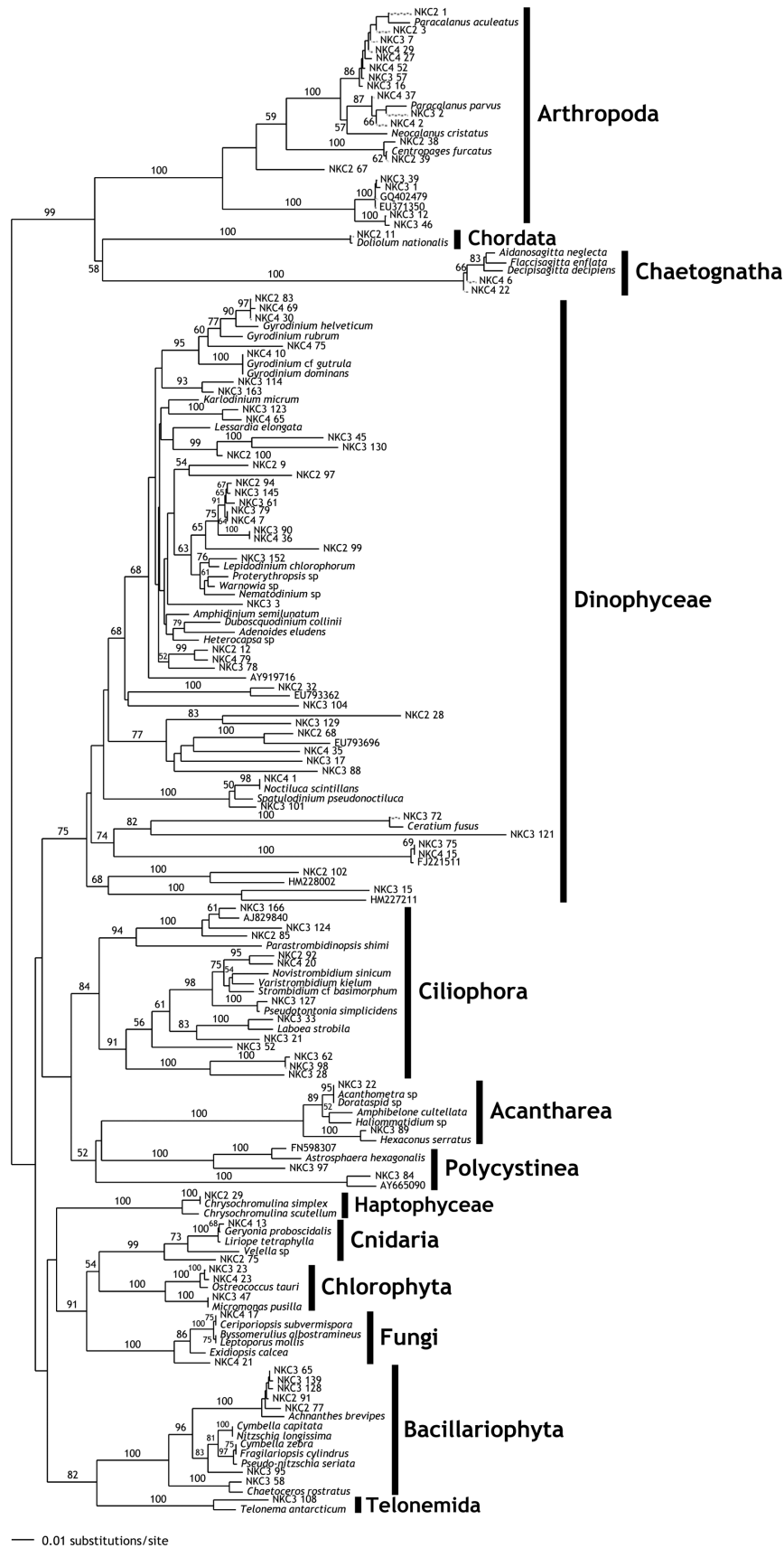


Fig. 2. Phylogenetic tree obtained from 18S rDNA sequences of clone libraries and reference sequences deposited in GenBank database. Numbers above the branch indicate bootstraps of NJ analysis.

NKC3-7, NK4-29, NK4-52, NK4-27은 *Neocalanus cristatus*와 97%의 유사도를 보였다. 이는 김 등(2010)에서 같은 방법으로 분석하여 보고된 남해도의 클론 NH18S-4와 염기서열이 같은 것으로 분석되었으며 Sargasso Sea의 클론과도 높은 유사도를 보여 전 세계 모든 해양에서 광범위하게 분포되어 있음을 알 수 있다(Tsuda et al., 1993).

