

## 제주도 사계연안 어란의 분자동정과 격월별 출현양상

한송헌 · 김맹진 · 김준상<sup>1</sup> · 송춘복<sup>2\*</sup>

국립수산과학원 서해수산연구소, <sup>1</sup>한국수산자원관리공단 제주지사, <sup>2</sup>제주대학교 해양과학대학

### Molecular Identification and Bimonthly Abundance of Fish Eggs Collected in the Coastal Waters of Sageye, Jeju Island

Song-Hun Han, Maeng Jin Kim, Joon Sang Kim<sup>1</sup> and Choon Bok Song<sup>2\*</sup>

Fisheries Resources and Environment Division, National Fisheries Research and Development Institute, Incheon 22383, Korea

<sup>1</sup>Korea Fisheries Resources Agency, Jeju Branch, Jeju 63005, Korea

<sup>2</sup>College of Ocean Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Korea

This study investigated the species composition and abundance of floating fish eggs to determine the timing and location of spawning of fish inhabiting the coastal waters of Sageye, Jeju Island. Eggs were collected with a Bongo net bimonthly from May 2009 to February 2010. Identifications were based on nucleotide sequences of the mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene. Eggs were determined to belong to 43 distinct taxa, 35 of which were identified to the species level. The assemblage spanned eight orders, 23 families, and 32 genera. The number of taxa collected varied from month to month, with 14 taxa (12 species) found in June 2009, 11 taxa (10 species) in October 2009, 10 taxa (nine species) each in August 2009 and February 2010, eight taxa (six species) in April 2009, and five taxa (four species) in December 2009. Five abundant species (*Branchiostegus japonicus*, *Engraulis japonicus*, *Pseudolabrus sieboldi*, *Goniistius zonatus*, and *Halichoeres tenuispinis*) together represented 52.8% of the total number of eggs collected during the study.

Key words: Fish eggs, Identification, Molecular biology, Jeju Island

## 서론

어란과 자치어를 대상으로 한 분자동정은 이들이 가지는 소수의 형태형질로 인한 동정의 어려움을 극복하고, 기존에 형태가 밝혀지지 않은 어란, 자치어의 종동정을 목적으로 실시되고 있으나, 어란과 자치어의 군집을 대상으로 한 연구는 아직까지 일반화 되지 않고 있다. 이와 관련하여 DNA barcode는 종을 동정 하는데 게놈 내 표준이 되는 짧은 유전자 염기서열을 가리키며, 동물 또는 식물의 종동정을 위해 사용되고 있다(Hebert et al., 2003). 특히, 어류를 포함한 동물들의 종동정을 위하여 mitochondrial DNA 내 cytochrome c oxidase subunit I (COI) 유전자 염기서열 내에 있는 종 특이적인(species specific) 정보를 이용하고 있으며, 전세계에 서식하는 다양한 어종들을 대상으로 염기서열 자료들이 축적되고 있다(Ratnasingham and Hebert, 2007). 또한 국내에서도 COI 유전자 염기서열을 토대로 특정 종이나과의 동정 및 분포에 대한 연구를 수행한 바 있다(Lee

and Kim, 2014a; Lee and Kim, 2014b; Lee and Kim, 2016).

한편, PCR-RFLP (polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism)는 다양한 생물들의 식별을 위한 유전자 마커로 활용되고 있다. 예를 들면, 시장에서 판매되는 어육의 종동정(Cocolin et al., 2000; Dooly et al., 2005)이나 이매패류(Bivalvia)와 복족류(Gastropoda)의 종동정(Wang et al., 2006)에도 사용된 바 있다. 이 연구에서는 현장 채집 시에 다수 어종의 어란이 대량으로 채집될 경우, PCR-RFLP 방법을 이용한 전단계 스크리닝(pre-screening)을 통하여 이들 어란 개체들의 동일종 유무를 우선 확인함으로써 염기서열 결정에 드는 노력과 비용을 최소화하고자 연구를 진행하였다.

이 연구는 부유성 어란으로부터 얻은 COI 유전자의 PCR산물을 RFLP 방법을 이용하여 부유성 어란을 우선 그룹화한 다음, 각 그룹을 대표하는 개체를 대상으로 염기서열 결정을 한 후 종동정을 실시하였으며, 이 결과를 바탕으로 제주도 사계연안 부유성 어란의 종조성, 출현시기, 출현량을 조사함으로써 이 해역

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2017.0829>



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Korean J Fish Aquat Sci 50(6) 829-836, December 2017

Received 19 October 2017; Revised 27 November 2017; Accepted 5 December 2017

\*Corresponding author: Tel: +82. 64. 754. 3471 Fax: +82. 64. 756. 3493

E-mail address: cbsong@jejunu.ac.kr

의 초기 생활사에 관련된 어류 격월별 자원의 동태 파악 및 관리를 하기 위한 기초 자료를 확보하기 위해서 실시하였다.

## 재료 및 방법

### 시료 채집

이번 조사는 제주도 사계 연안(33°13'N, 126°19'E)에서 2009년 4월부터 2010년 2월까지 격월로 실시하였다(Fig. 1). 어란 채집을 위해 붓고 네트(직경 0.6 m, 길이 2 m, 망목 333  $\mu$ m)를 2-3 knots의 속도로 약 10분간 표층에서 예인하였으며, 어란의 단위면적당 출현개체수는 채집 시 네트 입구에 유량계(HYDRO-BIOS flowmeter)를 부착하여 해수 1,000 m<sup>3</sup>당 개체수(ind./1,000 m<sup>3</sup>)로 환산하여 나타내었다. 채집된 시료는 선상에서 70% ethanol로 고정한 후 실험실로 운반하였다. 조사 기간 동안 조사 해역 내 환경 요인의 시기별 변동을 관찰하기 위해서 채집시기마다 수질측정기(YSI, USA)를 이용하여 표층수온 및 염분농도를 측정하였다.

