한국 주변해역에 서식하는 살오징어(*Todarodes pacificus*)의 형태 및 유전학적 계군분석

김정연 · 윤문근¹ · 문창호 · 강창근² · 최광호³ · 이충일^{4*}

부경대학교 해양학과

¹한국수산물관리공단

²포항공과대학교 해양대학원

³국립수산물연구원 자원연구과

⁴강릉원주대학교 해양자원육성학과

Morphological and Genetic Stock Identification of *Todarodes pacificus* in Korean Waters

JEONG-YUN KIM, MOON-GEUN YOON¹, CHANG-HO MOON, CHANG-KEUN KANG², KWANG HO CHOI³,
AND CHUNG IL LEE^{4*}

Department of Oceanography, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

¹Yangyang Salmon Station, Korea Fisheries Agency, Yangyang 215-851, Korea

²POSTECH Ocean Science & Technology Institute, Pohang University of Sciences and Technology, Gyeongbuk 790-784, Korea

³Fisheries Resources Research Division, National Fisheries Research & Development Institute, Busan 619-705, Korea

⁴Department of Marine Bioscience, Gangneung-Wonju National University, Gangneung 201-702, Korea

본 연구는 2011년 9월에서 12월까지 동해(북부, 중부, 남부), 서해, 동중국해의 해구에서 각각 채집된 살오징어의 계군을 형태 및 유전학 차이를 이용하여 구분하였다. 형태학적 차이에 따른 계군분석은 평균성숙외투장(20-22 cm)을 기준으로 하여 발생시기를 구분하였고, 유전학적 특성에 따른 계군은 mtDNA COI 영역의 염기변이에 의한 유전자 다양성을 이용하여 확인하였다. 본 연구 결과 평균성숙외투장을 기준으로 동해 북부는 발생시기가 하계군, 나머지 집단(동해 중부, 동해 남부, 동중국해 북부, 서해 북부)은 추계군으로 크게 2개의 계군으로 추정되었다. 유전자 분석결과 살오징어 mtDNA COI 영역에서 총 49개의 haplotype을 확인하였다. TCS 분석결과 haplotype 유전자형 네트워크가 star-like형태이며, 모든 집단에서 유전적 다양성(haplotype diversity, h)이 높고($h=0.661\sim0.841$), 반면에 염기 다양도(nucleotide diversity, π)가 낮게 나타난 점으로 미루어보아 국내 서식 살오징어의 경우 최근에 급속한 집단의 분화가 이루어진 것으로 판단된다. Pairwise F_{st} 를 이용한 집단분석결과 비록 모든 집단간의 유전적 차이가 낮게 나타났다($F_{st} = 0.001\sim0.043$) 평균성숙외투장 기준으로 같은 추계군으로 분류된 집단(동해 중부, 동해남부, 서해 북부)간에는 유전적 차이를 확인할 수 있었다($P<0.05$).

Stock identification of *Todarodes pacificus* collected in the East Sea, Yellow Sea and East China Sea during the period from September to December in 2011 was analyzed by morphometric characters and mitochondrial DNA (mtDNA) cytochrome oxidase subunit I (COI) gene nucleotide variations. Frequency distributions of mantle length was analyzed by morphological method with measuring size of *T. pacificus*. Then each stock was estimated to confirm their maturation for mean mantle length comparing with mean mature mantle length 20-22 cm. According to morphologic stock identification, it is estimated that the northern part of East Sea is categorized as summer stock and the rest parts, including mid /southern part of the East Sea, northern part of the East China Sea and northern part of the West Sea were autumn stock. For genetic analysis, a total 49 haplotypes were defined by 33 variable nucleotide sites. From the extensive haplotype diversity, limited nucleotide diversity and star-like shape of haplotype network, *T. pacificus* appears to have undergone rapid population expansion from

an ancestral population with a small effective population size. Although pair-wise F_{st} estimates which represent genetic difference among groups were low, there are relatively remarkable difference of F_{st} between middle and southern part of the East Sea. Although middle part of the East Sea and southern part of the East Sea were situated at the East Sea, genetically separated groups were appeared.

Key words: *Todarodes pacificus*, Morphologic and genetic stock identification, Mitochondrial DNA, Haplotype and nucleotide diversity

서론

살오징어(*Todarodes pacificus*)는 우리나라의 주요 상업어종 중 하나로 오후크해에서 남중국해까지 북서태평양 전역에 분포한다(Okutani, 1983; Murata, 1990; Mokrin et al., 2002). 살오징어는 단년생 생물로서 서식수온은 4-27 °C로 광온성 생물이며, 표층에서부터 수심 200 m 정도에 주로 서식한다(Nakamura and Sakurai, 1991, 1993). 유생시기는 일시성플랑크톤이며 주로 해류에 의해 분포와 이동이 결정된다. 유생시기가 끝난 후에는 유영능력을 가지며 어군을 형성하여 먹이를 찾아 북상 회유하고 동해에 중심어장이 형성된다.