### 각 정점에서 특이성을 보이는 계통군과 phylotype들

NKC2 정점에서만 발굴된 Haptophyceae 분류군은 크기가 20  $\mu\text{m}$  이하로 매우 작으며 연안에서 외양역까지 고루 분포되어 있으나 국내에선 연구가 미비하다(김과 정, 2004). 클론 NK2-29는 *Chrysochromulina simplex*과 100% 일치하나 *Chrysochromulina scutellum*와도 99% 유사도를 보이고 있어 이들은 중간 변이가 적고 서로 근연한 관계로 보여진다(Medlin et al., 2008). 또한, *Chrysochromulina* 속은 여전히 속수준, 종수준에서 연구가 지속되고 있어 분류체계의 변동가능성이 있다(Edvardsen et al., 2007). NK3 정점에서만 발굴된 Rhizaria 계통군은 미세소관이 지나가는 위족을 가지는 아메바 모양이나 껍질을 갖는 등 매우 복잡한 형태의 골격을 가지는 것도 있어 다양한 형태로 존재하며 유공충이나 방산충, 아메바편모충을 포함하고 있다. 국내에서는 퇴적물에서 고해양학 연구를 위한 유공충이 주로 연구되고 있으며(최 등, 2010; 강 등, 2010) 그 외의 분류군에 대한 연구자료는 미비하다(Itaki, 2003). Rhizaria 계통군 중에는 *Acantharea* 분류군에서 주로 나타났으며 *Polycystinea* 분류군에서도 나타났다. 클론 NK3-22은 *Acanthometra* sp. GU246573와 100% 유사도를 보이며 *Dorataspid* sp.와도 100% 유사도를 보였다. 이에 두 종은 종간의 변이가 조밀하다고 판단된다. 또한, *Haliommatidium* sp.와는 98%의 유사도를 보이는데 Gilg et al.(2010)에서도 *Acanthometra* sp.와 *Haliommatidium* sp.는 속간에 근연한 관계임이 보고 되었다. 클론 NK3-89는 *Acanthometra* sp. GU246573와는 95% 유사도를 나타내지만 *Acanthometra* sp. GU246574와는 99% 유사도를 보여 국내 연안에 분포하는 *Acanthometra* 속 생물종에 대한 연구의 필요성을 제시하고 있다. Telenemida 계통군은 국내에선 미보고된 계통군으로 클론 NK3-108은 *Telonema antarcticum*과 97%의 유사성을 가지는 것으로 나타났고 Indian Ocean에서 발굴된 uncultured environmental clone과도 99% 높은 유사도를 보였다. Fungi 계통군은 NK4 정점에서만 나타났다. 해양에서의 이 계통군은 국내외 모두 정보가 부족하며(Matheny et al., 2007; Jones, 2011) 클론 NK4-17, NK4-21는 참고염기서열과 속간 혹은 종간의 특이성은 보이지 않았다.

Metazoa 계통군 중 NK4 정점에서만 발굴된 cnidaria 분류군에서 클론 NK4-13은 *Geryonia proboscidalis*, *Liriope tetraphylla*, *Olindias sambaquiensis*와 99%의 유사도를 보였다. Collins et al.(2006)에 따르면 *Geryonia proboscidalis*와 *Liriope tetraphylla*는 같은 목(order)에 속하는 근연 종임을 알 수 있었다. 또한, 이 두 종과 *Olindias sambaquiensis*는 목수준에서는 다른 분류군을 보이거나 클론 NK4-13은 두 종과 함께 높은 유사도를 보여 두 목간에 염기서열 변이가 적거나 조밀한 것으로 짐작할 수 있다. Chaetognatha 분류군에 속하는 클론 NK4-6은 *Aidanosagitta neglecta*, *Flaccisagitta enflata*와 99%의 유사성을 보였고 이 두 종은 계통학적으로 매우

유사하여(Papillon et al., 2006) 생물종의 염기변이 범위에 따라 클론 NK4-6도 전혀 다른 신 종일 가능성도 있다.