### Total DNA 추출

DNA 추출을 위해 70% ethanol에 고정된 어란을 1.5 mL eppendorf tube에 한 개씩 넣은 후 micropipet tip을 이용하여 어란을 분쇄하였다. 분쇄한 어란에 tissue lysis buffer (Bioneer Inc., Korea) 50  $\mu$ L와 0.2  $\mu$ g/ $\mu$ L proteinase K (Bioneer Inc., Korea) 4  $\mu$ L를 첨가한 후 항온수조 60°C에서 1시간 동안 반응하였다. 반응 산물은 binding buffer (Bioneer Inc., Korea) 50  $\mu$ L를 첨가한 후 항온수조 60°C에서 10분 동안 반응한 후, 100% isopropanol (Sigma, USA) 25  $\mu$ L를 넣고 잘 혼합한 다음, DNA binding column (Bioneer Inc., Korea)으로 옮겨주었다. 이후의 과정은 Accuprep Genomic DNA Extraction Kit (Bioneer Inc., Korea)에 제시한 방법을 따랐다. DNA의 농도와 순도는 분광광도계 Unicam UV/VIS Spectrometer (Helios  $\beta$ , Unicam Ltd., UK)를 이용하여 흡광도를 측정하여 확인하였다.

### PCR 증폭

PCR 증폭은 COI 유전자 주변 tRNA서열에 기초하여 디자인된 forward primer (Asn\_F, 5'-YGATCCYRCAAHWCTTAGT-TAACAGCTAA-3')와 reverse primer (Ser\_R, 5'-GGGGTTC-DAYTCCYCYCTTTCT-3')를 사용하였다. PCR 반응은 최종 volume을 40  $\mu$ L로 하였으며, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3)과 50 mM KCl, 2 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.2 mM dNTP mix, 0.5 mM of each primer, 50 ng template DNA solution, 1 U Ex Taq DNA polymerase (Takara, Japan)를 포함하여 TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (TP600, Takara Bio Inc.)를 이용하여 실시하였다. PCR 반응은 최초 denaturing step으로 94°C에서 1분 동안 1회 반응시켰으며, 그 후 94°C에서 30초, primer annealing을 위해 54°C에서 1분, primer extension을 위하여 72°C에서 1분 50초

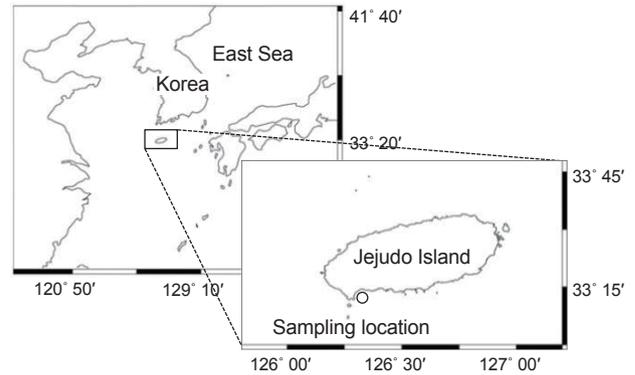


Fig. 1. A map showing a sampling site located at the coastal waters of Sagye, Jeju Island.

의 조건으로 총 34회의 반복주기를 주었으며, 최종적으로 72°C에서 7분 동안 extension을 실시하였다. PCR 산물은 1X TAE buffer에 0.5 mg/ $\mu$ L ethidium bromide가 첨가된 0.8% agarose (LE agarose, Cambrex co.) gel에서 전기영동하여 확인하였다. PCR 증폭이 확인된 산물은 AccuPrep Gel Purification Kit (Bioneer Inc., Korea)를 이용하여 정제하였다.

### 제한효소 처리

정제된 COI 유전자 증폭산물은 제한효소 HinfI (Bioneer Inc., Korea)와 Hpy188I (NEB Inc., UK)을 이용하여 처리하였다. HinfI 반응은 50 mM Tris-HCl (pH 7.6)과 10 mM MgCl<sub>2</sub>, 100 mM NaCl, 1 mM DTT, 10 ng PCR 산물, 1 U HinfI을 포함하여 최종 volume을 15  $\mu$ L로 실시하였다. Hpy188I 반응도 최종 volume을 15  $\mu$ L로 하였으며, 20 mM Tris-acetate (pH 7.9)와 50 mM potassium acetate, 10 mM Mg acetate, 1 mM DTT, 10 ng PCR 산물, 1 U Hpy188I을 포함시켰다. 이들 제한효소의 반응온도 및 시간은 37°C에서 2시간 실시하였다. 제한효소 반응산물은 1X TAE buffer에 0.5  $\mu$ g/ $\mu$ L ethidium bromide가 첨가된 2% agarose (LE agarose, Cambrex co.) gel에서 전기영동하여 band 양상을 확인하였다. 동일한 band 양상을 보이는 어란 개체들을 동일한 종으로 간주하여 그룹화 하였으며, 그룹화된 PCR 증폭산물 중 하나를 선택하여 염기서열 결정을 한 후 종 동정에 사용하였다.