살오징어 계군은 형태학적 방법, 표지방법, 생태학적 방법, 유전학적 방법 등에 의해 분석되어 왔으며, 주로 형태 및 생태학적 방법에 초점이 맞추어졌다. 그 결과 우리나라 주변역에 서식하는 살오징어는 주 발생 시기에 따라 하계군, 추계군, 동계군의 세 계군으로 구분된다(Kasahara, 1978; Okutani, 1983; Murata, 1990; Kim and Kang, 1995). 각각의 분석 방법은 장단점을 지니는데, 예를 들어 형태학적 방법인 외투장, 두부 길이, 체중 등 상대적으로 다른 방법에 비해 측정이 용이한 반면, 외투장 조성을 제외하면 성장환경에 따라서 태어난 시기에 따른 집단 간의 차이가 뚜렷하지 않는 단점이 있다. 또한, 어체의 크기는 성체에 이르렀지만 미성숙 단계일 수 있으며 이러한 경우 계군 분석 결과가 다르게 나타날 수 있다. 표지 및 생태학적 방법 또한 계군별 회유경로 파악이나 생물과 환경과의 관계를 이용할 수 있는 장점이 있으나 회수가 어렵고 환경과 생물의 변화를 정량적으로 이해하기 어려움이 있다. 이러한 문제를 부분적으로 해결하고자 최근 유용 해양 생물에 대한 계군을 분석하는데 유전자를 이용하는 방법이 널리 시도되고 있다. 국내의 경우 살오징어에 대한 유전학적 연구로는 isozyme 다형 분석법을 이용한 계군 분석(Kim, 1990; Kang et al., 1996)이 있을 뿐이며, isozyme 다형 분석법의 특성상 생식격리후 시간이 짧은 집단 간의 차이를 검출하는 데는 한계를 보임으로서 집단(Population) 수준의 유전적 차이는 확인되지 않았다. 유전학적 계군분석에 사용되는 마커는 집단 간 차이 또는 유연관계 예를 들면 유전자 흐름(gene flow), 유전적 부동(genetic drift) 양상을 파악할 수 있는 감도가 뛰어나야 한다. 최근에는 DNA 특정 영역중에서 변이성이 높은 유전자영역인 mitochondrial DNA(mtDNA)를 유전자 마커로서 광범위하게 이용되어지고 있다. MtDNA 중에서도 cytochrome oxidase subunit I (COI)영역은 다양한 해양 무척추동물들의 개체군 연구에서 널리 사용되어진 마커(Edmonds et al., 1996; Uthiche and Benzie, 2003)로써 유전정보가 다량으로 축적되어있어 마커개발이 용이하며, 다양한 해양생물들의 종내 또는 종간의 진화적 유연관계를 밝히고 이해하는데 매우 유용하게 사용되고 있다.

또한 유전자 분석방법은 태어날 때부터 가지고 있는 고유의 유

전자를 비교해 봄으로써 알 수 있는 방법이기 때문에, 언제, 어디서 어획되든 고유의 자료를 가지고 있다. 따라서 회유성어류 또는 살오징어처럼 이동반경이 매우 큰 어류는 각 국의 영해가 정해져 있고 한정된 해역에서만 어획해야하는 상황에 기존 분석방법이 가지는 한계점을 보완해 줄 계군분석 방법으로 판단된다.

따라서 본 연구는 한국 주변 해역에 서식하는 살오징어의 계군을 분석하기 위해 초가을에서 초겨울 사이에 서식하는 5개 지역을 선정하여 이들 지역에서 채집된 살오징어에 대해 Kim et al.(1997)이 제시한 평균성숙외투장을 이용하여 형태적 차이를 분석하고 mtDNA COI영역을 유전자 마커로 이용하여 지역 집단 간의 유전적 차이점을 분석하고자 한다.

재료 및 방법

실험표본

실험표본은 2011년 9월-12월에 동해(속초, 후포, 감포), 서해(인천), 동중국해 북부(제주) 등 다섯 개의 해구에서 총 228마리를 채집하였다(Fig. 1). 동해에서는 12월 28일 속초(해구번호 55)에서 정치망으로 48마리, 10월 12일 후포(해구번호 76)에서 채낚기로 48마리, 11월 26일 감포(해구번호 88)에서 채낚기로 40마리를 어획하였다. 서해에서는 9월 19일-9월 22일 인천(해구번호 151)에서 쌍끌이로 47

Fig. 1. Sampling sites (■) of *Todarodes pacificus* in Korean waters. Numerals indicate No. of each seablock.

Table 1. Sampling sites, date of collection, fishing gear type, number of samples of *Todarodes pacificus* used for morphological and genetic analysis

Sample site (No. seablock)	Date of collection	Fishing gear type	Sample number
NES (55)	2011. 12. 28	Setnet	48
MES (76)	2011. 10. 12	Angling	48
SES (88)	2011. 11. 26	Angling	40
NWS (151)	2011. 09. 19 - 2011. 09. 22	Pair trawl	45
NECS (115)	2011. 10. 24 - 2011. 11. 08	Pair trawl	47

MES: Middle part of the East Sea

NES: Northern part of the East Sea

NECS: Northern part of the East China Sea

NWS: Northern part of the West Sea

SES: Southern part of the East Sea

마리, 동중국해 북부에서는 10월 24일-11월 8일 제주(해구번호 115)에서 쌍끌이로 45마리를 어획하여 총 228마리를 채집하였다(Table 1). 각각의 표본들은 근육조직을 잘라 100% 알코올에 담아 보관하였다. 그리고 속초(55)는 동해 북부, 후포(76)는 동해 중부, 감포(88)는 동해 남부, 그리고 인천(151)은 서해 북부, 제주(115)는 동중국해 북부를 각각 지칭한다.

형태학적 계군분석

형태학적 분석은 살오징어의 외투장을 측정하고 외투장(mantle length) 조성을 분석하여 판단하였고, Kim *et al.*(1997)의 결과를 인용하여 외투장 길이에 따른 생식소 발달상태를 평가하였다. Kim *et al.*(1997)은 한국 해역에 분포하는 살오징어의 평균성숙외투장은 20-22 cm로 유의한 수준의 계군 간 차이는 없는 것으로 설명하였다. 계군의 분리는 외투장 조성을 분석하고 각 채집시기별로 성숙 외투장을 고려하여 발생시기를 추정하였다. 따라서 1-4월에 성숙된 집단은 동계군, 5-8월에 성숙된 집단은 하계군, 9-12월에 성숙된 집단은 추계군으로 추정하였다.

Mitochondrial DNA 분석

Genomic DNA 추출

Genomic DNA는 100% 알코올에 보관된 살오징어의 근육조직으로부터 DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN)를 이용하여 추출하였다. Genomic DNA의 추출방법은 Kit의 매뉴얼을 따랐고, 추출된 DNA는 4 °C에서 냉장보관 하였다.