### 그 외 다양한 계통군과 phylotype들

Chlorophyta 분류군의 *Ostreococcus* 속은 알려진 진핵플랑크톤 중에서 가장 작은 작은 크기(직경 $<2\ \mu\text{m}$ )이며 그 동안 이에 대한 연구가 미비했으나 분자생물학적 방법을 통해 연구가 활발히 진행되고 있다(Palenik et al., 2007). 클론 NK3-23과 NK4-23는 *Ostreococcus lucimarinus*와 각각 100%, 99% 유사도를 보였고 특히 클론 NK4-23는 *Ostreococcus tauri*과도 99%의 유사도를 보였다. 또한, 클론 NK3-47과 100% 유사도를 보이는 *Micromonas* sp.의 *Micromonas* 속은 *Ostreococcus*속과 McDonald et al.(2010)에 따라 속간에 매우 근연한 것으로 나타났다. 이러한 미세플랑크톤과 초미세플랑크톤은 크기가 매우 작지만 그에 반해 포식자들의 중요한 먹이가 되며 기초생산에 큰 영향을 미쳐 해양 생태계에 중요한 역할을 하여 연구 관심도가 높아지고 있다. 따라서 본 연구에 의해 연안역에서의 출현이 보고됨은 중요하다고 판단된다(정 등, 1998; Romari and Vaultot, 2004).

한편 Dinophyceae 분류군인 *Gyrodinium helveticum*은 수온에 따라 형태적 변형이 이루어져 다양한 모습을 하고 있다고 보고된 바 있다(Takano and Horiguchi, 2004). 이러한 *G. helveticum*과 99%의 높은 유사도를 보인 클론 NK2-83과 NK4-30은 같은 염기서열을 가지는 것으로 확인하였고 NK3 정점을 제외한 NK2와 NK4 정점에서 *G. helveticum*과 연관된 phylotype이 발견되었음을 알 수 있다. *G. rubrum*은 *G. helveticum*보다 그 크기가 2 배정도 더 크나(Takano and Horiguchi, 2004) 계통학적으로 근연하다. 클론 NK4-69는 *G. helveticum*과 98%, *G. rubrum*과 97%의 유사도를 보였고 클론 NK4-10은 *G. dominans*와 *G. cf. gutrula* 모두 100% 유사도를 보였다. 따라서 중간 염기서열의 차이가 작을 것으로 보여진다. *Karlodinium micrum*은 클론 NK4-79와 NK4-65에서 각각 97%, 96%를 보였으나 서로 다른 염기서열을 갖는(각각 EF492506, AF274262) *K. micrum* 이 출현한 것으로 보아 종내 염기서열 변이가 많을 것으로 예상된다. 클론 NK4-65는 *K. micrum*과 함께 *Lessardia elongata*와도 96%의 유사도를 보임에 따라 계통학적으로도 비교적 근연관계를 갖는 것으로 보였다. 클론 NK4-79는 *K. micrum*과 *Amphidinium semilunatum* 모두 97%의 유사도를 보였으나 계통수(Fig. 2)에서는 서로 연관관계가 없는 것으로 나타났다. 또한, 남해에서 동일한 연구방법으로 발표된 김 등(2010)의 클론 NH18S-116이 *K. micrum*과 96%의 유사도를 보여 본 클론과 염기서열이 유사한 생물종이 남해에도 존재하는 것으로 판단되었다. 문 등(2010)에서 사계절 동안 남해 연안 우점종으로 나타난 *Noctiluca scintillans*는 클론 NK4-1과 100% 유사도를 보였고 NK3 정점의 클론 NK3-101과는 97%, Lee et al.(2010)의 장자도 클론 JJ18S-1 GQ899147과는 99%의 유사도를 보였다. 따라서 *N. scintillans*는 많은 종내 변이가 존재함이 예상되며 산소고갈을 유도하여 적조를 유발시키는 생물종이므로 더욱 세밀한 연구가 추후에도 수행되어야 하며 이들 관계에 대한 정확한 정보가 필요하다(Huang and Qi, 1997; Montani et al., 1998).