### 염기서열 결정 및 종동정

염기서열은 PCR-RFLP로 그룹화된 어란 중 하나의 PCR 산물을 Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits와 ABI 3730xl DNA Analyzer (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 결정하였다. 이를 통해 얻은 COI (약 1,551 bp) 염기서열들은 DNAssist program 2.2 (Patterson and Graves, 2000)를 이용하여 다중 정렬한 후 육안으로 확인하였다. 종동정(species identification)은 어란으로부터 얻은 염기서열과 성어의 염기서

열 비교를 통해 실시하였으며 종수준의 분류가 어려울 경우에는 일부 GenBank database를 활용하여 채집 어란으로부터 얻은 염기서열과의 유전적 거리와 작성된 계통수에서의 계통분류학적인 위치를 고려하여 종(species), 속(genus), 과(family) 또는 목(order) 수준까지 분류를 실시하였다. 유전적 거리 차이는 Kimura-2-parameter distance model (Kimura, 1980)로 계산하였으며, 계통수는 MEGA6 (Tamura et al., 2013)의 Neighbor-Joining 방법(Saitou and Nei, 1987)을 이용하였다.

군집구조 분석 및 환경요인과의 상관관계

조사기간 동안 채집된 어란의 출현종과 단위면적당 출현개체수를 토대로 종다양도지수(Shannon and Weaver, 1963), 균등도지수(Pielou, 1966), 우점도지수(McNaughton, 1967)를 계산하여 비교 분석하였으며, 수온과 염분이 어란의 출현종수나 출현개체수에 미치는 영향을 알아보기 위해서 SPSS (Ver 14.0 SPSS Inc.)를 이용하여 피어슨 상관관계 값(Pearson correlation coefficient 또는 Pearson's r)을 구하고, 이들 값의 통계학적인 유의성 검증을 실시하였다.

결 과

수온과 염분

조사기간 동안 수온과 염분농도의 변동 상황은 Fig. 2에 나타내었다. 먼저 조사기간 중 수온은 14.9-28.2℃의 범위였으며, 평균수온은 19.2℃였다. 2010년 2월의 수온이 가장 낮았으며, 2009년 8월에 가장 높았다. 염분농도는 최소 31.2 psu (2009년 8월)에서 최대 34.3 psu (2009년 12월)의 범위였으며, 평균 염분은 33.0 psu를 나타냈다. 수온과 염분의 상관관계를 조사한 결과 이들은 매우 강한 음의 상관관계를 보였다( $r=-0.916$ ,  $P<0.01$ ).

종동정과 출현현황

형태학적 구분이 비교적 쉬운 멸치어란을 제외하고, 조사기간 동안 사계 연안에서 채집된 전체 301개의 어란 가운데 275개로부터 COI PCR 증폭산물(91.4%)을 얻을 수 있었다. 증폭된 PCR산물을 대상으로 RFLP를 이용하여 그룹화한 다음, 염기서열 분석을 통해서 종을 동정을 하였다. 그 결과, 조사기간 동안 채집된 어란의 출현 현황은 Table 1에 나타내었다. 이들 어란들은 전체 43개의 분류군으로 구분되었고, 이중 35종(8목 23과 32속)은 종수준까지 동정이 이루어졌다(81.8%). 또한 종수준에서 정확하게 동정되지 못한 8종 가운데 2종은 과(family)까지, 그리고 1종은 목(order)까지 동정할 수 있었으나, 5종은 미동정되었다. 출현어란을 분류군으로 구분하면 목(Order)수준에서 농어목(Perciformes) 어류가 14과 24종(미동정 1종)으로 가장 많았으며, 다음으로는 가자미목(Pleuronectiformes) 어류가 2과 3종(미동정 1종), 홍메치목(Aulopiformes) 어류가 2

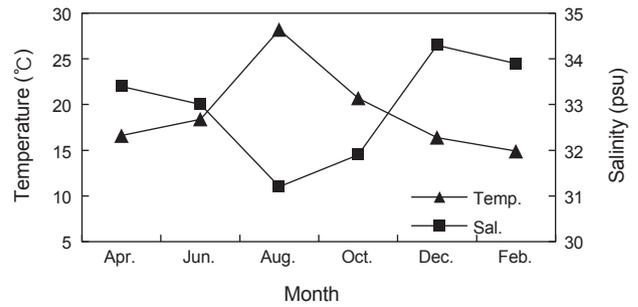


Fig. 2. Bimonthly variation of surface water temperature (°C) and salinity (psu) at the sampling location.

과 3종의 순으로 출현하였다. 그 외에도 청어목(Cupeiformes), 침치목(Ophidiiformes), 대구목(Gadiformes), 썸뱅이목(Scorpaeniformes), 복어목(Tetraodontiformes) 어류가 출현하였다. 과(Family)수준에서는, 놀래기과(Labridae) 어류가 7종으로 가장 많이 출현하였고, 그 다음으로는 도미과(Sparidae) 어류가 3종으로 출현하였다. 그 외에 매통이과(Synodontidae), 돌대구과(Moridae), 옥돔과(Malacanthidae), 다동가리과(Cheilodactylidae), 돛양태과(Callionymidae) 어류가 각각 2종씩 출현하였으며, 나머지 과들은 모두 1종씩 포함하였다.