Cytochrome c oxidase subunit I (COI) 유전자 영역 증폭 및 염기서열분석

Genomic DNA로부터 mtDNA의 COI영역을 선택적으로 증폭시키기 위해 PCR (Polymerase Chain Reaction)방법을 사용하였으며, 반응액은 template DNA 10 µg 0.5 µl, 10X PCR buffer (TAKARA, JAPAN) 2.5 µl, Taq polymerase (TAKARA, JAPAN) 0.2 µl, dNTP 0.5 µl, forward primer 10 pmole 0.5 µl, reverse primer 10 pmole 0.5 µl, DDW 20.3 µl를 넣어 반응총액 25 µl로 반응시켰다. Primer는 기존에 보고된 살오징어 mtDNA 유전정보(Takumiya *et al.*, 2005)를 토대로 제작하였으며, forward primer (5'-GGA CTA TTA GGT ACA TCA TTA A-3')와 reverse primer (5'-CTT CGG GAT GCC CAA AGA AT-3')를 사용하여 AccuPower PCR premix tube (Bioneer,

Korea)에 template 2 µl를 첨가한 후 다음과 같은 조건으로 PCR (PCR machine: PTC-200, Bio-Rad, USA)을 수행하였다: Initial denaturation 94 °C 5분, PCR reaction 35 cycles (denaturation 94 °C 30초, annealing 53 °C 30초, extension 72 °C 1분 15초), final extension 72 °C 7분.

PCR 완료 후 1% Agarose gel 1 g에 PCR product 5 µl를 주입한 후 전기영동장치(Powerpac, BIO-RAD, USA)를 100 Voltage에서 30분 동안 전기영동 시킨 후 gel을 UV transilluminator 상에서 최종 산물을 확인하였다. DNA 염기서열은 direct sequencing 분석 방법을 사용하였으며, ABI PRISM dye terminator cycle sequencing kit (PE Biosystem, USA)로 부터 다음과 같은 실험을 반복하여 염기확인을 위한 전처리 작업을 수행하였다. 95 °C에서 2분 초기반응(initial-activation) 후, 96 °C에서 10초(denaturation), 50 °C에서 5초(annealing), 60 °C에서 4분(extension)의 3단계를 35회 반복하였다. 이와 같은 과정은 GeneAmp 2400 (PE Biosystem, USA)으로 증폭시켰으며, direct sequencing을 위해 PCR 반응에 사용한 동일 primer를 이용하였다. 증폭된 PCR 산물은 에탄올에 침전시킨 후, ABI PRISM 377 DNA sequencer (PE Biosystem, USA)를 이용하여 염기서열을 해독하였다. 이상에서 얻어진 살오징어 개체의 염기서열은 Clustal X program (version 1.83)을 사용하여 염기서열을 정렬하였으며, Sequencher (version 4.8) programs을 이용하여 개체로부터 얻어진 forward 및 reverse 염기서열 정보를 assembly 하여 하나의 contig를 만들고 결과가 안 좋은 부분은 염기정렬과정에서 나타난 확실한 정보를 바탕으로 editing 하여 완전한 염기서열을 만들어 분석하였다. 마지막으로 개체간 염기서열내 존재하는 염기변이의 차이점을 확인하여 유전자형(haplotype)을 결정하였다.

통계분석

살오징어 집단의 유전적 다양성(genetic diversity)과 특징은 집단의 유전자형 다양도(haplotype diversity, *h*)와 염기 다양도(nucleotide diversity, π)를 이용하였으며 pairwise F_{ST} (Slatkin and Hudson, 1991)수치를 이용하여 집단간 유전적 차이점 정도를 측정하였다. 각 F_{ST} 값의 유의성검정은 10,000번의 random permutation으로부터 수행되었다. 모든 통계학적 분석은 ARLEQUIN program (version 2.000, Schneider *et al.*, 2000)을 이용하였다. 또한 haplotype간 유전적 유연관계는 TCS program (Clement *et al.*, 2000)을 이용하여 작성하였다.

결 과

외투장 조성

Kim *et al.*(1997)이 제시한 평균성숙외투장을 기준으로 본 연구에서 채집한 살오징어 계군을 분석하면 동해 북부에서는 두 개의 모드(mode), 나머지 해역에서는 한 개의 모드(mode)가 나타났다 (Fig. 2). 동해 중부에서는 10월에 어획된 살오징어 외투장 범위가 23~31 cm로 평균성숙외투장보다 크며, 이를 근거로 발생시기를 추정해보면 추계군으로 판단되고, 동해 남부에서는 11월에 어획된 살오징어 외투장 범위 또한 23~28 cm로 추계군으로 판단된다. 동해 북부에서 12월에 어획된 살오징어 중 80%는 평균성숙외투장 보다 작은 14~19 cm로 나타났고, 이는 하계군으로 추정된다. 반면 동계군으로 추정되는 나머지 20%는 평균성숙외투장 보다 큰 20~27 cm로 나타났다. 서해 북부에서는 9월에 어획된 살오징어 외투장은 19~28 cm로 평균성숙외투장보다 큰 추계군으로 판단된다. 동중국해 북부에서는 11월에 어획된 살오징어의 외투장은 21~31 cm로 추계군으로 판단된다.

따라서 동해 북부를 제외한 나머지 해구에서 어획된 살오징어는 모두 추계군으로, 동해 북부의 경우 약 80%는 하계군, 나머지 약 20%는 동계군으로 판단된다.

집단별 유전적 차이

Mitochondrial DNA COI 분석: 동해 북부, 동해 중부, 동해 남부, 동중국해 북부, 서해 북부에서 어획된 총 228개체에 대해

Fig. 3. Agarose gel picture of PCR products partial mitochondrial COI.