부산 연안역을 따라 약 10 km 간격으로 얻은 세 개의 환경시

료는 같은 양의 시료이나 서로 다른 생물 종다양성을 확인하였으며 발굴된 플랑크톤 종조성에는 지금까지 국내에 미기록된 종, 잠재적인 신종이나 신속 등 새로운 분류학적 위치를 가지는 다양한 숨은 종다양성(cryptic species diversity)을 포함하고 있었다. 이러한 차이는 조석의 영향을 받기 쉬운 연안역이라는 지역적 특징과 이 지역을 지나는 서로 다른 물리화학적 특성을 가진 수괴의 영향으로 다양한 수괴의 혼합에 따른 물리화학적 환경요인이 정점별 생물 종조성 차이에 영향을 준 것으로 예상된다. NKC3 정점은 다른 두 정점에 비해 많은 phylotype들이 나타난 만큼 비교적 다양한 계통군을 보여 NKC2, NKC4 정점과는 다른 수괴의 영향일 것으로 예측가능하며, NKC2와 NKC4 정점 또한 같은 수의 phylotype들이 나타났음에도 불구하고 나타난 분류군이 다르게 나타나고 있다. 따라서 향후 이러한 메타게놈 분석 기법을 통한 플랑크톤 종조성 연구는 물리화학적 환경요인분석과 더불어 연근해 해양환경을 해석하는 데 있어 유용한 정보를 제공할 수 있을 것으로 판단된다.

## 사 사

본 연구는 'EAST-1'사업의 연구비지원에 의해 수행되었으며, R/V 기상2000호 선원들께 감사의 글을 올립니다.

## 참고문헌

- 강소라, 임동일, 김소영, 유혜수, 2010. 북동중국해 내대륙붕 코아 퇴적물의 저서유공충 군집 특성과 고해양환경 변화. 지질학회지, **46**: 395-411.
- 권기영, 이평강, 박철, 문창호, 박미옥, 2001. 섬진강 하구역에서 염분경사에 따른 동식물플랑크톤의 현존량 및 종조성. 한국해양학회지 바다, **6**: 93-102.
- 김보경, 이상래, 이진애, 정익교, 2010. 분자 모니터링을 이용한 서낙동강과 남해 연안 플랑크톤 군집 분석. 한국해양학회지 바다, **15**: 25-36.
- 김요혜, 이준백, 2003. 제주도 남부해역의 부유성 섬모충류의 종조성과 계절 변동. 한국해양학회지 바다, **8**: 59-69.
- 김일남, 이동섭, 2004. 하계 대한해협 저층냉수의 물리화학적 특성 및 기원. Ocean Polar Res., **26**: 595-606.
- 김형신, 정민민, 2004. 한국연안해역의 착편모조 분포. 한국양식학회지, **17**: 133-138.
- 문은영, 김영옥, 공동수, 한명수, 2008. 팔당호 유입부 경안천의 섬모충 플랑크톤 계절적 분포. 한국하천호수학회지, **41**: 11-18.
- 문성용, 오현주, 서호영, 2010. 남해 연안 동물플랑크톤 군집의 계절변동. Ocean Polar Res., **32**: 411-426.
- 문창호, 최혜지, 1991. 낙동강 하구 환경특성 및 식물플랑크톤의 군집구조에 관한 연구. 한국해양학회지, **26**: 144-154.
- 심재형, 양성렬, 이원호, 1989. 춘계 한국 동해 남부해역에서의 식물 수문학적 수역과 질산염약층의 수직양상. 한국해양학회지, **24**: 15-28.
- 심재형, 여환구, 박종규, 1995. 한국 동해 남부해역의 일차생산계. II. 식물플랑크톤 군집구조. 한국해양학회지, **30**: 163-169.
- 오현주, 이용화, 양준혁, 김승환, 2007. 2004년 하계 남해안 해황과 식물플랑크톤의 분포 특성. 한국지리정보학회지, **10**: 40-48.
- 정익교, 강윤향, 김영진, 권오섭, 1998. 한국 연안 초미세플랑크톤 생태: 1. 대한해협 서수도 해역. Algae, **13**: 101-107.
- 정혜진, 유영두, 김재성, 2002. 전북 새만금 남쪽 해역의 유해성적조 발생연구. 2. 1999년도 여름-가을 종속영양성 외편모류와 섬모충류의 시간적 변화. 한국해양학회지 바다, **7**: 140-147.
- 최상, 1969. 한국해역의 식물플랑크톤의 연구. 4. 동해, 남해 및 서해해역의 식물플랑크톤. 한국해양학회지, **4**: 49-67.
- 최정민, 강소라, 박일흠, 이연규, 2010. 천수만의 표층 퇴적물 및 저서 유공충의 분포 특성과 퇴적환경. J. Paleont. Soc. Korea., **26**: 107-128.
- 최철만, 김진호, 김원일, 이종식, 정구복, 이정택, 문성기, 2007. 낙동강하류의 식물플랑크톤상과 군집구조. 한국환경농학회지, **26**: 159-170.
- Agatha, S., M.C. Strüder-Kypke and A. Beran, 2004. Morphologic and genetic variability in the marine planktonic ciliate *Laboea strobila* Lohmann, 1908 (Ciliophora, Oligotrichia), with notes on its ontogenesis. J. Eukaryot. Microbiol., **51**: 267-281.