출현종 및 출현량

조사기간 동안 어란의 개체수로 나타낸 시기별 단위면적당 출현개체수(ind./1,000 m³)과 출현종은 Fig. 3과 Table 1에 나타내었다. 전체 단위면적당 출현개체수는 5,590개체였으며, 시기별로 2009년 8월에 2,344개체로 가장 많은 어란이 채집되었고, 다음으로는 2009년 10월에 1,693개체, 2010년 2월에 675개체, 2009년 6월에 406개체, 12월에 254개체, 4월에 219개체가 채집되어 상대적으로 고수온기인 8월과 10월에 많은 출현개체수를 보였다.

시기별로 채집된 어란의 분류군수는 2009년 6월에 14개의 분류군(12종)으로 가장 많은 분류군이 출현하였고, 2009년 10월에는 11개의 분류군(10종), 2009년 8월과 2010년 2월에는 동일하게 10개 분류군(9종)이 채집되었으며, 2009년 4월과 12월에는 각각 8개의 분류군(6종)과 5개의 분류군(4종)이 출현하였다.

채집된 어란 가운데 출현개체수에 있어서 가장 많은 어종은 옥돔(Branchiostegus japonicus)으로 2009년 8월에 912개체가 출현하였으며, 전체 출현개체수의 16.3%를 차지하였다. 다음으로 멸치(Engraulis japonicus)가 2009년 4월, 8월과 2010년 2월에 총 668개체(11.9%), 무점황놀래기(Pseudolabrus eoethinus)가 2009년 10월과 12월에 총 631개체(11.3%), 아홉동가리(Goniistius zonatus)가 2009년 10월에 388개체(6.9%), 놀래기(Halichoeres tenuispinis)가 2009년 10월과 12월에 총 359개체(6.4%)로 출현하여, 이들 상위 5종이 전체 출현개체수의 52.8%를 차지하였다.

Table 1. Species occurrence and number of individuals of fish eggs (ind./1,000 m<sup>3</sup>) collected bimonthly in the coastal waters of Sagye, Jeju Island from April 2009 to February 2010

Order	Family	Species	2009					2010	Total no. of eggs (%)
			Apr	Jun	Aug	Oct	Dec	Feb	
Cupeiformes	Engraulidae	<i>Engraulis japonicus</i>	6	-	646	-	-	16	668(11.9)
Aulopiformes	Aulopodidae	<i>Aulopus japonicus</i>	-	-	-	35	-	-	35(0.6)
	Synodontidae	<i>Saurida wanieso</i>	-	5	-	-	-	-	5(0.1)
		<i>Trachinocephalus myops</i>	-	-	-	212	-	-	212(3.8)
Ophidiiformes	Ophidiidae	<i>Hoplobrotula armata</i>	-	-	31	35	-	-	66(1.2)
Gadiformes	Moridae	<i>Lotella phycis</i>	-	-	-	-	14	27	41(0.7)
		Moridae sp.	-	-	-	-	-	83	83(1.5)
Scorpaeniformes	Platycephalidae	<i>Platycephalus indicus</i>	-	5	-	-	-	-	5(0.1)
Perciformes	Moronidae	<i>Lateolabrax japonicus</i>	-	-	-	-	-	83	83(1.5)
	Serranidae	<i>Caprodon schlegelii</i>	65	-	-	-	-	164	229(4.1)
	Callanthiidae	<i>Callanthias japonicus</i>	98	65	-	-	27	83	274(4.9)
	Malacanthidae	<i>Branchiostegus albus</i>	-	-	-	-	-	27	27(0.5)
		<i>Branchiostegus japonicus</i>	-	-	912	-	-	-	912(16.3)
	Sparidae	<i>Acanthopagrus schlegelii</i>	-	54	-	-	-	-	54(1.0)
		<i>Evynnis japonica</i>	-	-	-	35	-	-	35(0.6)
		<i>Sparus sarba</i>	6	-	-	-	-	-	6(0.1)
	Mullidae	<i>Upeneus japonicus</i>	-	16	-	-	-	-	16(0.3)
	Kyphosidae	<i>Girella punctate</i>	-	43	-	-	-	-	43(0.8)
	Oplegnathidae	<i>Oplegnathus fasciatus</i>	-	76	-	-	-	-	76(1.4)
	Cheilodactylidae	<i>Goniistius quadricornis</i>	-	-	-	106	-	-	106(1.9)
		<i>Goniistius zonatus</i>	-	-	-	388	-	-	388(6.9)
	Labridae	<i>Halichoeres tenuispinis</i>	-	76	283	-	-	-	359(6.4)
		<i>Pseudolabrus eoethinus</i>	-	-	-	494	137	-	631(11.3)
		<i>Pseudolabrus sieboldi</i>	-	-	-	247	69	-	316(5.7)
		<i>Semicossyphus reticulatus</i>	-	16	-	-	-	-	16(0.3)
		<i>Stethojulis terina</i>	-	-	189	-	-	-	189(3.4)
		<i>Suezichthys gracilis</i>	-	11	-	-	-	-	11(0.2)
		<i>Xyrichtys dea</i>	-	-	31	71	-	-	102(1.8)
	Pinguipedidae	Pinguipedidae sp.	-	5	-	-	-	-	5(0.1)
	Callionymidae	<i>Neosynchiropus ijimae</i>	-	5	-	-	-	-	5(0.1)
		<i>Repomucenus virgis</i>	-	-	-	-	-	-	27(0.5)
	Trichiuridae	<i>Trichiurus japonicus</i>	-	-	31	35	-	-	66(1.2)
	Scombridae	<i>Auxis rochei</i>	-	-	63	-	-	-	63(1.1)
Pleuronectiformes	Paralichthyidae	<i>Paralichthys olivaceus</i>	26	22	-	-	-	-	159(2.8)
		<i>Pseudorhombus pentophthalmus</i>	6	-	-	-	-	-	6(0.1)
	Pleuronectidae	<i>Eopsetta grigorjewi</i>	-	-	-	-	-	-	55(1.0)
		Pleuronectiformes sp.	-	5	-	-	-	-	5(0.1)
Tetraodontiformes	Diodontidae	<i>Diodon holocanthus</i>	-	-	94	-	-	-	94(1.7)
Unidentified sp. A			6	-	-	-	-	-	6(0.1)
Unidentified sp. B			6	-	-	-	-	-	6(0.1)
Unidentified sp. C			-	-	63	-	-	-	63(1.1)
Unidentified sp. D			-	-	-	35	-	-	35(0.6)
Unidentified sp. E			-	-	-	-	7	7	7(0.1)
Total no. of eggs (%)			219 (3.9)	406 (7.3)	2,343 (41.9)	1,693 (30.3)	254 (4.5)	254 (4.5)	5,590 (100.0)
Number of taxa examined			8	14	10	11	5	5	43
Number of species identified			6	12	14	10	4	4	35