Fig. 2. Frequency distributions of mantle length of *Todarodes pacificus* of each sampling site. Dotted bar indicates maturity of mantle length.

Table 2. Variable sites of the mtDNA COI haplotypes of *Todarodes pacificus*

[illegible]

Fig. 4. A single minimum spanning tree of the 49 mtDNA haplotypes of *Todarodes pacificus*. Circle size reflects haplotype abundances.

mtDNA COI 유전자 영역 일부를 증폭시킨 결과 Fig. 1과 같이 600 bp 정도 크기의 증폭 산물을 얻을 수 있었다. 염기서열을 분석하여 염기변이의 차이점을 확인한 결과 49개의 haplotype이 결정되었다(Table 2). Haplotype간 유전적 유연관계를 알아보기 위해 TCS 분석을 실시한 결과 H01을 중심으로 Star-like의 형태를 나타냈으며, haplotype간에는 특정 그룹이 형성되지는 않았다(Fig. 4).

살오징어의 유전적 다양성: 우리나라 연근해에서 서식하고 있는 살오징어 집단의 유전자 다양성을 확인하기 위해 각 집단의 haplotype diversity (h)와 nucleotide diversity (π)를 이용하여 알아보았다. 각 해역의 살오징어들은 모두 높은 값을 나타냈으며

(0.661–0.841), 염기다양도의 경우는 매우 낮게 나타났다(0.0021–0.0027)(Table 3).

살오징어의 집단간 유전적 차이(pairwise F_{st}): 집단간 유전적 차이점을 나타내는 pairwise F_{st} 값은 동해 중부와 동해 남부는 0.030($p < 0.05$), 동해 중부와 서해 북부는 0.043($p < 0.05$)로 다른 집단간 pairwise F_{st} 값보다 크게 나타났다. 이상의 두 그룹을 제외한 나머지 집단간에는 유의적인 차이를 확인할 수 없었다(Table 4).

고 찰

살오징어는 단년생의 회유성 생물로 자원의 순환이 빠르며 산란장 환경 및 형성위치가 자원량 변화에도 영향을 끼친다. 기후체제 전환시 온난기에는 추계군 산란장과 동계군 산란장이 겹쳐 넓게 형성되면 어획량은 증가하였고, 한랭기에는 추계군과 동계군의 산란장이 떨어져서 형성되었으므로 규모가 작아져 어획량이 감소하였다(Sakurai *et al.*, 2002). 특히 겨울의 표층수온은 산란장 형성과 밀접한 연관성이 있으며, 한랭기에 산란회유하는 성체들은 산란하기 적합한 환경을 찾기 어렵고, 섭이회유하는 유생들은 생존하기 어려우므로 어획량이 감소한다(Rosa *et al.*, 2011). 따라서 겨울철 표층수온에 따라 동계군의 산란장 규모가 결정되고 가입량이 달라지므로 전체적인 자원량 또한 결정된다고 추론할 수 있다. 계군은 일정한 공간내에 분포하는 개체 상호간의 임의교배를 통해서 동일한 유전자 풀(gene pool)을 공유함으로써 일정한 유전자 조성을 가지며, 동일한 생태학적 특성과 독자적인 수량 변동의 양상을 보이는 집단(Zhang, 2010)으로 계군 구분이 가능해지면 어획량 변동의 원인 파악 및 자원관리에 도움이 된다. 또한, 환경변화에 따른 수산자원의 효과적인 관리를 위해서는 해당 생물의 생태학적 특성을 통

Table 3. Haplotype diversity (h) and nucleotide diversity (π) within five sample sites calculated from mtDNA sequence data

	NES(55)	MES(76)	SES(88)	NECS(115)	NWS(151)
h^*	0.661	0.721	0.841	0.800	0.809
π^{**}	0.0022	0.0021	0.0024	0.0027	0.0022

*: haplotype diversity, **: nucleotide diversity

NES: Northern part of the East Sea

MES: Middle part of the East Sea

SES: Southern part of the East Sea

NECS: Northern part of the East China Sea

NWS: Northern part of the West Sea

Table 4. Pairwise F_{st} estimates among the five populations of *Todarodes pacificus*. Probability of differentiation with P value was calculated from 1,000 replications

	NES (55)	MES (76)	SES (88)	NECS(115)	NWS (151)
NES (55)		-	-	-	-
MES (76)	0.004		+	-	+
SES (88)	0.005	0.030		-	-
NECS (115)	0.004	0.001	0.006		-
NWS (151)	0.014	0.043	0.013	0.011	

+: $P < 0.05$

NES: Northern part of the East Sea

MES: Middle part of the East Sea

SES: Southern part of the East Sea

NECS: Northern part of the East China Sea

NWS: Northern part of the West Sea

한 생활사 연구뿐만 아니라 계군에 대한 이해와 적합한 계군 분석이 필요하며, 살오징어 계군은 주로 형태학적, 생태학적, 표지방류, 유전학적 방법 등에 의해 분석되고 있다.

앞선 연구결과에 따르면 형태 및 생태학적 분석방법에 의해 한국 주변의 살오징어는 크게 3개의 주요 계군이 존재(Kasahara, 1978; Kim and Kang, 1995)한다. 형태학적 방법은 주로 외투장 조성 및 생식소 발달로부터 군을 분리한 후 발생시기를 역추정하여 계군을 나누는 방법으로, 다른 분석 방법에 비해 계군 분석이 용이하며 외투장과 같은 형태학적 특성을 이용하여 다수의 개체를 쉽게 분석할 수 있는 장점이 있다. 반면, 외형적 성장과 성숙이 일치하지 않을 수 있는 단점을 가지고 있다. 예를 들면, 성장 환경에 따라 외투장과 같은 외형적인 성장은 빠를 수 있지만 성숙은 산란회유중 급속히 이루어지므로 외투장만으로는 계군을 구분하기에는 오차가 클 수 있다는 단점이 있다. 형태학적 방법과 관련하여 외투장과 체중의 상대성장을 비교하면 각 군별, 암수간에 차이(Kim, 1990)가 나며, 외투장과 체중의 상대성장은 발육단계, 계절 및 분포해역에 영향을 받는다(Murata, 1978).

