

제주 연안해역 어란의 분자동정과 분포양상

한송헌 · 김맹진¹ · 송춘복^{2,*}

국립수산과학원 제주수산연구소, ¹국립수산과학원 서해수산연구소, ²제주대학교 해양과학대학

Molecular Identification and Distribution Pattern of Fish Eggs Collected around Jeju Island by Song-Hun Han, Maeng Jin Kim¹ and Choon Bok Song^{2,*} (Jeju Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Jeju 63068, Korea; ¹Fisheries Resources and Environment Division, National Institute of Fisheries Science, Incheon 22383, Korea; ²College of Ocean Sciences, Jeju National University, Jeju 63243, Korea)

ABSTRACT Monthly variation of species composition and abundance of fish eggs were examined to know the spawning time and location of the fishes inhabiting the coastal region of Jeju Island. Samplings had been performed at the four locations (Jeju port, Seongsanpo, Seogwipo port and Chagwido) with a bongo net which was towed monthly at the sea surface from August 2006 to July 2007. The fish eggs were identified based on phylogenetic analyses with the DNA sequences generated through PCR-amplification and sequencing of the mitochondrial cytochrome *b* gene. Among a total of 43 taxa classified during the study period, 34 were identified to species, 4 to families, and the remaining 5 were unidentified. Of them, 23 taxa were occurred at Jeju port, 21 at Seongsanpo, 19 at Seogwipo port and 18 at Chagwido, whereas 15 taxa were found in September 2006, 12 in June 2007, 6 to 8 in August 2006 and January~May 2007, 5 in each October and November 2006, 3 in each December 2006 and July 2007. Among 34 species of fish eggs, *Engraulis japonicus* and *Callanthis japonicus* most frequently appeared at 16 times out of 48 observations in total. When those eggs were collected, the surface seawater temperature ranged 14.0~28.6°C for *E. japonicus* and 14.9~20.5°C for *C. japonicus*. The success rates of PCR-amplification and species identification in this study were 68.3% and 79.1%, respectively.

Key words: Fish eggs, molecular identification, species composition, abundance, Jeju Island

서 론

어류의 초기생활사에 대한 연구는 해역 내 어류의 산란장을 파악하는데 활용되며, 어류의 군집 평가와 개체군 동태 및 자원량을 파악하는데 중요한 기초 자료를 제공한다(Aoyama *et al.*, 2001; Shao *et al.*, 2002; Sassa *et al.*, 2006). 국내에서는 한국 근해의 어란·자치어 분포에 대한 연구(Lim *et al.*, 1970)를 시작으로 한국 연근해 어란·자치어 도감(Kim *et al.*, 1981)에서 99종의 형태적 특징과 분포에 관한 내용을 수록한 바 있다. 그 후에 여러 연구자에 의해 우리나라 각 해역에 서식하는 어란과 자치어의 분포에 관한 연구가 수행되어왔다. 예를 들면,

Cha and Park (1991)은 서해에서, Yoo *et al.* (1992)은 남해에서, 그리고 Huh *et al.* (2013)은 동해에서 연구를 수행하였다. 그런데, 이들 연구는 어란과 자치어의 형태를 기반으로 하였기 때문에 어란의 경우, 일부 종 특이적인 형태를 나타내는 어란을 제외하고는 대부분 미동정 어란으로 표기되었으며, 자치어의 경우에도 종동정에 한계를 보여 일부 자치어는 속(genus) 또는 과(family) 수준까지 분류되었고 동정된 종에 있어서도 그 정확성에 관해 확인된 바가 없다.

한편, 형태형질을 이용한 종동정의 한계를 극복하기 위하여 최근에는 다양한 방식의 분자생물학적 종동정법이 시도되고 있다. 왜냐하면, 유전자를 이용한 종동정은 초기 어란의 발생과정이 형태적으로 밝혀져 있지 않은 종뿐만 아니라, 형태학적으로 매우 유사하여 종구분이 어려운 경우에도 사용할 수 있다는 장점을 가지고 있기 때문이다(Aoyama *et al.*, 2001;

*Corresponding author: Choon Bok Song Tel: 82-64-754-3471,
Fax: 82-64-756-3493, E-mail: cbsong@jejunu.ac.kr

Saitoh *et al.*, 2009; Lelièvre *et al.*, 2010).