-, non-appearance.

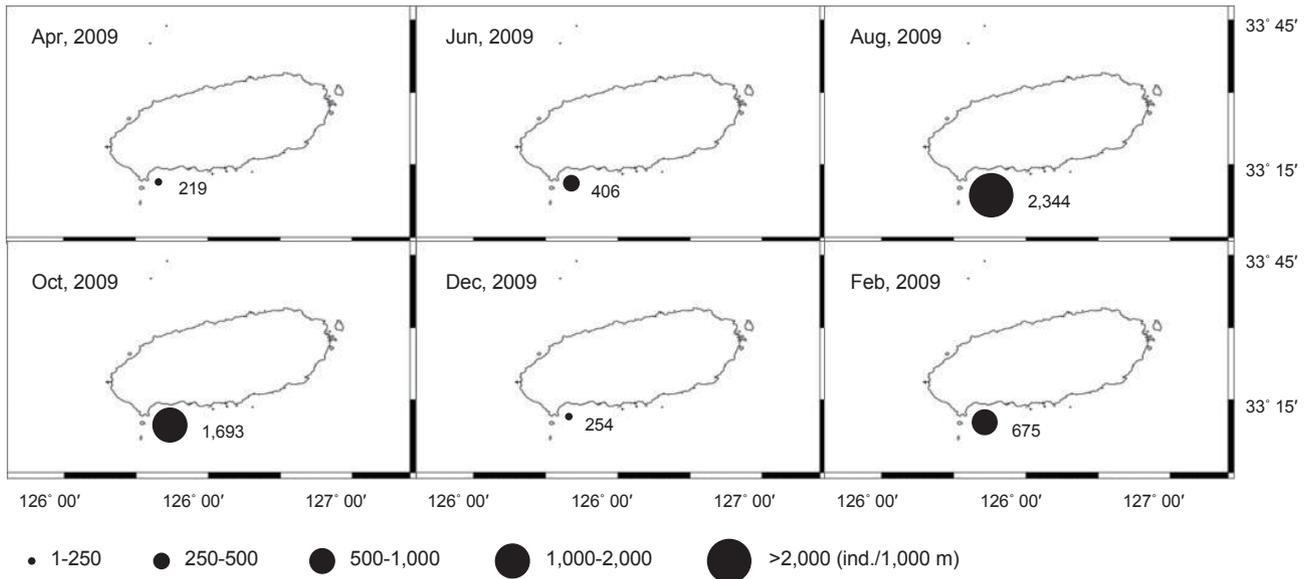


Fig. 3. Bimonthly abundance of fish eggs collected at the sampling location of the coastal waters of Sagye, Jeju Island. Values in parentheses indicate the number of species.

채집시기별로는 2009년 4월에 가장 많은 개체가 채집된 종은 노랑벤자리(*Callanthis japonicus*)로 4월에 98개체(44.7%)가 출현하였으며, 6월에는 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*)과 놀래기가 동일하게 76개체씩 출현하였고, 각각 6월 출현개체수의 18.7%를 차지였다. 8월에는 전체 출현개체수에서도 가장 많았던 옥돔 912개체(38.9%)가 출현하였다. 10월과 12월에는 두 시기 모두 무점황놀래기가 가장 많이 출현하였고, 각각 494개체(29.2%)와 137개체(53.9%)가 출현하였다. 2010년 2월에는 붉은벤자리(*Caprodon schlegelii*)가 164개체(24.3%) 출현하여 가장 많았다.

생태지수의 변동

채집시기에 따른 어란의 출현종수와 단위면적당 출현개체수를 바탕으로 종다양성지수, 균등도지수, 우점도지수를 구하였으며 그 결과는 Fig. 4에 나타내었다. 먼저 종다양성지수는 1.18-2.21의 범위로 2009년 6월에 2.21로 가장 높았으며, 2009년 12월에 1.18로 가장 낮았다. 균등도지수는 0.71-0.91의 범위에서 변동하였고, 2010년 2월에 0.91로 가장 높았으며, 2009년 6월에 0.82, 10월에 0.81, 12월에 0.74, 8월에 0.73, 4월에 0.71순으로 나타났다. 우점도지수는 0.38-0.81의 범위에서 변동하였고, 2009년 12월과 0.81로 가장 높았으며, 다음으로는 4월에 0.74로 나타났다. 그 외의 시기에는 2009년 8월에 0.66, 10월에 0.52, 2010년 2월에 0.41, 6월 0.38순으로 나타났다.