- Bowler, C., M.K. David and R.C. Rita, 2009. Microbial oceanography in a sea of opportunity. Nature, **459**: 180-184.
- Bianchi, F., F. Acri, F. Bernardi Aubry, A. Boldrin, E. Camatti, D. Cassin and A. Comaschi, 2003. Can plankton communities be considered as bio-indicators of water quality in the lagoon of Venice?. Mar. Pollut. Bull., **46**: 964-971.
- Collins, A.G., P. Schuchert, A.C. Marques, T. Jankowski, M. Medina and B. Schierwater, 2006. Medusozoan phylogeny and character evolution clarified by new large and small subunit rDNA data and an assessment of the utility of phylogenetic mixture models. Syst. Biol., **55**: 97-115.
- DeLong, E.F., 2009. The microbial ocean from genomes to biomes. Nature, **459**: 200-206.
- Duffy, J.E. and J.J. Stachowicz, 2006. Why biodiversity is important to oceanography: potential roles of genetic, species, and trophic diversity in pelagic ecosystem processes. Mar. Ecol. Prog. Ser., **311**: 179-189.
- Edwardsen, B. and L.K. Medlin, 2007. Molecular systematics of Haptophyta. Syst. Assoc. Spec., **75**: 183-196.
- Falkowski, P.G., R.T. Barber and V. Smetacek, 1998. Biogeochemical controls and feedbacks on ocean primary production. Science, **10**: 200-206.
- Gilg, I.C., L.A. Amaral-Zettler, P.D. Countway, S. Moorhi, A. Schnetzer and D.A. Caron, 2010. Phylogenetic affiliations of mesopelagic Acantharia and Antharian-like environmental 18S rDNA genes off the southern California coast. Protist, **161**: 197-211.
- Guillou, L., M. Viprey, A. Chambouvet, R.M. Welsh, A.R. Kirkham, R. Massana, D.J. Scanlan and A.Z. Worden, 2008. Widespread occurrence and genetic diversity of marine parasitoids belonging to syndiniales (Alveolata). Environ. Microbiol., **10**: 3349-3365.
- Hoppenrath, M., T.R. Bachvaroff, S.M. Handy, C.F. Delwiche and B.S. Leander, 2009. Molecular phylogeny of ocelloid-bearing dinoflagellates (Warnowiaceae) as inferred from SSU and LSU rDNA sequences. BMC Evol. Biol., **9**: 116.
- Huang, C. and Y. Qi, 1997. The abundance cycle and influence factors on red tide phenomena of *Noctiluca scintillans* (Dinophyceae) in Dapeng Bay, the South China Sea. J. Plankton Res., **19**: 303-



