

한국 해역에 분포하는 오징어의 집단유전학적 방법에 의한 계군분석

강용주 · 김영혜 · 홍용기* · 박중연** · 박기영***
부산수산대학교 해양생물학과, 부산수산대학교 생물공학과*,
국립수산진흥원 어류양식과**, 강릉대학교 수산자원개발학과***

A Population Genetic Analysis of the Common Squid, *Todarodes pacificus* Steenstrup in the Korean Waters

Yong-Joo KANG, Yeong-Hye KIM, Yong-Ki HONG*, Jung-Youn PARK** and
Kie-Young PARK***

Department of Marine Biology, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

* Department of Biotechnology and Bioengineering, National Fisheries University of Pusan,
Pusan 608-737, Korea

** National Fisheries Research and Development Agency, Shirang-ri, Kijang-up, Yangsan-gun,
Kyongnam Province 626-900, Korea

*** Department of Fisheries Resources Development, Kangnung National University,
Kangnung 210-702, Korea

Electrophoretic comparisons of 482 individuals of *Todarodes pacificus* from 9 fishing areas were made to estimate genetic variability and differentiation using 17 enzymes. Strong activities were shown by 9 enzymes with 11 gene loci. The 9 sample lots could be divided into 3 genetic groups, based on dendrogram analysis using the Nei's genetic distance.

The Summer, Autumn and Winter cohorts were identified as three separated ecological populations which maintain genetic exchange. It is postulated that either the Summer cohort or the Autumn cohort has independently developed a local population that was isolated by hydrographic factors.

Key words : electrophoretic comparison, enzyme, genetic group, lot, hydrographic factor, Nei's genetic distance

서 론

수산자원생물에서 系群의 유전자 조성은 系群의 모든 속성을 결정하는 본질적인 유전적 속성이다. 동일종에 속하는 개체들은 種으로서의 특징을 공유하는 한편, 개체간의 생리, 생태, 형태 등이 조금씩 다르다. 種으로서, 그리고 개체로서 가지는 특징을 형질이라

한다. 형질을 나타내는 근원은 세포의 염색체 안에 있는 유전자에서 비롯된다.

系群(population)은 공통의 유전자를 후손에게 전하는 개체의 집단이다. 동일종에 속하는 개체군이 여러개의 系群으로 분리되어, 각기 다른 환경에서 서식할 수가 있고, 또 系群 상호간에 생태 및 형태에 있어서 다소의 차이를 나타내는 것은, 유전자 급원과

이 논문은 1994년도 교육부 학술연구조성비(해양·수산과학분야)에 의하여 연구되었음.

유전자 조성을 달리하기 때문이다. 系群끼리의 유전적 관계를 명확히 하기 위해서는 각 系群의 유전자 조성을 밝혀야 한다.

동일종의 地域集團間과 種間의 유전적 분화 정도를 분석하는 방법으로는 isozyme 분석법, mitochondria 유전분석법 및 RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA Assay) 분석법 등이 있다. isozyme 분석법은 種內는 유전자 빈도의 차이에 의해, 種間은 對立遺傳子의 위치의 차이에 의존하는 것이 특징이라 할 수 있다. 따라서 種間과 種內의 유전적 차이를 조사하는 데 유효하다. 그러나 Isozyme은 그것을 지배하는 유전자의 鹽基配列을 직접 보는 것이 아니고 생산물인 효소의 차이를 보는 것이다 (Park, 1992). mitochondria 유전분석법은 mtDNA가 염색체 DNA에 비해 취급이 용이하고, 동일종의 地域集團間과 種間의 유전적 분화의 정도를 DNA수준에서 해석하기 때문에 좋은 유전적 표지로 주목받고 있다. 따라서 種內와 種間의 유전적 차이를 DNA 수준에서 유전자의 鹽基置換을 볼 수가 있다 (Park, 1992). RAPD 분석법은 mitochondria 유전분석에 비해 염색체 자체의 유전분석으로 보다 정확하게 유전적 분화정도를 분석할 수 있다 (Goodwin and Annis, 1991).

그러나, isozyme 분석법은 짧은 시간 내에 많은 표본을 처리할 수 있어, 집단을 분석하는 데 용이하지만 mitochondria 유전분석과 RAPD 분석법은 DNA를 추출하는 데 많은 시간과 장비 등이 필요하므로 본 연구에서는 isozyme 분석법을 사용하였다.

오징어類의 isozyme의 반응에 관한 연구를 살펴보면, Natsukari (1989)는 *Photololigo edulis*에서 외투 근육과 肝에서의 효소 활성을 조사하였고, Fujio (1989)는 본 연구 대상종인 오징어를 포함하여 오징어類에 속하는 6개 種에 대해 입을 등근 근육(口球)에서의 효소 활성을 조사하여, 채집 지역에 따른 유전적 변이와 유전적 유연관계를 연구 보고하였다.

본 연구는 우리 나라 해역에 분포하는 오징어의 系群 분리의 기초 자료를 얻기 위하여, isozyme 構造遺傳子를 표지로 해서 효소 활성의 有無, 遺傳子座의 추정 및 對立遺傳子頻度 등을 조사하고, Kim (1993)의 형태적 연구와 생태적 연구의 결과를 비교 분석하여 이들 各群이 각각의 다른 系群임을 究明하는 데 목적을 두고 있다.

재료 및 방법

표본은 1994년 6월부터 1995년 5월까지 남해에서 동해에 이르기까지 각 기 채집 장소가 다른 9개 지역에서 채집하였다 (Fig. 1). 채집된 표본은 어획된 것 중 살아있는 것을 구입한 후, ice-box에 넣고 얼음을 채운 뒤 곧장 실험실로 운반하여 isozyme 분석을 행할 때까지 -40°C 에서 냉동 보존하여 효소 활성이 떨어지지 않도록 하였다. 채집된 표본의 평균 외투장과 체중은 Table 1과 같다. 각 표본의 群분리는 Kim (1995)의 연구에 의거하였다.