환경요인과의 상관관계

환경요인인 수온과 염분이 채집된 어란의 출현개체수와 종

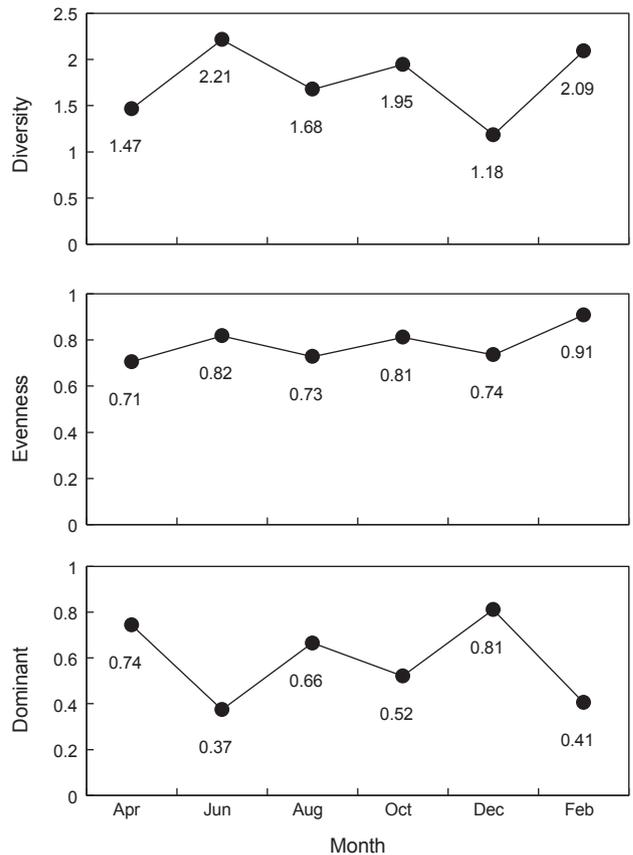


Fig. 4. Diversity, evenness and dominance indices of fish eggs collected during this study.

Table 2. Comparison between present and previous studies on the mean abundance and number of identified species of fish eggs

Sampling area	Sampling period (Sampling times, no. of location)	Mean abundance of fish eggs	No. of species (No. of taxa)	Reference
Yeongil Bay	Feb-Dec, 2001 (4, 8)	573.8	7 (9)	Han et al., 2003
Saemangeum	Jan-Aug, 2003 (5, 9-12)	610.2	4 (8)	Cha et al., 2004
Uljin	Jan-Oct, 2002 (4, 5)	298.7	5 (7)	Han and Kim, 2007
Jejudo Island	Aug, 2006-Jul, 2007 (12, 4)	506.0	34 (43)	Han et al., 2015
Sagyeoi	Apr, 2009-Feb, 2010 (6, 1)	931.7	35 (43)	Present study

수에 미치는 영향을 알아보기 위하여 Pearson's  $r$ 값으로 나타낸 상관계수와 유의성 검증을 실시하였다. 그 결과 수온과 출현개체수는 상관계수가 0.897로 양의 상관관계를 나타내었으며 ( $P < 0.05$ ), 염분과 출현개체수는 -0.910으로 유의한 음의 상관관계를 보였다( $P < 0.05$ ). 그러나 출현종수와 환경요인과의 관계에서는 수온과 염분, 모두에서 상관계수가 각각 0.209와 -0.428를 나타내어 유의한 결과를 나타내지 않았다( $P > 0.05$ ).

#### 주요 어종의 출현 시기 및 수온 범위

이번 조사에서 채집된 어란들의 출현시기와 단위면적당 출현개체수(Table 1) 그리고 채집 시 수온(Fig. 2)을 종합하여 기술하면, 노랑벤자리는 2009년 4월, 6월, 12월, 2010년 2월에 총 4회 출현하였으며, 14.9-18.4°C 수온범위에서 출현하였다. 멸치의 경우, 2009년 4월, 8월, 2010년 2월에 총 3회 출현하였고, 가장 넓은 수온범위(14.9-28.2°C)에서 출현하였으며, 수온이 가장 높았던 8월에 가장 많이 나타내었다. 넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 2009년 4월, 6월, 2010년 2월에 수온 범위 14.0-16.2°C에서 출현하였으며, 멸치와 반대로 수온이 가장 낮은 2010년 2월에 가장 많은 출현개체수를 나타내었다. 과(Family) 중 가장 많은 출현개체수(29.1%)와 종수(7종)를 나타낸 놀래기과는 종에 따라 차이는 있지만, 2009년 6월부터 2009년 12월까지 수온 범위 16.4-28.2°C에서 출현하였으며, 그 중 출현개체수가 가장 많은 무점항놀래기의 경우에는 2009년 10월과 12월에 수온 범위 16.4-20.7°C에서 출현하였다. 조사시기 동안 가장 많은 출현개체수를 나타낸 옥돔은 수온이 가장 높았던 2009년 8월(28.2°C)에 1회 출현하였으며, 같은 과에 속하는 옥두어의 경우에는 가장 수온이 낮았던 2010년 2월(14.9°C)에 출현하여 대조를 이루었다.