- 318.
- Itaki, T., 2003. Depth-related radiolarian assemblage in the water-column and surface sediments of the Japan Sea. *Mar. Micropaleontol.*, **47**: 253–270.
- Jeanmougin, F., J.D. Thompson, M. Gouy, D.G. Higgins and T.J. Gibson, 1998. Multiple sequence alignment with Clustal X. *Trends Biochem. Sci.*, **23**: 403–405.
- Jones, E.B.G., 2011. Are there more marine fungi to be described?. *Botanica Marina*, **54**: 343–354.
- Kim, E. et al., 2011. Newly identified and diverse plastid-bearing branch on the eukaryotic tree of life. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **108**: 1496–1500.
- Kim, Y.O. and M.C. Jang, 2008. Temporal distribution of planktonic Ciliates in Jangmok Bay, south coast of Korea. *Ocean Polar Res.*, **30**: 419–426.
- Lee, S.-R., J.H. Oak and I.K. Chung and J.A. Lee, 2010. Effective molecular examination of eukaryotic plankton species diversity in environmental seawater using environmental PCR, PCR-RFLP and sequencing. *J. Appl. Phycol.*, **22**: 699–707.
- Leppard, G.G. and M. Munawar, 1992. The ultrastructural indicators of aquatic ecosystem health. *J. Aquat. Anim. Health*, **1**: 309–317.
- López-García, P., F. Rodríguez-Valera, C. Pedrós-Alió and D. Moreira, 2001. Unexpected diversity of small eukaryotes in deep-sea Antarctic plankton. *Nature*, **409**: 603–607.
- Louie, L.W., S.T. Haley, E.D. Orchard, C.J. Gobler and S.T. Dyhrman, 2011. Nutrient-regulated transcriptional responses in the brown tide-forming alga *Aureococcus anophagefferens*. *Environ. Microbiol.*, **13**: 468–81.
- Matheny, P.B. et al., 2007. Contributions of *rpb2* and *tef1* to the phylogeny of mushrooms and allies (Basidiomycota, Fungi). *Mol. Phylogenet. Evol.*, **43**: 430–451.
- McDonald, S.M., J.N. Plant and A.Z. Worden, 2010. The mixed lineage nature of nitrogen transport and assimilation in marine eukaryotic phytoplankton: a case study of *Micromonas*. *Mol. Biol. Evol.*, **27**: 2268–2283.
- Maddison, W.P. and D.R. Maddison, 1991. *MacClade: analysis of phylogeny and character evolution*. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Medlin, L.K., H.J. Elwood and S. Stickel, 1988. The characterization of enzymatically amplified eukaryotic 16S-like rRNA-coding regions. *Gene*, **71**: 491–499.
- Medlin, L.K., A.G. Sáez and J.R. Young, 2008. A molecular clock for Coccolithophores and implications for selectivity of phytoplankton extinctions across the K/T boundary. *Mar. Micropaleontol.*, **67**: 69–86.
- Monier, A., R.M. Welsh, C. Gentemann, G. Weinstock, E. Sodergren, E. Virginia Armbrust, J.A. Eisen and A.Z. Worden, 2012. Phosphate transporters in marine phytoplankton and their viruses: cross-domain commonalities in viral-host gene exchanges. *Environ. Microbiol.*, **14**: 162–176.
- Montani, S., S. Pithakpol and K. Tada, 1998. Nutrient regeneration in coastal sea by *Noctiluca scintillans*, a red tide causing dinoflagellate. *J. Mar. Biotechnol.*, **6**: 224–228.
- Moon-van der Staay, S.Y., R. De Wachter and D. Vaultot, 2001. Oceanic 18S rDNA sequences from picoplankton reveal unsuspected eukaryotic diversity. *Nature*, **409**: 607–610.
- Not, F., J. del Campo, V. Balagué, C. de Vargas and R. Massana, 2009. New insights into the diversity of marine picoeukaryotes. *PLoS ONE*, **4**: e7143.
- Palenik, B. et al., 2007. The tiny eukaryote *Ostreococcus* provides genomic insights into the paradox of plankton speciation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **104**: 7705–7710.
- Papillon, D., Y. Perez, X. Caubit and X.L. Parco, 2006. Systematics of Chaetognatha under the light of molecular data, using duplicated ribosomal 18S DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*, **38**: 621–634.
- Pauly, D. and V. Christensen, 1995. Primary production required to sustain global fisheries. *Nature*, **374**: 255–257.
- Romari, K. and D. Vaultot, 2004. Composition and temporal variability of picoeukaryote communities at a coastal site of the English Channel from 18S rDNA sequences. *Limnol. Oceanogr.*, **49**: 784–798.
- Rush, D.B. et al., 2007. The Sorcerer II global ocean sampling expedition: northwest Atlantic through eastern tropical Pacific. *PLoS Biology*, **5**: e77.
- Simon, C. and R. Daniel, 2011. Metagenomic analyses: past and future trends. *Appl. Environ. Microbiol.*, **77**: 1153–1161.
- Snoeyenbos-West, O.L.O., T. Salcedo, G.B. McManus and L.A. Katz, 2002. Insights into the diversity of choreotrich and oligotrich ciliates (Class: Spirotrichea) based on genealogical analyses of multiple loci. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **52**: 1901–1913.
- Swofford, D.L., 2001. *PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and Other Methods)*. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA.
- Takano, Y. and T. Horiguchi, 2004. Surface ultrastructure and molecular phylogenetics of four unarmored heterotrophic dinoflagellates, including the type species of the genus *Gyrodinium* (Dinophyceae). *Phycol. Res.*, **52**: 107–116.
- Tsuda, A., H. Sugisaki, T. Ishimaru, T. Saino and T. Sato, 1993. White-noise-like distribution of the oceanic copepod *Neocalanus cristatus* in the subarctic North Pacific. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, **97**: 39–46.

---

2011년 11월 14일 원고접수

2012년 2월 9일 수정본 접수

2012년 2월 10일 수정본 채택

담당편집위원: 이준백