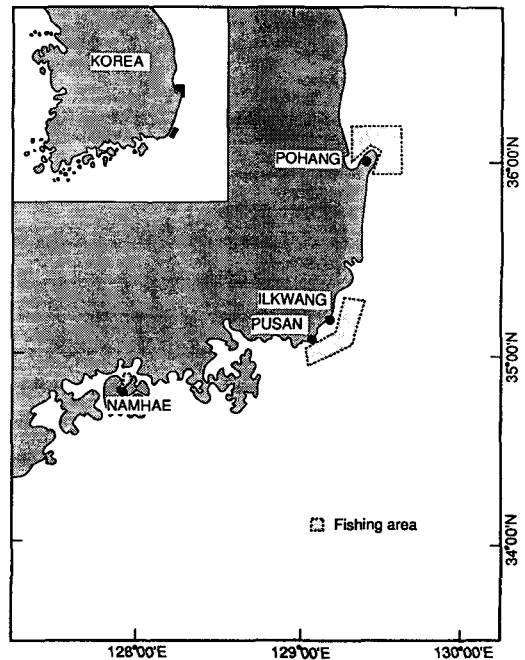


Fig. 1. Map showing the fishing areas of the Common squid, *Todarodes pacificus*.

전분 전기영동용의 시료는 냉동된 개체마다 입을 등근 근육, 눈의 조직을 적출해서 1.5 ml microtube에 넣고 0.5M sucrose 용액을 약 100 μl 첨가해서 -20°C 에서 하루이상 보존하였다. 전기영동을 행하기 직전에 해동하여, Eppendorff centrifuge에서 15,000 rpm, 10분간 원심분리하여, 그 상등액을 전기영동용 시료로 사용하였다.

전분 전기영동의 방법은 다음과 같다. 전분 gel의

Table 1. Sampling date, fishing areas and number of individuals of the Common squid, *Todarodes pacificus*

Date	Number of individuals	Fishing areas	Cohorts	Sample lots	Mantle length* (cm)	Body weight* (g)
10 June, 1994	50	Pusan	Summer	S ₁	20.00 ± 3.12	179.08 ± 44.89
12 June, 1994	52	Ilkwang	Summer	S ₂	21.39 ± 1.25	193.96 ± 31.87
24 June, 1994	49	Ilkwang	Summer	S ₃	19.88 ± 1.83	177.63 ± 41.92
20 July, 1994	47	Pohang	Summer	S ₄	23.20 ± 1.54	293.10 ± 65.61
7 June, 1994	56	Pusan	Autumn	A ₁	14.71 ± 1.27	61.67 ± 15.77
1 July, 1994	53	Pohang	Autumn	A ₂	16.63 ± 1.31	95.32 ± 20.37
3 July, 1994	62	Pohang	Autumn	A ₃	15.89 ± 1.08	84.82 ± 18.99
12 June, 1994	62	Namhae	Winter	W ₁	10.50 ± 0.86	24.59 ± 6.07
4 July, 1994	51	Pohang	Winter	W ₂	13.19 ± 2.16	46.62 ± 13.40

* Mean ± Standard deviation

작성은 市販의 전분 (Sigma社製 전기영동용) 36 g, 증류수 288 ml와 0.135M Tris-0.043M 구연산 buffer 32 ml (PH 7.0)를 11 삼각플라스크에 넣고, 잘 흔들면서 가스버너에서 가열시켰다. 용액이 투명하게 되면서 끓으면 가스버너의 불을 끄고 aspirator를 사용해서 삼각플라스크내의 공기를 제거한 후 용액을 gel plate (140×210×10 mm)에 부은 다음, gel이 굳어지면 건조를 방지하기 위하여 gel을 wrap으로 싸서 서늘한 곳에 보관하여 하루밤을 방치한다. 원심분리한 상등액을 적신 여과편 (4×10 mm, 東洋濾紙 No. 51A)을 gel에 심었다. 이때 gel은 7:3의 비율로 절단하여 절단된 면에 15枚 (15개체분)를 일정한 간격으로 붙였다. 이 비율은 전기영동시 효소 활성의 이동 거리가 陽極側이 陰極側보다 2배 정도 길기 때문이다. 전기영동은 通電 중의 발열에 의한 효소의 失活을 방지하기 위해 5℃에서 300 V 定電壓 (이때의 전류는 30~50 mA)으로 6시간 실시하였다. 또 전기영동 중의 gel의 건조 방지를 위해 wrap을 쓴 뒤, 그 위에 2 mm 짜리 유리판을 얹고 그 위에 얼음과 물을 넣은 tray를 얹어 온도 상승을 방지하였다. 전기영동 종료 후, 두께 10 mm의 gel을 1 mm씩 10枚로 얇게 잘라서 네모난 플라스틱 petri dish에 넣고 염색을 행하였다. 염색 방법은 Shaw and Prasad (1970)의 방법을 개량한 Fujio (1984)와 Kijima et al. (1988)의 방법에 따라 1개의 효소에 25 ml의 염색액을 넣고, 37℃의 항온기내에서 발색시켰다. 이때 사용한 각 염색용 완충액은 Fujio (1984)의 연구와 동일하게 사용하였다.

입의 등근 근육에 활성을 조사한 효소는 Aspartate aminotransferase (AAT), Acid phosphatase (ACP), Creatine kinase (CK), Diaphorase (DIA), Esterase (EST), α-Glycerophosphate dehydrogenase (αGPD), Glucose-6-phosphate isomerase (GPI), Isocitrate dehydrogenase (IDH), Leucine aminopeptidase (LAP), Lactate dehydrogenase (LDH), Malate dehydrogenase (MDH), Malic enzyme (ME), Mannosephosphate isomerase (MPI), 6-Phosphogluconate dehydrogenase (6 PGD), Phosphoglucomutase (PGM), Sorbitol dehydrogenase (SDH), Superoxide dismutase (SOD)의 17개 효소이고, 눈의 먹물에 활성을 조사한 효소는 Lactate dehydrogenase (LDH)의 1개 효소이었다. Isozyme 전기영동상에서 추정된 遺傳子座와 對立遺傳子의 명명법은 Kijima et al. (1988)을 따랐다. 유전적 분화의 정도를 나타내는 유전적 거리의 계산은 Nei (1972)의 방법을 이용하였다. 그리고 유연관계를 나타내는 dendrogram의 작성은 유전적 거리를 기초한 Sokal and Sneath (1963)의 수량분류학적 방법중 UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic means)를 사용하여 행하였다.