그 외에 경제성 어류인 농어(*Lateolabrax japonicus*), 감성돔(*Acanthopagrus schlegeli*), 뽕에돔(*Girella punctata*), 돌돔, 갈치(*Trichiurus japonicus*), 물가자미(*Eopsetta grigorjewi*)가 출현하였다. 이들의 출현시기와 수온을 보면, 농어의 경우 2010년 2월에 수온 14.9°C에서, 감성돔과 뽕에돔, 돌돔은 2009년 6월에 수온 18.4°C에서 출현하였으며, 갈치는 고수온기인 2009년 8월과 10월에 수온 28.2-20.7°C에서, 물가자미는 저수온기인 2010년 2월에 14.9°C에서 출현하였다.

#### 고찰

분자동정에 있어서 유전자의 PCR 증폭성공률은 어란의 종동정 가능성을 높이는 것과 직접적으로 연관되어 있다. 이 연구에서 종동정을 위해 사용한 COI 유전자의 증폭 성공률은 94.7%로 cytochrome b (cyt b) 유전자를 이용한 PCR 증폭성공률인 68.3% (Han et al., 2015)보다 높게 나타났다. 이는 cyt b 유전자의 증폭을 위해서 유전자 주변 tRNA 지역(glutamic acid tRNA의 5' 말단과 threonine 또는 proline tRNA의 3' 말단)의 염기서열에 기초하여 디자인한 프라이머 위치에 일부 어종에서 tRNA의 유전자 재배열(Inoue et al., 2001)이나 tRNA<sup>Thr</sup> 염기서열의 높은 다형성 때문인 것으로 생각된다. 또한 Ivanova et al. (2007)은 COI 유전자의 PCR 증폭성공률이 96.8%였다고 보고한 바 있다. 그러나 기존 연구에서 증폭해서 사용한 COI 유전자 염기서열의 길이는 Ivanova et al. (2007)에 의한 650 bp, Lee and Kim (2014a)의 510 bp, Lee and Kim (2016)의 515 bp로 비교적 짧은 길이를 사용하였다. 이번 연구는 PCR-RFLP band 양상으로 prescreening이 가능하도록 하기 위하여 기존의 연구에서 증폭해서 사용한 길이의 2-3배 이상의 크기인 약 1,550 bp의 증폭산물을 얻고자 COI 전체 유전자를 포함하도록 프라이머를 제작하였다.

부유성 어란의 출현량은 해당 해역에서의 어류의 생산력과 관련이 있다고 생각된다. 따라서 연구기간 동안 사계연안에서 채집한 어란의 출현개체수를 다른 연구결과와 비교하기 위하여 전체 출현개체수를 조사 횟수와 정점수로 나누어 평균 출현개체수로 나타내었다(Table 2). 채집시기와 기간이 서로 다르고 출현어종에 따라 산란량에 차이가 있어 다른 지역의 연구결과와 직접적인 비교는 어려우나, 사계연안에서의 평균 출현개체수가 932개체로, 기존 보고된 영일만 574개체(Han et al., 2003), 새만금 610개체(Cha et al., 2004), 울진 299개체(Han and Kim, 2007), 제주도 연안해역의 506개체(Han et al., 2015)보다 많아서 비교 대상인 다른 지역보다 상대적으로 높은 어란 밀도를 나타내었다. 이러한 결과는 사계 연안 어류군집에 관한 연구(Kim et al., 2014)의 결과에서 볼 수 있듯이 삼중자망에 어획된 단위면적당 생체량(kg/1,000 m<sup>2</sup>)으로 환산한 CPUE (Catch Per Unit Effort)값이 제주 용수리, 포항, 거성, 거제에 비해서 사계에서 높게 나타난 점을 고려할 때 사계지역에서의 높

은 어류서식 밀도와 관련이 있을 것으로 추정되지만 어류의 서식밀도와 부유성어란의 출현량과의 관계는 앞으로 보다 세밀한 조사가 이루어져야 하겠다.

어류군집의 특성을 밝히는데 중요하게 사용되는 생태지수 중 우점도지수의 경우에는 단위면적당 출현개체수가 적고 특정 어류의 개체수 많았던 2009년 12월과 4월에 각각 0.81과 0.74로 높은 값을 나타내었으며, 출현종수가 가장 많았던 6월에 0.37로 가장 낮게 나타났다. 종다양성지수의 경우에는 우점도지수와 상반된 형태로 변화하였고, 출현종수가 가장 많았던 2009년 6월( $H' = 2.31$ )이 가장 높았으며, 무점황놀래기 한종에 의한 출현 개체수(53.9%)가 많았던 2009년 12월( $H' = 1.18$ )이 가장 낮았다. 균등도지수의 경우에는 우점도지수가 0.53으로 두 번째로 낮게 나타난 2010년 2월에 가장 높았으며, 우점도지수가 0.86으로 두 번째로 높았던 2009년 4월에 가장 낮았다(Fig. 4).

제주도 연근해의 어란 출현종과 관련하여 Han et al. (2015)은 제주도 연안에서 34종(43분류군)의 출현종을 보고하였으며, 어종 별로 이번 연구의 어종과 합하였을 때 8목 27과 51종이 나타났다. 또한 Lee et al. (2006)의 보고에 따르면 제주도 서부지역의 자치어를 채집한 결과 총 59종이 출현하였으며, Go et al. (1991)은 제주도 북부 연안에서도 총 64종의 자치어가 출현한다고 보고한 바 있다. 따라서, 제주도 주변해역은 어류의 산란장 뿐만 아니라 자치어의 성육장으로도 중요한 역할을 하고 있다고 생각되며, 이 해역에서의 초기 생활사에 관련된 어류 자원의 동태 파악 및 관리를 위해서 앞으로 보다 다양한 장소와 시기를 대상으로 지속적인 관련 자료 축적이 필요하다고 생각된다.