이 연구에서 종동정에 사용된 mitochondrial DNA 내 cytochrome *b* 유전자(*cyt b*)는 해당 단백질의 구조와 기능이 잘 알려져 있으며 어류의 계통분류학적 연구에 가장 많이 사용되어진 유전자들 가운데 하나이기 때문에 (Esposti *et al.*, 1993) 상대적으로 많은 염기서열 자료들이 축적되어있다. 또한 유전자서열 내 보존적인 부분과 반보존적인 영역을 동시에 포함하고 있기 때문에 계통분류학적 연구뿐만 아니라 유전자의 종 내 변이에 관련된 연구 (Takehana *et al.*, 2003)에도 이용되고 있어서 어란의 종동정과 더불어 특정 어류 계군의 산란장 추적에도 사용될 수 있다.

따라서 이 연구는 조사기간 동안 제주도 연안역에 서식하는 어류들의 산란시기와 장소, 그리고 산란량을 파악하기 위해서 제주도 주변해역 4개 정점(제주항, 차귀도, 서귀포항, 성산포)에서 채집한 부유성 어란을 대상으로 *cyt b* 유전자의 PCR 증폭과 증폭한 유전자의 염기서열을 이용하여 계통분류학적인 분석방법을 통해 어란을 동정함으로써 출현 어란의 종조성, 출현량, 출현시기, 그리고 분포 양상을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 시료채집 및 처리

현장조사는 2006년 8월에서 2007년 7월까지 제주항 근해(정점A, 33° 32'N, 126° 33' E), 차귀도 근해(정점B, 33° 18' N, 126° 8' E), 서귀포항 근해(정점C, 33° 13' N, 126° 34' E) 그리고 성산포 근해(정점D, 33° 28' N, 126° 59' E)에서 어란채집과 함께 환경요인인 표층수온과 염분을 월별로 수질측정기 (YSI, USA)를 이용하여 측정하였으며 조사정점은 Fig. 1에 나타내었다. 어란은 봉고 네트(직경 0.6 m, 길이 2 m, 망목 333 μm)의 입구에 유량계(Hydro-Bios flowmeter)를 부착하여 2~3 knots의 속도로 약 10분간 표층에서 예인하여 채집하였으며, 출현개체수는 해수 1,000 m³당 개체수로 환산하여 표기하였다. 채집 시료는 아이스박스에 넣어서 실험실로 운반하였으며 실험실에서 입체현미경을 사용하여 어란의 크기, 모양, 난막, 그리고 배아 형태에 따라서 구분한 다음, 70% ethanol 고정 후 DNA 추출 시까지 -20°C 냉동실에 보관하였다. 어란의 구분이 어렵거나 불가능할 경우에는 모두 분자동정 대상에 포함시켜 종동정 시 어란 구분과정에서 제외될 확률을 최소화하였다.

2. Total DNA 추출

DNA 추출을 위해 알코올에 고정된 어란을 1.5 mL eppendorf tube에 한 개씩 넣고 micropipet tip을 이용하여 어란을 으

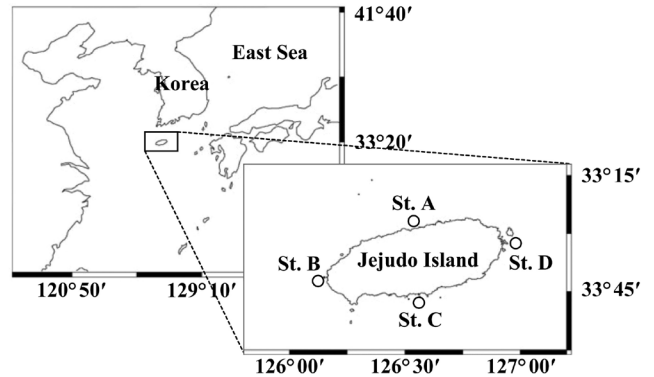


Fig. 1. A map showing four sampling locations in the coastal waters of Jeju Island. A, Jeju harbor; B, Chagwido; C, Seogwipo harbor; D, Seongsanpo.