결 과

1. 효소활성의 유무

조사한 총 17개의 효소 중 활성이 강한 효소는

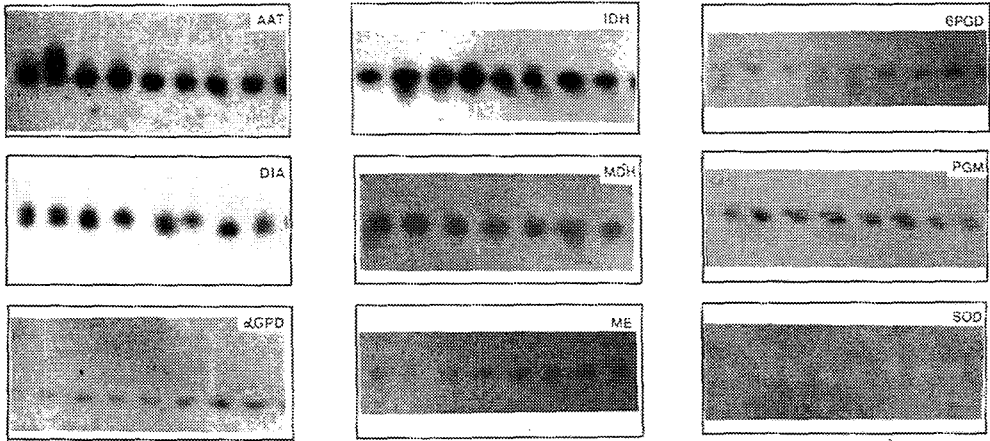


Fig. 2. Electrophoretic band patterns of nine enzymes in the Common squid, *Todarodes pacificus*.

AAT, DIA, α GPD, IDH, MDH, ME, 6PGD, PGM, SOD의 9개이었다. 한편, 활성이 약한 효소는 CK, GPI, MPI, LAP 이었으며, 이들 중 MPI와 GPI는 모든 조사 개체에서 遺傳子座가 추정되어, 對立遺傳子를 확인할 수 있는 경우가 60% 정도이었고, 그의 나머지는 對立遺傳子를 추정하기 어려웠다. 그리고 CK와 LAP는 모든 조사 개체에서 遺傳子座의 추정은 가능하였으나, 對立遺傳子를 확인할 수 없었다. 한편, 활성이 전혀 없는 효소로는 ACP, EST, LDH, SDH 로 나타났다.

2. 유전자좌의 추정

입의 등근 근육에서 활성이 강했던 AAT, DIA, α GPD, IDH, MDH, ME, 6PGD, PGM, SOD의 9개 효소를 조사하였다. 그 결과 얻어진 각 효소에 대한 isozyme의 전기영동 pattern은 Fig. 2와 같고, 각 효소에 대한 isozyme의 전기영동의 다양한 pattern은 Fig. 3에 나타내었다.

AAT는 Fig. 3과 같이 陽極側에 2개의 zone에서 band가 출현하였다. 2개의 zone에 나타나는 band의 출현은 AAT가 적어도 2개의 遺傳子座인 *Aat-1*과 *Aat-2*에 의해 지배되고 있다고 추정할 수 있다. 그리고 *Aat-1* 遺傳子座에서 對立遺傳子是 A, B, C가, *Aat-2* 遺傳子座에서 對立遺傳子是 A로 추정되었다.

MDH는 陽極側에 2개의 zone에서 band가 출현하였고, 2개의 遺傳子座인 *Mdh-1*과 *Mdh-2*에 의해 지배되고 있다고 추정하였다. 그리고 *Mdh-1* 遺傳子座에서

對立遺傳子是 A, B가, *Mdh-2* 遺傳子座에서도 對立遺傳子が A, B로 추정되었다.

ME는 陽極側에 1개의 zone에서 band가 출현하였지만, band의 폭은 활성이 강하여 1개의 遺傳子座에서 보여지는 band의 폭보다 약 2배이었으므로, 2개의 遺傳子座인 *Me-1*과 *Me-2*가 중복 지배되고 있다고 추정하였다. 그리고 *Me-1*과 *Me-2* 遺傳子座에서 對立遺傳子是 A로 추정되었다.

DIA는 陽極側에 1개의 zone에 있어서, 개체에 따라 1개 혹은 2개의 band가 출현하였다. 그러므로 1개의 zone에서 band가 출현한다는 것은 DIA가 적어도 1개의 遺傳子座인 *Dia*에 의해서 지배된다는 것을 알 수 있었다. *Dia* 遺傳子座에서 對立遺傳子是 A, B, C, D, E, F로 추정되었다. DIA와 같이 陽極側에 1개의 遺傳子座를 가지는 효소는 α GPD, IDH, 6PGD, PGM, SOD 이었다. 이들의 對立遺傳子를 살펴보면, α Gpd와 Pgm 遺傳子座에서 對立遺傳子是 A, B로, Idh와 6Pgd 遺傳子座는 A, B, C, D, E로, Sod 遺傳子座는 A로 추정되었다.