한편, Kim *et al.*(1997)은 한국 해역에 분포하는 살오징어를 대상으로 외투장 크기와 성숙간의 관계를 조사한 결과 평균성숙외투장은 20~22 cm로 집단별로 차이가 거의 없는 것으로 나타났다. 그리고 외투장(Mantle Length)을 기준으로 팔 길이(Arm Length), 지느러미 길이(Fin Length), 두부 길이(Head Length), 외투 두께(Mantle Thick), 외투 폭(Mantle Width) 및 체중(Body Weight)을 비교하여 본 결과 계군이 다른 경우 외투장과 각 형질들의 비율은 다르게 나타났다(Kim *et al.*, 1997). 본 연구에서는 Kim *et al.*(1997)의 결과를 인용하여 외투장을 기준으로 채집된 살오징어의 계군을 추정하였다. 정확한 계군 분석을 위해서는 전장, 외투장, 외투폭, 두장, 두폭 등 다양한 형태학적 특성치에 대한 정보를 함께 이용할 필요가 있는 것으로 판단된다.

본 연구에서는 2011년 9월부터 12월까지 한국주변해역에서 채집한 살오징어의 외투장을 측정하여 외투장 조성을 도수분포표로 나타냈고, 성숙상태를 알아보기 위해 Kim *et al.*(1997)의 결과인 평균성숙외투장 20~22 cm를 비교했다. 그 결과 동해 북부에서만 하계군과 동계군으로 나타났고 나머지 해역에서는 모두 추계군으로 추정되었다. 과거 한국주변해역에서 살오징어 계군을 분리한 연구로는 Kim and Kang (1995), Choi (2005), Choi *et al.* (2008) 등이 있었으며, 본 연구와 비교해 보면, Kim and Kang (1995)은 1991년 2월부터 1992년 7월까지 우리나라 남해와 동해에서 채집한 살오징어의 외투장 조성을 비교해 본 결과 9월과 12월은 채집해역이 달라서 비교할 수 없었지만 10월과 11월에는 후포와 포항, 감포와 포항으로 각각 비슷한 해역에서 채집되었고 모두 추계군으로 판단된다(Fig. 5).

Choi(2005)는 동해에서 1997~1999년, 서해에서 1985~1987년까지 매월 채집한 살오징어의 외투장 조성을 비교해 본 결과 9월에 서해에서 어획된 개체들은 동일하게 추계군이었고, 10월과 11월에 동해에서 채집한 개체들도 모두 추계군으로 판단했다. 12월에 동해에서 채집된 개체들은 3개의 모드로 나타났지만, 평균성숙외투장을 통해 비교했을 때 본 연구의 결과와 유사한 부분은 14~22 cm의 하계군으로 추정된다(Fig. 6). Kim and Kang (1995)의 연구에서 외투장과 생식소 발달 상태에 근거하여 분리한 계군은 Tanaka (1956)의 방법을 적용하여 분리한 계군과 잘 일치했다. Tanaka

Fig. 5. Frequency distributions of mantle length of *Todarodes pacificus* (from Kim and Kang, 1995). Dotted bar indicates maturity of mantle length.

Fig. 6. Polymodel distribution of mantle length of *Todarodes pacificus* by the Akamine method from Korean waters in 1999 (from Choi *et al.*, 2008). (a) catch in the West Sea and (b), (c), (d) catch in the East Sea. Dotted bar indicates maturity of mantle length.

Fig. 7. Summary diagram of the changes in the spawning migration patterns of the *Todarodes pacificus*, autumn-spawning stock against stock size (from Kidokoro *et al.*, 2010).

(1956)는 발생시기가 다른 생물 집단에 대해 그 체장 조성을 정규 분포에 적용시켜 각 발생군 외투장의 평균과 표준편차로 분리하였다. Choi (2005)는 Tanaka (1956)의 방법을 적용하여 계군을 분석하였다. 이들 기존 계군분석결과와 본 연구에서 확인된 형태학적 계군분석결과를 비교해보면 연도는 다르더라도 같은 달에 비슷한 해역에서 채집한 살오징어들은 형태학적으로 큰 변화가 없는 것으로 나타났다. 앞서 언급하였듯이 형태학적 분석은 부분적으로 분석상 한계를 지니며, 이러한 이유로 생식소의 발달을 알아보는 생태학적 계군분석은 형태학적 계군분석과 함께 시행되었으며, 본 연구에서는 생태학적 분석은 하지 못하였으므로 Kim *et al.* (1997)의 결과인 평균성숙외투장 20~22 cm를 비교하여 연구하였다.

최근 수산유용종에 대한 계군을 분석하는데 유전자 마커를 이용하는 다양한 방법들이 시도되고 있다. 본 연구 결과 유전자형 네트워크 형태는 H01를 중심으로 뻗어나가는 Star-like형이었으며, 높은 유전자형 다양도(h)와 낮은 염기다양도(π)가 나타난 점으로 미루어보아 우리나라 살오징어 집단의 형성 및 분화시기가 최근에 이루어졌을 것으로 판단된다. 일반적으로 유전자형 다양도가 높고, 염기다양도가 낮은 경우는 집단의 분화가 최근에 발생했음을 보여주는 근거로서 제시되고 있다(Avise, 1994). Kidokoro *et al.* (2010)는 1977년 이전의 표지방류법을 이용한 연구(Kasahara and Ito, 1968; Osako and Murata, 1983)들을 통해 추계군의 산란회유가 동해 중앙부로부터 한국연안으로 이루어졌고, 1977년 이후부터 1989