갠 다음, tissue lysis buffer (Bioneer Inc., Korea), 50 μL와 0.2 μg/μL proteinase K (Bioneer Inc., Korea), 4 μL를 첨가한 후 60°C 항온수조에서 1시간 동안 반응 후, tube에 binding buffer (Bioneer Inc., Korea), 50 μL를 첨가하고 60°C 항온수조에서 10분 동안 반응하였다. 그 후 반응산물에 100% isopropanol (Sigma, USA), 25 μL를 넣고 inverting하여 잘 섞어준 다음, DNA binding column (Bioneer Inc., Korea)으로 옮겨주었다. 그 다음 과정부터는 Accuprep genomic DNA extraction kit (Bioneer Inc., Korea)의 매뉴얼에 제시한 방법을 따랐다. DNA의 농도와 순도는 분광광도계 Unicam UV/VIS spectrometer (Helios β, Unicam Ltd, UK)를 이용하여 흡광도를 측정하여 확인하였다.

3. PCR 증폭

PCR 증폭은 *cyt b* 유전자 주변 tRNA서열에 기초하여 디자인 된 forward primer (Glu_F3, 5'-ACCACCGTTGTHNTTCAACTA-3')와 reverse primer (Pro_R, 5'-TAGAATYYTRGCTTTGGGAG-3')를 사용하였으며, 이들 중 후자는 기존의 primer (Kang and Song, 2004)를 사용하였다. 그리고 드물게 증폭이 이루어지지 않을 경우 reverse primer를 Thr_R3 (5'-AGAGCRYCGGYCTTGTAARCCG-3')로 변경하여 전체 *cyt b* 유전자 (1,141 bp)를 증폭하였으며, 이들 primer의 위치는 Fig. 2에 나타내었다.

PCR 반응은 약 0.1~0.3 μg의 genomic DNA 1~2 μL, 10 μM의 각각의 primer (forward primer와 reverse primer) 2 μL, 10X *Ex Taq* buffer (Takara Bio Inc., Japan) 4 μL, 2.5 mM의 각각의 dNTP (Takara Bio Inc., Japan) 4 μL와 1~2 unit의 *Ex Taq* polymerase (Takara Bio Inc., Japan)를 초순수를 이용하여 최종 volume이 40 μL가 되도록 한 다음, TP600 PCR Thermal Cycler Dice (Takara Bio Inc., Japan)를 이용하여 실시하였다.

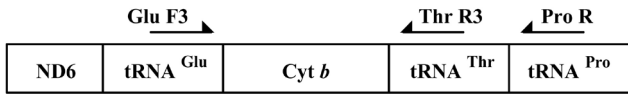


Fig. 2. Primer locations and gene order at ND6-tRNA^{Pro} region of the typical mitochondrial DNA of fishes.

PCR 반응 주기는 최초 denaturing step 94°C에서 1분 동안 1회 반응시킨 후, 94°C에서 30초, primer annealing을 위해 43°C에서 1분, primer extension을 위하여 72°C에서 1분 30초 씩 총 34회의 반복주기를 주었고, 최종적으로 72°C에서 7분 동안 extension을 실시하였다.

PCR 산물은 0.8% agarose (LE agarose, Cambrex co.) gel에서 전기영동하여 PCR 증폭을 확인하였으며 증폭이 확인된 PCR 산물은 Accuprep gel purification kit (Bioneer Inc., Korea)을 이용하여 정제하였다.

4. 염기서열 결정 및 종동정

염기서열은 Big dye terminator v3.1 cycle sequencing kits와 ABI 3730xl DNA analyzer (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 결정하였다. 이를 통해 얻은 *cyt b* 염기서열 가운데 이번 연구에서 종수준의 동정에 사용된 염기서열들은 DNAssist program 2.2 (Patterton and Graves, 2000)를 이용하여 다중 정렬한 후 육안으로 이상 유무를 확인하고 GenBank에 등록하였으며 Accession No.는 KU315017-KU315050이다. 종동정 (species identification)은 어란으로부터 얻은 *cyt b* 유전자 염기서열과 성어의 염기서열 비교를 통해 실시하였으며, 종수준의 분류가 어려운 경우에는 일부 GenBank database를 활용하여 계통수를 작성하고 계통분류학적인 위치를 고려하여 속 (genus) 또는 과 (family) 수준까지 분류를 시도하였다. 계통수 작성은 Kimura-2-parameter distance model (Kimura, 1980)과 Neighbor-Joining 방법 (Saitou and Nei 1987)을 이용하였다. 이와 같은 방법으로도 분류하기 어려울 경우에는 미동정종 (unidentified species)으로 나타내었다.