3. 11개 효소에 대한 대립유전자빈도

오징어에서 얻어진 15개의 遺傳子座의 對立遺傳子頻도를 살펴보면 (Table 2), 夏季群 중 S₁, S₃, S₄와 秋季群 중 A₁, A₃는 15개 遺傳子座의 유전자 빈도가 조사되었다. 그러나 夏季群 중 S₁과 冬季群 중 W₂는 14개 遺傳子座의 빈도가 조사되었고, 秋季群 중 A₂와

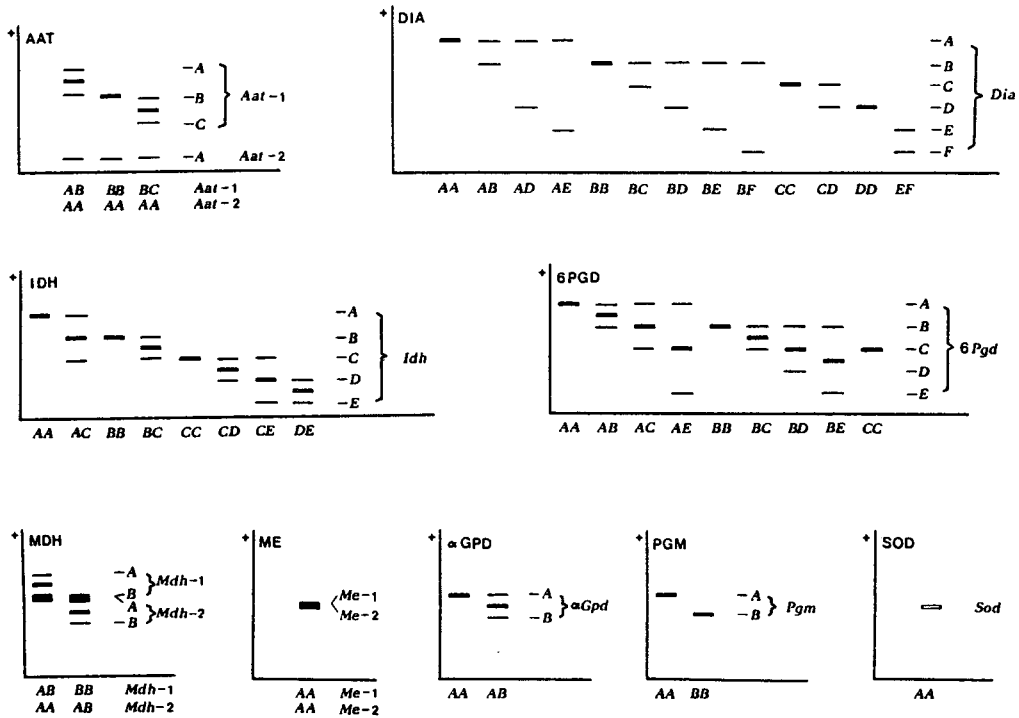


Fig. 3. Electrophoretic variant patterns of nine enzymes in the Common squid, *Todarodes pacificus*.

冬季群 중 W_1 은 13개 遺傳子座의 빈도가 조사되었다. 이들의 유전자 빈도는 Hardy-Weinberg 평형상태를 가정해서 구한 각 遺傳子座의 기대치와 잘 일치하였다.

4. 9개 효소에 대한 대립유전자빈도와 유전적 변이성

앞의 결과에서 명확하게 遺傳子型이 추정되어진 9개 효소 (AAT, DIA, α GPD, IDH, MDH, ME, 6PGD, PGM, SOD)에서, 11개의 遺傳子座를 표지로 해서, 각기 채집 장소가 다른 9개 지역 집단의 對立遺傳子頻도와 유전적 변이성을 조사하였다. 각기 채집 장소가 다른 9개 지역 집단에서 나타난 1遺傳子座當 평균 對立遺傳子數의 범위는 1.64~2.18개이었다. 最大遺傳子頻도가 0.95 level이상인 多型率 (P)의 범위는 0.091~0.364이었고, 最大遺傳子頻도가 0.95 level이하인 多型率 (P*)의 범위는 0.182~0.273이었다. 따라서 집단의 변이량을 나타내는 多型率 (P+P*)의 범위는 0.273~0.546이었다. 그리고 평균 異型接合體率 (H_e)의 범위는 0.038~0.085이었다 (Table 3). 각기 채집 장소가

다른 9개 지역 집단에서 多型을 나타내어 유전적 변이가 인정된 遺傳子座의 수는 3~6개이었다 (Table 4).

5. 9개 지역 집단(lot)의 유전자빈도에 대한 t-검정

각기 채집 장소가 다른 9개 지역 집단간의 유전적 분화의 수준을 알기 위하여, 유전자 빈도를 기초로 해서 정점간의 유전자 빈도의 차를 t-검정하였다 (Table 5). 유전자 빈도의 차는 각기 채집 장소가 다른 9개 지역 집단에 있어서 36개 組合區 중 적어도 24개의 組合區가 1개 이상의 遺傳子座에서 유의차가 인정되었다. 따라서 각기 채집 장소가 다른 9개 지역 집단이 각각 독립적인 집단 구조를 형성하고 있다는 것을 알 수 있었다.

6. Nei의 유전적 거리

각기 채집 장소가 다른 9개 지역 집단간의 유전적 분화의 수준을 알기 위하여, 유전자 빈도를 기초로 Nei의 유전적 거리를 구하였다 (Table 6). 夏季群인 S_3

Table 2. Detected isozyme and allele frequency at the 15 gene loci based on 11 enzymes in the cohorts of the Common squid, *Todarodes pacificus*