년 이전까지는 추계군의 산란회유가 동해 중앙부로부터 일본혼슈 연안으로 바뀌었으며, 1989년 이후에는 다시 1977년 이전처럼 동해 중앙부로부터 한국연안으로 산란회유가 변경되었다고 표지방류 실험을 이용하여 보고하였다(Fig. 7). 이를 통해 기후체제전환시 한랭기에는 일본혼슈지방을 중심으로 산란회유하며, 온난기에는 우리나라 동해연안으로 산란 회유하는 집단이 존재한다고 판단된다. 따라서 본 연구에서 나타난 유전학적 분석결과는 Kidokoro *et al.* (2010)의 연구결과로 미루어 볼 때 위의 집단과 기존에 동중국해로 산란 회유하던 집단이 유전적으로 섞이면서 최근에 분화가 생긴 것으로 추론 할 수 있다.

살오징어는 과거에 기후체제전환으로 인해 온난기에는 산란장규모가 확대되고, 한랭기에는 산란장규모가 축소되어 자원량에 변동이 있었다. 이에 따라 지역적으로 격리와 혼합을 반복하는 것으로 생각된다. 본 연구에서 동해 중부와 동해 남부, 동해 중부와 서해 북부에서는 각각 지역별로 F_{st} 값이 큰 차이를 보였는데 이는 채집해역에 유전적으로 큰 차이를 나타내는 집단이 존재함을 나타낸다. 그리고 나머지 집단간에는 유전적 차이가 크지 않으므로 유전적으로 단일 집단일 가능성이 크다. 따라서 9월~12월에 한국 주변 해역에서 서식하는 살오징어는 2개 이상의 유전적 차이가 나는 집단일 수 있다.

평균성숙외투장에 기준한 계군분석결과와는 달리 동해 북부(하계군)와 나머지 집단(추계군)간의 유전적 차이는 나타나지 않았다.

Fig. 8. Genetic differences of between each region. (a) is summer stock and (b), (c), (d), (e) are autumn stock by morphologic stock identification.

형태학적으로는 두 계군(하계군, 추계군)이 존재하지만, 유전학적 차이에 근거하면 한 개의 계군이 존재하는 것으로 나타났다(Fig. 8). 본 연구의 외투장 결과를 과거 연구결과와 비교하면 연도는 다르더라도 같은 달에 비슷한 해역에서 채집한 경우 대부분 일치하였고, 기존의 분석방법에 따라 발생 시기를 기준으로 구분할 때는 유용한 방법으로 사용되고 있다. 하지만 이러한 기존의 계군분석 방법이 유전학적 계군분석방법을 사용하였을 때도 동일하게 분류되는지 비교해볼 필요가 있다. 본 연구에서는 하계군과 추계군으로 나누어진 집단들 사이에는 유전적으로 큰 차이를 나타내지 않아 유전적으로 같은 집단으로 판단된다. 따라서 성숙외투장을 기준으로 발생시기를 시기를 기준으로 나누는 계군분석은 기존의 형태학적 계군분석 연구 결과와 잘 일치하였지만 유전학적 계군분석과는 일치하지 않았다. 이렇게 형태학적으로 다르지만 유전적으로 유사한 경우는 동일한 조상의 유전자를 가지는 개체들이 시간이나 공간의 제약을 받지 않고 교미할 경우이다. 이러한 경우를 가정해 보면 살오징어는 동일한 조상에서 태어났지만 해역이나 산란기의 차이로 다른 시기에 산란, 부화가 일어났고 연중 산란하므로 유전자 교환이 지속적으로 발생했을 것이다. 살오징어는 초기 생활부터 산란회유할 때까지 군집생활을 하지만 어획시 알 수 있듯이 시공간적으로 다양한 크기의 군집들이 함께 존재하며 그 속에서 산란기가 되면 계군에 상관없이 무작위로 교미하게 되어 발생 시기에 따라서는 유전적인 차이가 크게 나지 않는 것으로 판단된다.

산란장을 통한 연구들을 보면 기후체제전환으로 인해 해양환경이 바뀌고 온난기에는 살오징어의 추계군과 동계군의 산란장이 겹쳐져 넓어질 경우 자원량 또한 증가한다. 한랭기에 추계군은 비슷한 규모의 산란장을 형성하지만 동계군은 산란장의 규모가 크게 축소되고 추계군의 산란장과 떨어져서 형성되면 자원량은 감소하게 된다(Sakurai *et al.*, 2002). 따라서 온난기에는 두 계군의 산란장이 겹쳐지며 자원량까지 증가하는 것으로 보아 두 계군이 유전적으로

Fig. 9. Genetic differences of between (b), (c) and (e). (b), (c) and (e) are autumn stock by morphologic stock identification.

섞이는 것으로 추론할 수 있다. 이와 같은 추론은 우리나라 주변에 서식하는 살오징어가 발생 시기만 다를 뿐 유전적으로는 잘 섞일 수 있음을 보여준다.

형태학적 계군분석 결과 동해 북부를 제외한 동해 중부, 동해 남부, 동중국해 북부, 서해 북부 집단은 모두 추계군으로 판단된다. 형태학적으로 같은 추계군으로 판단됨에도 불구하고 동해 중부와 동해 남부, 동해 중부와 서해 북부는 F_{st} 값이 각각 0.030, 0.043 ($p < 0.05$)으로 유전적 차이가 나타났다(Fig. 9). Kang *et al.* (1996)은 형태학적 계군분석을 통해 결정된 하계군, 추계군, 동계군은 해류, 번식생태 등 여러 요인 등에 의해 유전자를 교환하는 계군이지만, 하계군과 추계군내에는 해류나 지리적인 해양환경에 의해 격리되어 있는 독립된 집단이 존재함을 밝혔다. 본 연구의 결과와 비교해 보면 형태학적 방법을 통해 분석한 계군 사이에는 유전적 차이가 나타나지 않고, 추계군 내에 유전적 차이가 큰 집단이 존재하는 것을 확인할 수 있었다. 그리고 동해 중부와 동해 남부, 동해 중부와 서해 북부에서 같은 추계군이지만 유전적으로 큰 차이를 보였다. 이 결과는 동해내에서만 유전자 교환을 하는 집단과 동해와 서해의 유전자를 공유하는 집단이 있을 수 있음을 보여준다.