결 과

1. 수온과 염분

조사기간 동안 표층수온과 염분의 월별 그리고 정점별 변화는 Fig. 3에 나타내었다. 4군데 조사정점에서 측정한 월별 평균 표층수온은 2007년 3월에 14.6°C로 가장 낮았으며, 그 다음이 2월 (15.3°C), 1월과 4월 (16.0°C), 12월 (17.7°C), 5월 (18.4°C), 11월 (19.2°C), 6월 (19.8°C), 7월 (21.1°C), 10월 (23.6°C), 9월 (24.5°C), 8월 (27.7°C) 순으로 수온이 상승하였

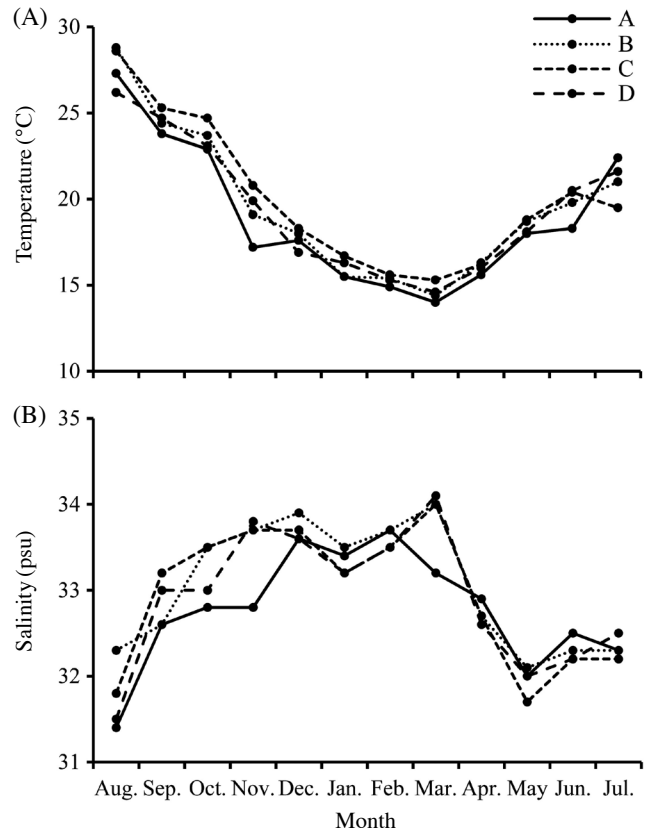


Fig. 3. Monthly variation of surface water temperature (°C) and salinity (psu) at four sampling locations of Jeju Island. A, Jeju harbor; B, Chagwido; C, Seogwipo harbor; D, Seongsanpo.

다. 정점별 수온은 2006년 8월과 12월, 그리고 2007년 7월을 제외하고 제주도 북쪽에 위치하는 제주항 근해에서 수온이 상대적으로 낮았으며, 제주도 남쪽에 위치하는 서귀포항 근해의 경우에 2006년 8월, 2007년 4월과 7월을 제외하면 전반적으로 표층수온이 상대적으로 높게 나타났다. 조사기간 동안 측정된 최저 표층수온은 2007년 3월에 제주항 근해에서 14.0°C로 가장 낮았으며, 최고 표층수온은 2006년 8월에 차귀도 근해에서 28.8°C를 보여 가장 높았다. 같은 조사시기에 조사정점 간 최대 온도 차이는 2006년 11월에 제주항과 서귀포항 근해 사이에 3.6°C의 수온 차이를 보여 가장 컸으며 2007년 7월에는 2.9°C를 보여 두 번째로 큰 차이를 나타내었다.