Enzyme	Locus	Allele	Summer cohort				Autumn cohort			Winter cohort	
			S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	A ₁	A ₂	A ₃	W ₁	W ₂
		n	50	52	52	47	57	53	62	62	51
AAT	<i>Aat-1</i>	A	0.000	0.010	0.000	0.000	0.045	0.028	0.016	0.008	0.000
		B	1.000	0.990	1.000	1.000	0.955	0.972	0.976	0.992	0.990
		C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.000	0.010
	<i>Aat-2</i>	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	—	—
DIA	<i>Dia</i>	A	0.023	0.010	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.026
		B	0.757	0.692	0.712	0.776	0.759	0.875	0.713	0.686	0.730
		C	0.174	0.250	0.200	0.181	0.205	0.083	0.221	0.218	0.218
		D	0.023	0.019	0.033	0.032	0.018	0.042	0.041	0.056	0.013
		E	0.023	0.029	0.033	0.011	0.009	0.000	0.025	0.024	0.013
		F	0.000	0.000	0.011	0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000
α GPD	<i>αGpd</i>	A	1.000	0.990	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.992	1.000
		B	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.000
GPI	<i>Gpi</i>	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	—	1.000	1.000	1.000
IDH	<i>Idh</i>	A	0.000	0.019	0.000	0.000	0.009	0.000	0.008	0.008	0.020
		B	0.020	0.000	0.000	0.043	0.000	0.019	0.016	0.000	0.049
		C	0.980	0.971	0.990	0.946	0.964	0.981	0.944	0.952	0.891
		D	0.000	0.010	0.010	0.011	0.018	0.000	0.024	0.016	0.020
		E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.009	0.000	0.008	0.024	0.020
MDH	<i>Mdh-1</i>	A	0.000	0.010	0.082	0.000	0.000	0.000	0.008	0.000	0.010
		B	1.000	0.990	0.918	1.000	1.000	1.000	0.992	1.000	0.990
	<i>Mdh-2</i>	A	1.000	1.000	1.000	0.989	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
		B	0.000	0.000	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
MPI	<i>Mpi-1</i>	A	0.452	—	0.471	0.414	0.557	—	0.400	—	0.233
		B	0.548	—	0.529	0.586	0.443	—	0.600	—	0.767
	<i>Mpi-2</i>	A	0.631	—	0.786	0.871	0.843	—	0.900	—	0.800
		B	0.369	—	0.214	0.129	0.157	—	0.100	—	0.200
ME	<i>Me-1</i>	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	<i>Me-2</i>	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
6PGD	<i>6Pgd</i>	A	0.020	0.000	0.020	0.011	0.018	0.000	0.008	0.024	0.000
		B	0.920	0.827	0.848	0.808	0.812	0.849	0.807	0.855	0.882
		C	0.020	0.029	0.010	0.043	0.054	0.009	0.040	0.008	0.049
		D	0.040	0.144	0.122	0.138	0.098	0.142	0.145	0.113	0.069
		E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000
PGM	<i>Pgm</i>	A	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000
		B	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.995	1.000
SOD	<i>Sod</i>	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Table 3. Allele frequency genetic variation at the 11 gene loci in cohorts of the Common squid, *Todarodes pacificus*

Locus	Allele	Summer cohort				Autumn cohort			Winter cohort	
		S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	A ₁	A ₂	A ₃	W ₁	W ₂
	n	50	52	52	47	57	53	62	62	51
<i>Aat-1</i>	A	0.000	0.010	0.000	0.000	0.045	0.028	0.016	0.008	0.000
	B	1.000	0.990	1.000	1.000	0.955	0.972	0.976	0.992	0.990
	C	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.000	0.010
<i>Dia</i>	A	0.023	0.010	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.016	0.026
	B	0.757	0.692	0.712	0.776	0.759	0.875	0.713	0.686	0.730
	C	0.174	0.250	0.200	0.181	0.205	0.083	0.221	0.218	0.218
	D	0.023	0.019	0.033	0.032	0.018	0.042	0.041	0.056	0.013
	E	0.023	0.029	0.033	0.011	0.009	0.000	0.025	0.024	0.013
	F	0.000	0.000	0.011	0.000	0.009	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>αGpd</i>	A	1.000	0.990	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.992	1.000
	B	0.000	0.010	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.008	0.000
<i>Idh</i>	A	0.000	0.019	0.000	0.000	0.009	0.000	0.008	0.008	0.020
	B	0.020	0.000	0.000	0.043	0.000	0.019	0.016	0.000	0.049
	C	0.980	0.971	0.990	0.946	0.964	0.981	0.944	0.952	0.891
	D	0.000	0.010	0.010	0.011	0.018	0.000	0.024	0.016	0.020
	E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.009	0.000	0.008	0.024	0.020
<i>Mdh-1</i>	A	0.000	0.010	0.082	0.000	0.000	0.000	0.008	0.000	0.010
	B	1.000	0.990	0.918	1.000	1.000	1.000	0.992	1.000	0.990
<i>Mdh-2</i>	A	1.000	1.000	1.000	0.989	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
	B	0.000	0.000	0.000	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Me-1</i>	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>Me-2</i>	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
<i>6Pgd</i>	A	0.020	0.000	0.020	0.011	0.018	0.000	0.008	0.024	0.000
	B	0.920	0.827	0.848	0.808	0.812	0.849	0.807	0.855	0.882
	C	0.020	0.029	0.010	0.043	0.054	0.009	0.040	0.008	0.049
	D	0.040	0.144	0.122	0.138	0.098	0.142	0.145	0.113	0.069
	E	0.000	0.000	0.000	0.000	0.018	0.000	0.000	0.000	0.000
<i>Pgm</i>	A	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.000
	B	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.995	1.000
<i>Sod</i>	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
P*		0.182	0.182	0.273	0.273	0.182	0.182	0.273	0.182	0.273
P		0.091	0.364	0.091	0.091	0.182	0.182	0.182	0.273	0.182
P+P*		0.273	0.546	0.364	0.364	0.364	0.364	0.455	0.455	0.455
He		0.053	0.038	0.081	0.074	0.079	0.052	0.085	0.078	0.080

P* : Proportion of polymorphic loci whose most common allele is not greater than 0.95 in frequency

P : Proportion of polymorphic loci whose most common allele is greater than 0.95 in frequency

He: Expected mean heterozygosity

n : Number of individuals

Table 4. Gene loci and genetic variation detected by the cohorts of the Common squid, *Todarodes pacificus*

Enzyme	Locus	Summer				Autumn			Winter	
		S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	A ₁	A ₂	A ₃	W ₁	W ₂
AAT	<i>Aat-1</i>	M	P	M	M	P	P	P	P	P
DIA	<i>Dia</i>	P*	P*	P*	P*	P*	P*	P*	P*	P*
αGPD	<i>αGpd</i>	M	P	M	M	M	M	M	P	M
IDH	<i>Idh</i>	P	P	P	P*	P	P	P*	P	P*
MDH	<i>Mdh-1</i>	M	P	P*	M	M	M	P	M	P
	<i>Mdh-2</i>	M	M	M	P	M	M	M	M	M
ME	<i>Me-1</i>	M	M	M	M	M	M	M	M	M
	<i>Me-2</i>	M	M	M	M	M	M	M	M	M
6PGD	<i>6Pgd</i>	P*	P*	P*	P*	P*	P*	P*	P*	P*
PGM	<i>Pgm</i>	M	M	M	M	M	M	M	P	M
SOD	<i>Sod</i>	M	M	M	M	M	M	M	M	M