본 연구에서 유전자 분석을 통해 새롭게 확인된 점은 형태학적으로 같은 추계군내에서도 유전적으로 차이를 보이는 집단이 존재하고 있음을 보여주었다. 특히, 같은 동해지역일지라도 동해 중부와 남부지역 서식 살오징어가 서로 차이를 보이고 있음을 확인하였는데, 이는 이들 두집단이 서로다른 기원집단에서 유래되었기 때문으로 생각된다. 즉, 우리나라 동해안에 서식하고 있는 살오징어 집단은 동해 내에서 발생하여 서식하는 집단과 동중국해에서 발생하여 동해로 회유하는 집단이 함께 존재하고 있을 것으로 추측된다.

Fig. 10. Total inferred spawning ground (grey area) of *Todarodes pacificus* (from Rosa *et al.*, 2011).

Rosa *et al.*(2011)은 한랭기에 낮은 수온의 영향으로 산란장이 위도상으로 주로 아래쪽에 형성되며 지역적으로 좁고 부분적이어서 쿠로시오에 의해 주로 일본의 태평양쪽으로 이동하는 유생들이 많은 부분 대만난류를 통해 황해로 유입되어 황해의 자원량이 증가한다는 가설을 제시했으며, 산란장은 21-40°N, 121-142°E, 수심 100-500 m의 쿠로시오 평균축이 지나가는 수온범위 19.5~23 °C인 지역으로 추정했다(Fig. 10). 살오징어의 산란장은 동중국해를 중심으로 형성되며, 시기별 환경에 의해 그 규모와 위치가 결정되고, 동해 내에도 한국과 일본의 연안을 따라 산란장에 적합한 환경이 조성된다. 동중국해에서 발생한 살오징어들은 각각 서해와 동해로 유입되어 섭이회유하며 산란시기가 되면 남쪽으로 산란회유하여 교미하게 된다. 따라서 동중국해에서 발생한 집단은 서해와 동해를 섭이회유하는 살오징어의 유전자가 섞이는 것으로 추정된다. 하지만 본 연구결과 형태학적 계분분석으로 확인된 동해 내 집단들이 추계군으로 동일하게 나타났으나 유전학적으로 분석된 결과로는 같은 추계군 이지만 동해 중부와 남부 집단이 유전적으로 차이를 보이는 것으로 나타났다. 이러한 결과로만 볼 때, 산란회유를 위해 동중국해까지 오지 않고 동해 내에서 교미하고 산란하는 집단이 존재할 가능성이 높은 것으로 볼 수 있다. 이를 통해 동해 내에는 동중국해에서 발생한 집단과 유전적인 차이가 나타나는 동해 내의 집단이 존재한다고 추측된다. 이처럼 집단간 유전적 차이가 크게 나는 원인을 명확하게 설명할 수는 없지만 과거의 연구들과 유전자 분석을 통한 결과로 인해 동해안의 같은 추계군내에는 유전적으로 차이가 큰 두 개의 집단이 존재한다고 판단된다.

결론적으로 2011년 9월부터 12월까지 한국 주변 해역에서 채집된 살오징어는 형태학적으로 하계군(동해 북부)과, 추계군(동해 중부, 동해 남부, 동중국해 북부, 서해 북부)으로 구분되었지만 이들 집단은 유전학적으로는 집단간 차이가 뚜렷하게 나지 않았다. 반면 동해 중부, 동해 남부, 서해 북부에서 형태학적으로 같은 추계군으로 추정되지만 유전적으로는 서로 다른 기원집단

에서 유래한 집단으로 판단된다. 따라서 형태학적 특성과 유전학적 특성으로 알 수 있는 계군은 다르며, 유전적으로 큰 차이가 나는 원인에 대하여 본 논문에서 제시한 가설을 바탕으로 추후 연구가 필요하다.

앞으로 본 연구에서 mtDNA분석법을 통한 유전학적 분석만으로는 알 수 없었던 집단간 유전적 차이를 해석하기 위해서 다양한 지역의 표본을 분석하고 기존의 형태 및 생태학적 방법들을 병행한다면 살오징어의 유전적, 환경적인 요인들을 통해 각 계군을 파악하는데 많은 기여를 할 것이라 생각된다.

사 사

이 논문은 2013년 해양수산부의 재원으로 한국해양과학기술진흥원의 지원을 받아 수행된 연구임(장기해양생태계 연구: 해양환경 변화와 생태계 반응, 동해시계열관측 및 생태환경진단(EAST-1)).