4군데 조사정점에서 측정한 월별 평균 염분은 2006년 8월에 31.7 psu로 가장 낮았으며, 2007년 3월에 33.8 psu로 가장 높게 나타나 수온과는 대조적인 양상을 보였다. 정점별 염분은 2006년 8월에 제주항 근해에서 31.4 psu로 가장 낮았으며, 2007년 4월에 성산포근해에서 34.1 psu로 가장 높았다. 같은 조사시기에 조사정점 간 최대 염분 차이는 표층수온의 경우와 마찬가지로 2006년 11월에 제주항과 성산포 근해 사이에서 가장 큰 차이를 나타냈다.

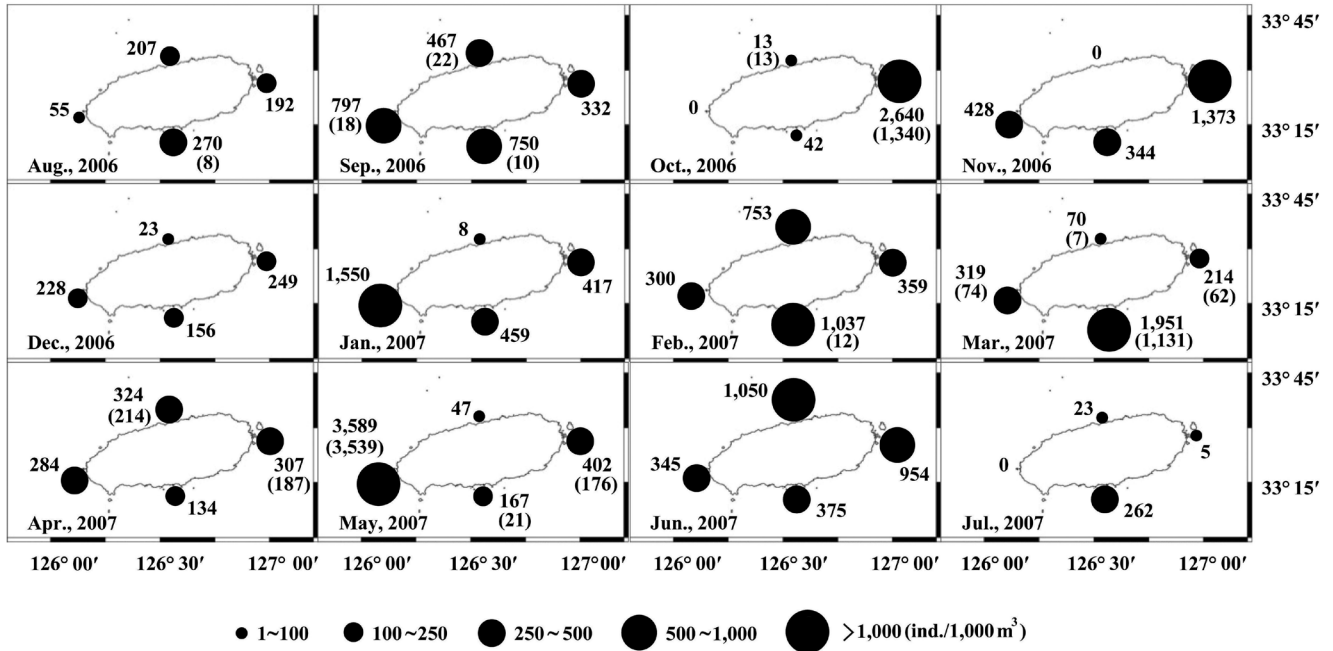


Fig. 4. Monthly abundance of fish eggs collected at four sampling locations of Jeju Island. Values in parenthesis indicate the number of fish eggs of *E. japonicus*.

2. 조사정점별, 시기별 어란 출현량

부유성 어란의 정점별 그리고 시기별 출현량(ind./1,000 m³)은 Fig. 4에 나타내었다. 조사기간 동안 전체 어란 출현량은 24,271개체였다. 정점별 평균 출현량은 6,068개체였으며 월별 평균 출현량은 2,023개체였다.