M : Monomorphic loci

P : Proportion of polymorphic loci whose most common allele is greater than 0.95 in frequency

P* : Proportion of polymorphic loci whose most common allele is not greater than 0.95 in frequency

Table 5. Estimates of t-test between every possible pairs of 9 sample lots in the Common squid, *Todarodes pacificus* based on allele frequency at 11 gene loci

Cohorts	Lots	Summer				Autumn			Winter	
		S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	A ₁	A ₂	A ₃	W ₁	W ₂
Summer	S ₁	-								
	S ₂	2	-							
	S ₃	3	2	-						
	S ₄	2	0	2	-					
Autumn	A ₁	3	0	4	0	-				
	A ₂	1	1	5	0	2	-			
	A ₃	2	0	2	0	0	2	-		
Winter	W ₁	1	0	2	0	1	2	0	-	
	W ₂	2	2	4	0	3	3	0	1	-

Table 6. Nei's genetic distance between every possible pairs of 9 sample lots in the Common squid, *Todarodes pacificus* based on allele frequency at 11 gene loci

Cohorts	Lots	Summer				Autumn			Winter	
		S ₁	S ₂	S ₃	S ₄	A ₁	A ₂	A ₃	W ₁	W ₂
Summer	S ₁	-								
	S ₂	0.00144	-							
	S ₃	0.00073	0.00029	-						
	S ₄	0.00134	0.00086	0.00061	-					
Autumn	A ₁	0.00105	0.00068	0.00062	0.00045	-				
	A ₂	0.00203	0.00311	0.00214	0.00115	0.00168	-			
	A ₃	0.00138	0.00027	0.00032	0.00034	0.00030	0.00212	-		
Winter	W ₁	0.00814	0.00035	0.00019	0.00082	0.00069	0.00254	0.00035	-	
	W ₂	0.00096	0.00108	0.00090	0.00101	0.00098	0.00277	0.00082	0.00075	-

과 冬季群인 W_1 이 0.00019로 유전적 거리가 가장 짧게 나타났으나, 夏季群인 S_2 와 秋季群인 A_2 가 0.00311로 유전적 거리가 가장 길게 나타났다. 따라서 유전적 거리는 0.00019~0.00311로 넓음을 알 수 있었다.

7. 유전적 분화

각기 채집 장소가 다른 9개 지역 집단간의 유전적 유연관계를 알기 위하여, 유전적 거리를 dendrogram으로 나타내었다 (Fig. 4). 夏季群 S_3 와 冬季群 W_1 이 유전적 거리가 0.00019로 가장 가까웠고, 그 다음으로 夏季群 S_2 와 秋季群 A_3 간의 유전적 거리가 0.00027이었다. 그리고 이들 두 집단 S_3-W_1 과 S_2-A_3 간의 유전적 거리는 0.00033이었다. 夏季群 S_4 와 秋季群 A_1 이 유전적 거리가 0.00045이었고, 앞의 집단과는 유전적 거리 0.00062로 한 집단으로 묶어졌다. 그리고 冬季群인 W_2 는 0.00094의 유전적 거리로 앞의 집단과 한 집단으로 연결된다. 따라서 나머지 夏季群 S_1 과 秋季群 A_2 는 유전적 거리가 0.001수준을 넘어서고 있었다. 따라서 각기 채집 장소가 다른 9개 지역 집단은 유전적 거리 0.001수준에서 세 개의 집단으로 구분할 수 있었다.

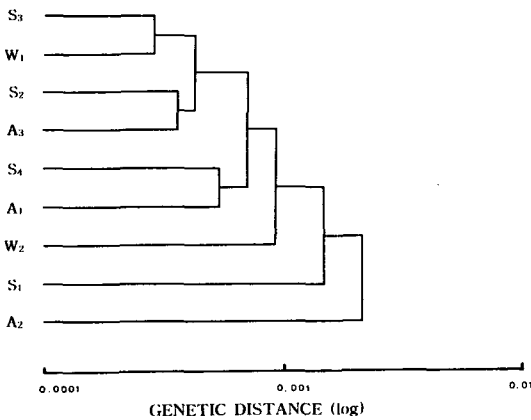


Fig. 4. Genetic relationship among nine sample lots of the Common squid, *Todarodes pacificus*.

이상의 결과를 정리하여 보면 夏季群, 秋季群 및 冬季群 中 $S_2, S_3, S_4, A_1, A_3, W_1$ 및 W_2 은 해류, 번식 생태 등 여러 요인 등에 의해 유전자를 교환하는 系群이었다. 그러나 夏季群 中 S_1 과 秋季群 中 A_2 는 격

리되어 독립된 지역 개체군으로 분화되어 있음을 알 수 있었다.

고찰

지금까지의 系群 분석이 의존해온 계수형질과 계측형질 등 형태적 형질은 환경의 영향을 크게 받는다. 그러나, Mendel 집단 (동일의 유전자 급원을 공유하는 집단의 총칭)을 기초로 하고 있는 집단 유전학적 연구 방법은 연구 대상으로 하는 생물종의 번식생태를 파악하는 형질로서 최근에는 조직 특이성 isozyme의 構造 遺傳子를 채택하고 있다. 이러한 isozyme은 집단 유전학적 분석을 위해 유전 표지로 이용되고 있으며, 집단간의 유사도를 진화 시간에 대응하는 수치로서 이용하는 등 많은 장점을 가지고 있다.

집단 (population)의 유전적 조성은 그 집단을 구성하고 있는 각각의 개체가 표현하는 표현형의 총칭으로서 나타낼 수가 있다. 즉 집단 전체에는 많은 遺傳子座 (locus)가 관여하고 있기 때문에 우선 개체의 遺傳子座에 관해 유전적 조성을 명확히 한 다음, 전체적인 집단의 유전적 조성을 연구해야 할 것이다.