## 사 사

이 논문은 국립수산물품질관리원 수산연구사업 '제주주변 연근해어업 및 환경생태조사(R2017033)'의 지원으로 수행된 연구입니다.

## References

Cha SS, Chun SJ, Yang JS and Choi KW. 2004. Species composition and abundance of ichthyoplankton in the waters of Saemangeum, Korea. 2003. Korean J Ichthyol 16, 321-330.

Cocolin L, D'Agaro E, Manzano M, Lanari D and Comi G. 2010. Rapid PCR-RFLP method for the identification of marine fish fillets (seabass, seabream, umbrine, and dentex). J Food Sci 65, 1315-1317. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2621.2000.tb10604.x>.

Dooley JJ, Sage HD, Clarke MA, Brown HM and Garrett SD. 2005. Fish species identification using PCR-RFLP analysis and lab-on-a-chip capillary electrophoresis: application to detect white fish species in food products and an interlaboratory study. J Agric Food Chem 53, 3348-3357. <http://dx.doi.org/10.1021/jf047917s>.

Go YB, Go GM and Kim JM. 1991. Occurrence of fish larvae at

Hamduck costal area, northern part of Cheju Island. Korean J Ichthyol 3, 23-35.

Han KH and Kim DG. 2007. Quantitative variation and species composition of ichthyoplankton in coastal waters of Uljin, Korea. Korean J Ichthyol 19, 332-342.

Han KH, Hong JS, Kim YS, Jeon KA, Kim YS, Hong BK and Hwang DS. 2003. Species composition and seasonal variations of ichthyoplankton in coastal waters of Yeongil Bay, Korea. Korean J Ichthyol 15, 87-94.

Han SH, Kim MJ and Song CB. 2015. Molecular identification and distribution pattern of fish eggs collected around Jeju Island. Korean J Ichthyol 27, 284-292.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL and deWaard JR. 2003. Biological identifications through DNA barcodes. Proc R Soc Lond B 270, 313-321. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>.

Inoue JG, Miya M, Tsukamoto K and Nishida M. 2001. Complete mitochondrial DNA sequence of *Conger myriaster* (Teleostei: Anguilliformes): novel gene order for vertebrate mitochondrial genomes and the phylogenetic implications for anguilliform families. J Mol Evol 52, 311-320. <http://dx.doi.org/10.1007/s002390010161>.

Ivanova NV, Zemplak TS, Hanner RH and Hebert PDN. 2007. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. Mol Ecol Notes 7, 544-548. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01748.x>.

Kim MJ, Han SH, Kim JS, Kim BY and Song CB. 2014. Species composition and bimonthly changes of fish community in the coastal waters of Sagyeoi, Jeju Island. Korean J Ichthyol 26, 212-221.

Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequence. J Mol Evol 16, 111-120. <http://dx.doi.org/10.1007/bf01731581>.

Lee SJ, Go YB and Kim BJ. 2006. Seasonal variation of species composition and distribution of fish eggs and larvae in the western part of Jeju Island, Korea. Korean J Ichthyol 18, 129-140.

Lee SJ and Kim JG. 2014a. Identification of *Trichiurus* (Pisces: Trichiuridae) eggs and larvae from Korea, with a taxonomic note. Fish Aquat Sci 17, 137-143. <http://dx.doi.org/10.5657/FAS.2014.0137>.

Lee SJ and Kim JG. 2014b. Molecular identification and morphological comparison of juveniles of two *Collichthys* species (Pisces: Sciaenidae) from the Yellow Sea. Kor J Fish Aquat Sci 47, 79-83. <http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0079>.

Lee SJ and Kim JG. 2016. Morphological characteristics and distribution of Pleuronectidae (Pisces) eggs in the western margin of the East Sea. Ocean Sci J 51, 13-20. <http://dx.doi.org/10.1007/s12601-016-0002-3>.

McNaughton SJ. 1967. Relationship among functional prop-

- erties of California grassland. *Nature* 216, 168-169. <http://dx.doi.org/10.1038/216168b0>.
- Patterson HG and Graves S. 2000. DNAssist: the integrated editing and analysis of molecular biology sequences in windows. *Bioinform Appl Note* 16, 652-653. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/16.7.652>.
- Pielou EC. 1966. The measurement of diversity in different types of biological collection. *J Theor Biol* 13, 131-144. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-5193\(66\)90013-0](http://dx.doi.org/10.1016/0022-5193(66)90013-0).
- Ratnasingham S and Hebert PDN. 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System ([www.barcodinglife.org](http://www.barcodinglife.org)). *Mol Ecol Notes* 7, 355-364. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x>.
- Saitou N and Nei M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 4, 406-425.
- Shannon CE and Weaver W. 1963. The mathematical theory of communication. Univ Illinois Press, Urbana, U.S.A. 125pp.
- Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipowski A and Kumar S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol Biol Evol* 30, 2725-2729. <http://dx.doi.org/10.1093/molbev/mst197>.
- Wang S, Bao Z, Zhang L, Li N, Zhan A, Guo W, Wang X and Hu J. 2006. A new strategy for species identification of planktonic larvae: PCR-RFLP analysis of the internal transcribed spacer region of ribosomal DNA detected by agarose gel electrophoresis or DHPLC. *J Plankton Res* 28, 375-384. <http://dx.doi.org/10.1093/plankt/fbi122>.