정점별 출현량은 차귀도 근해에서 전체 7,895개체가 채집되어 가장 많았으며, 성산포 근해에서 7,444개체, 서귀포항 근해에서 5,947개체, 그리고 제주항 근해에서 전체 2,985개체가 출현하였다. 조사시기별 출현량은 2007년 5월에는 전체 4,205개체로 가장 많았으며, 상대적으로 적은 출현량(1,000개체 이하)을 보인 시기는 2006년 8월(724개체)과 12월(656개체), 그리고 2007년 7월(290개체)이었다. 나머지 조사시기에는 1개월에 1,049개체에서 2,724개체가 채집되어 월평균 2,300개체가 출현하였다.

정점별 그리고 시기별 출현량은 2007년 5월에 차귀도 근해에서 3,589개체가 잡혀서 출현량이 가장 많았으나, 2006년 10월 차귀도 근해와 11월 제주항 근해, 그리고 2007년 7월 차귀도 근해에서는 어란이 전혀 출현하지 않아서, 조사정점당 월평균 어란 출현량은 506개체를 나타내었다. 그리고 멸치 어란의 경우에 2006년 8월에서 10월 사이, 그리고 2007년 2월에서 5월 사이에 출현하였으며, 그 중에서도 2006년 9~10월과 2007년 3~5월에 상대적으로 많은 출현량을 나타내었다(Fig. 4).

3. 분류군 출현양상과 종동정 성공률

조사기간 동안 채집된 어란 출현종의 출현정점 및 시기는 Table 1에 나타내었다. 채집된 전체 어란은 43개의 분류군으로 구분되었으며, 이 중 34종(6목 24과 33속)은 종(species)까지, 4종은 과(family)까지, 그리고 5종은 미동정되었다. 따라서 이번 연구에서 43개의 분류군 가운데 34종이 종수준에서 명확하게 동정되어 종동정 성공률이 79.1%를 나타내었다.

조사정점에 따라서 채집된 어란은 분류군의 수에서 약간의 차이를 나타내었다. 즉 제주항 근해에서는 채집된 어란이 24개의 분류군으로 구분되어, 정점들 가운데 가장 많은 분류군을 포함하는 한편, 차귀도 근해에서는 18개 분류군으로 정점 가운데 가장 적은 분류군 수를 나타내었으며, 그리고 서귀포항 근해에서는 19개의 분류군, 성산포 근해에서는 21개의 분류군이 출현하였다.

조사시기별 채집어란의 분류군 수는 다음과 같다. 즉 2006년 9월에는 채집어란이 15개의 분류군으로 가장 많은 분류군을 나타내었고, 2007년 6월에는 12개의 분류군으로 분류되었으며, 2006년 8월과 2007년 1월에서 5월까지 1개월에 6~8개의 분류군을 보였다. 그리고 2006년 10월과 11월 각각 5개의 분류군을 보였으며 2006년 12월과 2007년 7월에는 각각 3개의 분류군을 보여 가장 빈약하였다.

4. 주요 어종의 어란 출현 시기와 수온범위

제주도 주변 해역에서 서식하는 주요 어류 가운데 부유성

Table 1. Species list of fish eggs collected at four sampling locations of Jeju Island