전분 전기영동법에 의한 isozyme의 검출에 있어서 사용되는 조직은 조사하는 효소에 따라 달라지게 된다. 이는 isozyme이 조직 특이성 構造 遺傳子이기 때문이다. 따라서 사용되는 조직에 따라 isozyme의 검출에 큰 차이점이 나타나게 된다.

isozyme의 검출에 사용된 오징어類의 조직을 살펴보면, Natsukari (1989)는 외투 근육과 肝을, Fujio (1989)는 입의 등근 근육을 사용하였다. 본 연구에서 isozyme의 검출에 사용된 조직은 입의 등근 근육과 눈의 먹물이었다.

본 연구에서 입의 등근 근육에 활성을 조사한 효소는 Fujio (1984, 1989)의 연구에서 조사한 효소 중 17개를 선택하여 사용하였다. 그리고 눈의 먹물에 조사한 효소는 그 중 LDH 한 개만을 사용하였다.

효소 AAT는 본 연구와 Fujio (1989) 연구 모두 2개의 遺傳子座로 추정되었으나, 본 연구에서는 遺傳子座 *Aat-1*의 對立 遺傳子가 A, B, C이었고, 遺傳子座 *Aat-2*의 對立 遺傳子가 A로 추정되었다. 그러나 Fujio (1989)의 연구에서는 遺傳子座 *Aat-1*과 *Aat-2*의 對立 遺傳

子 모두 A, B로 추정되었다. 본 연구에서 효소 AAT의 *Aat-2* 遺傳子座는 冬季群에는 전혀 나타나지 않았다. 이는 冬季群의 평균 외투장은 10.50~13.19 cm로 발육 단계가 幼體期이기 때문에 *Aat-2* 遺傳子座가 나타나지 않았다고 판단된다. 한편, Fujio (1989)의 연구에서는 모든 표본에서 *Aat-2* 遺傳子座가 2개로 나타났다. 이는 표본으로 사용하였던 오징어의 외투장의 범위가 22.1~40.0 cm로 발육단계가 成體期에 해당되는 것들이다. 따라서 본 연구와 Fujio (1989)의 연구 결과로, 효소 AAT의 遺傳子座 *Aat-2*는 成體期에만 나타나는 遺傳子座로 추정할 수 있다.

본 연구와 Fujio (1989)의 연구에서 공통으로 조사한 효소의 추정된 遺傳子座와 對立遺傳子를 비교하여 보면, 효소 DIA는 陽極側에 1개의 遺傳子座가 나타나는 것은 일치하였다. 그러나 對立遺傳子는 본 연구에서는 A, B, C, D, E, F의 6개로 추정된 반면, Fujio (1989)의 연구에서는 A, B, C, D의 4개로 추정되었다.

효소 αGPD의 遺傳子座는 1개로 동일하게 추정되었지만 對立遺傳子는 본 연구에서, A, B의 2개로, Fujio (1989)의 연구에서는 A, B, C의 3개로 추정되었다. 효소 LDH에 대하여 본 연구는 입의 등근 근육과 눈의 막물에서 활성을 조사하였으나 전혀 활성이 없었다. 그러나 Fujio (1989)는 입의 등근 근육에서만 활성을 조사하여, 遺傳子座는 陽極側에 *Ldh-1*와 *Ldh-2*에 의해 지배된다고 추정하였다. 그리고 이들 遺傳子座는 對立遺傳子가 각각 A로 추정되었다.

효소 LAP에 대하여 본 연구에서는 활성이 약하여 遺傳子座와 對立遺傳子를 추정할 수 없었으나 Fujio (1989)의 연구에서는 遺傳子座와 對立遺傳子는 각각 1개로 추정되었다.

효소 ME에 대하여 본 연구에서는 陽極側에 1개의 zone에 나타난 band의 폭이 한 개의 遺傳子座에서 보이는 band의 폭보다 약 2배이었다. 이는 활성이 강하거나 또는 두 개의 遺傳子座가 겹쳐져 지배되는 데 기인한 것으로 추측된다. 이로 보아 본 연구에서는 두 개의 遺傳子座의 지배에 의해 band 폭이 두배로 나타난다고 추정하였다. Fujio (1989)의 연구 결과를 살펴 보면, 전기영동 Pattern에서 효소 ME에 나타난 band의 폭이 1개의 遺傳子座에서 나타난 band의 폭과 동일하였으므로, 이것은 1개의 遺傳子座에 의해 지배되며 對立遺傳子도 A로 한 개만이 추정하였다.

효소 MDH에 대하여 본 연구에서는 遺傳子座를 2개로, 對立遺傳子를 A, B로 추정하였다. 그러나 Fujio (1989)는 遺傳子座를 3개로 추정하였고, *Mdh-1*과 *Mdh-2* 遺傳子座의 對立遺傳子는 A로 추정하였고, *Mdh-3* 遺傳子座의 對立遺傳子는 A, B로 추정하였다.

효소 6PGD는 遺傳子座가 1개로 동일하게 추정되었고, 對立遺傳子는 본 연구에서 A, B, C, D, E로, Fujio (1989)는 A, B, C, D로 추정되었다.

효소 PGM은 遺傳子座가 1개로 동일하게 추정되었고, 對立遺傳子는 본 연구에서 A, B로, Fujio (1989)는 A, B, C로 추정하였다.

효소 SOD에서도 1개의 遺傳子座와 對立遺傳子가 동일하게 추정되었다. 그리고 본 연구에서 효소 SOD의 반응이 다른 효소의 반응과는 달리 회계 나타났고, 이는 Fujio (1989)의 연구 결과와 잘 일치하고 있었다.

본 연구에서는 효소 활성이 陽極側으로만 이동하였다. 이러한 결과를 통해서 실험의 하반기에 이르러서는 gel판을 1/2로 절단하고 각각 15매씩을 심었으며, 많은 시약과 전분을 절약할 수 있었다. 효소 활성이 양극측으로만 이동한 결과는 Fujio (1989)의 연구 결과와 잘 일치하였다.