참고문헌

- Awise, J.C., 1994. Molecular markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall, New York.
- Choi, K.H., 2005. Fishing conditions of common squid, *Todarodes pacificus* Steenstrup in relation to oceanic conditions in Korea Waters. Ph.D. Thesis, Pukyong National University, 102 pp.
- Choi, K.H., C.I. Lee, K.S. Hwang, S.W. Kim, J.H. Park and Y. Gong, 2008. Distribution and migration of Japanese common squid, *Todarodes pacificus*, in southwest part of the East (Japan)sea. Fish. Res., **91**: 281-290.
- Clement, M., D. Posada and K.A. Crandall, 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. Mol. Ecol. **9**: 1657-1659.
- Edmands, S., P. E. Moberg and R. S. Burton, 1996. Allozyme and mitochondrial DNA evidence of population subdivision in the purple sea urchin *Strongylocentrotus purpuratus*. Mar. Biol., **126**: 443-450.
- Kang, Y.J., T.H. Kim, Y.K. Hong, J.Y. Park and K.Y. Park, 1996. A population genetic analysis of the common Squid, *Todarodes pacificus* Steenstrup in the Korean waters. J. Kor. Fish. Soc., **29**: 320-331.
- Kasahara, S. and S. Ito, 1968. Studies on the migration of common squids in the Japan Sea. 2. Migrations and some biological aspects of common squids having occurred in the offshore region of the Japan Sea during the autumn season of 1966 and 1967. Bull. Reg. Fish. Res. Lab., **20**: 49-70.
- Kasahara, S., 1978. Descriptions of offshore Squid Angling in the Sea of Japan, with Special Reference to the Distribution of Common Squid and on the Techniques for Forecasting Fishing Conditions. Bull. Jan. Reg. Fish. Res. Lab., **29**: 179-199.
- Kidokoro, H., T. Goto, T. Nagasawa, H. Nishida, T. Akamine and Y. Sakurai, 2010. Impact of a climate regime shift on the migration of Japanese common squid (*Todarodes pacificus*) in the Sea of Japan. ICES J. Mar. Sci., **67**: 1314-1322.
- Kim, Y.H. and Y.J. Kang, 1995. Population analysis of the common squid, *Todarodes pacificus* Steenstrup in Korean waters 1. Separation of population J. Kor. Fish. Soc., **28**(2): 163-173.

- Kim, Y.H., Y.J. Kang and C.I. Baik, 1997. Population analysis of the common squid, *Todarodes pacificus* Steenstrup in Korean waters 2. Morphological analysis J. Kor. Fish. Soc., **30**(5): 903pp.
- Kim, Y.H., Y.J. Kang, S.H. Choi, C.S. Park and C.I. Baik, 1997. Population analysis by the reproductive ecological method for the common squid, *Todarodes pacificus* Steenstrup in Korean waters 2. Morphological analysis J. Kor. Fish. Soc., **28**(2): 163–173.
- Kim, Y.S., 1990. Population Analysis with Electrophoresis of *Todarodes pacificus* (STEENSTRUP) Collected from the East Sea and West Sea. M.S.Thesis, Inha University, Incheon, 46pp.
- Mokrin, N.M., Y. Novikov and Y. Zuenko, 2002. Seasonal migrations and oceanographic conditions for concentration of the Japanese flying squid (*Todarodes pacificus* Steenstrup, 1880) in the northwestern Japan Sea. Bull. Mar. Sci., **71**: 487–499.
- Murata, M., 1978. The relation between mantle length and body weight of the Squid, *Todarodes pacificus* Steenstrup. Bull. Hokkaido Reg. Fish. Res. Lab., **43**: 33–51.
- Murata, M., 1990. Ocean resources of squids. Mar. Behav. Physiol., **18**: 19–71.
- Nakamura, Y. and Y. Sakurai, 1991. Validation of daily growth increments in statoliths of Japanese common squid, *Todarodes pacificus*. Nip. Sui. Gak., **57**: 2007–2011.
- Nakamura, Y. and Y. Sakurai, 1993. Age determination from daily growth increments in statoliths of some groups of Japanese common squid, *Todarodes pacificus*. In: Rec. Adv. Cep. Fish. Biol. eds. Uni. Pre. Tok., 339–344.
- Okutani, T., 1983. *Todarodes pacificus*. In: Cephalopod life cycles, edited by Boyle, P.R., Vol 1. Academic Press, London, pp. 201–216.
- Osako, M. and M. Murata, 1983. Stock assessment of cephalopod resources in the Northwestern Pacific. In: Advances in Assessment of World Cephalopod Resources, edited by J.F. Caddy, FAO Fish. Tech. Paper., **231**: pp. 55–144.
- Rosa, A.L., J. Yamamoto and Y. Sakurai, 2011. Effects of environmental variability on the spawning areas, catch, and recruitment of the Japanese common squid, *Todarodes pacificus* (Cephalopoda: Ommastrephidae), from the 1970s to 2000s. Ices. J. Mar. Sci., **68**(6): 1114–1121.
- Sakurai, Y., H. Kiyofuji, S. Saitoh, J. Yamamoto, T. Goto, K. Mori and T. Kinoshita, 2002. Stock fluctuations of the Japanese common squid, *Todarodes pacificus*, related to recent climate changes. Fish. Sci., **68**: 226–229.
- Schneider, S., D. Roessli and L. Excoffier, 2000. Arlequin. Version 2.000 University of Geneva, Geneva: available at the web site <http://lgb.unige.ch/arlequin/>.
- Slatkin, M. and R.R. Hudson, 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations montgomery. Gen., **129**: 555–562.
- Takumiya, M., M. Kobayashi, K. Tsuneki and H. Furuya, 2005. Phylogenetic relationships among major species of Japanese coleoid cephalopods (Mollusca: Cephalopoda) using three mitochondrial DNA sequences. Zool. Sci., **22**: 147–155.
- Tanaka, S., 1956. One method of polymodal frequency distribution and application to analyze frequency distribution of body length of *Dentextumifrons*. Bull. Tok. Reg. Fish. Res. Lab., **14**: 1–13.
- Uthicke, S. and J.H. Benzie, 2003. Gene flow and population history in high dispersal marine invertebrates: mitochondrial DNA analysis of *Holothurionobolis* (Echinodermata: Holothuroidea) populations from the Indo-Pacific. Mol. Ecol., **12**: 2635–2648.
- Zhang, C.I., 2010. Marine fisheries resource ecology. Pukyung National University, Busan, 559 pp.

2013년 4월 8일 원고접수

2013년 7월 16일 수정본 접수

2013년 7월 18일 수정본 채택

담당편집위원: 신현출