Nei (1972)는 isozyme 유전자 빈도로 구한 평균 유전적 거리가 약 1.0이면 種間으로, 약 0.1이면 亞種間으로, 약 0.01이면 地方品種間으로, 약 0.001이면 種內로 구분할 수 있다고 연구한 바 있다.

따라서 본 種의 유전적 분화를 살펴보면, 전체적으로 유전적 분화의 수준이 낮아 種內的 범위를 벗어나고 있지 않음을 알 수 있었다. 그러나 같은 群으로 추정된 정점이지만 유연관계가 멀게 나타난 반면, 다른 群으로 추정된 정점이 유연관계가 더 가깝게 나타났다. 이러한 연구 결과로 보아 추정된 群과 그들이 가지고 있는 유전자 조성에 의한 유전적 특징과는 반드시 일치하지 않음을 알 수 있었다.

유전적 분화의 수준은 낮지만 각 집단간의 유전자 빈도에 있어서 유의한 차가 있다는 것은 각기 채집 장소가 다른 9개 지역 집단들이 각각 독립된 分集團을 형성하여 번식생태에 있어서 상호교배에 분화의 수준이 낮아진 것으로 판단할 수 있다. 이러한 사실을 산란기 및 교집 행동과 관련시켜 보면, 오징어는 발생시기에 따라 各群은 각각 독립적으로 회유하지만, 時空間적으로 중복되어 있으므로 산란기가 되면 群에

상관없이 암수가 교접하게 되어 유전자가 서로 교환되고 있다는 것을 알 수 있었다. 그러나 夏季群 중 S₁과 秋季群 중 A₂은 격리되어 독립된 한 집단을 이루고, 나머지 7개 집단과는 유전적으로 거의 혼합이 일어나지 않는 것으로 판단된다. 이는 夏季群 중 S₁과 秋季群 중 A₂가 해류와 지리적 환경에 의해 격리되어 있다고 추정할 수 있었다.

이와 같이 지역에 따라 격리되어 있는 집단을 알기 위해서는 위도와 경도에 의해 구획 지점별로 채집하여 그들의 회유 경로, 지리적 요인 및 환경적 요인 등을 비교 검토하여, 이들 집단의 유전적 변이성 및 분화 정도를 연구하여야 할 것이다. 또한 앞으로 오징어의 mtDNA와 염색체 DNA를 추출하여 유전적 분화를 분석할 수 있는 mitochondria 유전분석법과 RAPD분석법에 의한 연구도 수행되어야 할 것이다.

요 약

본 연구는 1994년 6월부터 1995년 5월까지 우리나라 해역에 분포하는 오징어, *Todarodes pacificus*에 대해 유전자 조성을 관찰하고 群間 비교로 系群을 분석한 것이다.

각기 채집 장소가 다른 9개 지역 집단에 있어서 17개 효소를 사용하여 전기영동법으로 유전적 변이와 분화를 분석하였다. 명확하게 遺傳子型이 추정된 9개 효소에 대해, 11개의 遺傳子座를 표지로 하여, 각기 채집 장소가 다른 9개 지역 집단의 對立遺傳子頻도와 遺傳的 變異性의 범위를 조사하였다. 그 결과, 1遺傳子座當 平均 對立遺傳子數는 1.64~2.18개 이었다. 집단의 변이량을 나타내는 多型率(P+P*)은 0.273~0.546이었다. 平均 異型接合體率(H_c)은 0.038~0.085이었다. 그리고 Nei의 유전적 거리는 0.00019~0.00814로 넓음을 알 수 있었다. 각기 채집 장소가 다른 9개 지역 집단간의 유전적 유연관계를 알아 본 결과, 세 집단으로 구분되었다.

이상의 결과를 종합하여 보면, 夏季群, 秋季群 및 冬季群은 각각의 系群으로 究明되었고, 夏季群과 秋季群에는 해류나 지리적인 해양환경에 의해 독립된 하나의 地域個體群이 존재하고 있음을 알 수 있었다.

참 고 문 헌

- Fujio, Y. 1984. Study of genetic characteristics of fish and shellfishes in isozyme analysis. Nosui-sho Tokubetsu Shiken, 65pp.
- Fujio, Y. 1989. Identification of populations in marine organisms by isozymic genes. Japan. Fish. Res. Conserv. Assoc., 261~523.
- Goodwin, P.H. and S.L. Annis. 1991. Rapid identification of genetic variation and pathotype of *Leptoshaeria maculans* by random amplified polymorphic DNA assay. Appl. Environ. Microbiol., 57, 2482~2486.
- Kijima, A., N. Taniguchi and A. Ochiai. 1988. Genetic divergence and relationship among fifteen species of genera *Trachurus*, *Decapterus*, *Selar* and *Selaroides*. Japan. J. Ichthyol., 33, 167~175.
- Kim, Y.H. 1993. Population analysis of the Common squid, *Todarodes pacificus* Steenstrup in Korean waters. Ph.D. Thesis. Nat'l Fish. Univ. Pusan, 106pp.
- 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. Korean Fish. Soc. 28(2), 163~173.
- Natsukari, Y. 1989. Preliminary study on the genetic structure of the Loliginid squid, *Photololigo edulis*. Bull. Fac. Fish. Nagasaki Univ., 99~108.
- Nei, N. 1972. Genetic distance between populations. Amer. Natur., 106, 283~292.
- Park, J.Y. 1992. The inter-species differences of isozyme gene and mitochondria DNA in pleuronectid species. Ph.D. Thesis. Tohoku Univ., 141 pp.
- Park, J.Y. and A. Kijima. 1991. Estimation of interspecific gene difference among pleuronectid species with minimum number of isozymic loci. Tohoku J. Agr. Res., 42, 33~54.
- Shaw, C.R. and R. Prasad. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes-a compilation of recipes.

Biochem. Genet., 4, 297~320.

Sokal, R.R. and P.H.A. Sneath. 1963. Principles of Numerical Taxonomy, W.H. Freeman and Co., San Francisco, pp.143~312.

1995년 10월 30일 접수

1996년 5월 4일 수리