Order Family Species	2006					2007						
	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.
Cupeiformes												
Engraulidae												
<i>Engraulis japonicus</i>	C	ABC	AD	-	-	-	C	ABCD	AD	BCD	-	-
Engraulidae sp.	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aulopiformes												
Aulopodidae												
<i>Aulopus japonicus</i>	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	BD	-
Synodontidae												
<i>Saurida elongata</i>	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Synodus hoshinonis</i>	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	C	A
Synodontidae sp.	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C
Gadiformes												
Moridae												
<i>Lotella phycis</i>	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-	-
Scorpaeniformes												
Scorpaenidae												
<i>Hypodytes rubipinnis</i>	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Scorpaena miostoma</i>	-	AB	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Aploactinidae												
<i>Erisphex pottii</i>	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Platycephalidae												
<i>Onigocia spinosa</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	D	-
Perciformes												
Moronidae												
<i>Lateolabrax japonicus</i>	-	-	-	-	-	BD	ABD	-	-	-	-	-
Acropomatidae												
<i>Malakichthys wakiyae</i>	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serranidae												
<i>Caprodon schlegelii</i>	-	-	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-
Callanthiidae												
<i>Callanthias japonicus</i>	-	-	-	-	-	BD	ABCD	C	ABCD	BD	BCD	-
Malacanthidae												
<i>Branchiostegus japonicus</i>	-	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sparidae												
<i>Pagrus major</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-	-	-
Pempheridae												
<i>Pempheris japonica</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C
Pomacanthidae												
<i>Chaetodontoplus septentrionalis</i>	D	B	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-
Kyphosidae												
<i>Girella punctata</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	C	CD	BCD	-
Oplegnathidae												
<i>Oplegnathus fasciatus</i>	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	AC	-
Cheilodactylidae												
<i>Goniistius quadricornis</i>	-	A	D	C	D	-	-	-	-	-	-	-
Labridae												
<i>Choerodon azurio</i>	-	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Halichoeres tenuispinis</i>	-	-	D	-	-	-	-	-	AB	D	ACD	-
<i>Pseudolabrus eoethinus</i>	-	-	-	BC	C	C	-	-	-	-	-	-
<i>Pseudolabrus sieboldi</i>	-	A	-	CD	B	-	-	-	-	-	-	-
<i>Pteragogus flagellifer</i>	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Semicossyphus reticulatus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	A	D	B	-
Labridae sp.	-	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pinguipedidae												
<i>Parapercis multifasciata</i>	-	-	-	D	-	-	AD	C	-	-	-	-
Callionymidae												
<i>Repomucenus beniteguri</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	B	-	-	-
Scombridae												
<i>Auxis rochei</i>	-	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Scomber japonicus</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	B	-

Table 1. Continued

Order Family Species	2006					2007						
	Aug.	Sep.	Oct.	Nov.	Dec.	Jan.	Feb.	Mar.	Apr.	May	Jun.	Jul.
<i>Thunnus tonggol</i>	AD	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pleuronectiformes												
Paralichthyidae												
<i>Paralichthys olivaceus</i>	-	-	-	-	-	D	ABCD	ABCD	CD	-	-	-
Pleuronectidae												
<i>Eopsetta grigorjewi</i>	-	-	-	-	-	B	AC	-	-	-	-	-
<i>Pleuronichthys cornutus</i>	-	-	-	-	-	B	A	-	-	-	-	-
Tetraodontiformes												
Tetraodontidae												
Tetraodontidae sp.	-	-	-	-	-	-	-	A	-	-	-	-
Unidentified sp. A	-	-	-	-	-	-	A	C	-	-	-	-
Unidentified sp. B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-
Unidentified sp. C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	-
Unidentified sp. D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	C	-
Unidentified sp. E	D	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Number of taxa examined	8	15	5	5	3	7	8	7	8	6	12	3
Number of species identified	7	11	5	5	3	7	7	5	8	6	9	2
Total number of species identified at a species level	34 species (6 orders, 24 families, 33 genera)											

A, Jeju harbor; B, Chagwido; C, Seogwipo harbor; D, Seongsanpo; -, non-appearance.

Table 2. Comparison of mean abundances (inds./1,000 m³) and the number of identified species of fish eggs collected at different localities

Sampling location	Sampling period (Sampling times, No. of location)	Mean abundance of fish eggs (% of <i>Engraulis japonicus</i>)	No. of species (No. of taxa)	Reference
Yeongil Bay	Fed.~Dec., 2001 (4, 8)	573.8 (63.4)	7 (9)	Han <i>et al.</i> , 2003
Saemangeum	Jan.~Aug., 2003 (5, 9~12)	610.2 (0.4)	4 (8)	Cha <i>et al.</i> , 2004
Uljin	Jan.~Oct., 2002 (4, 5)	298.7 (38.3)	5 (7)	Han and Kim, 2007
Jejudo Island	Aug., 2006~Jul., 2007 (12, 4)	506.0 (28.4)	34 (43)	Present study

어란을 낳는 어류들의 어란 출현시기와 출현횟수(Table 1) 그리고 채집 시의 수온(Fig. 3)을 종합하여 기술하면 다음과 같다. 멸치(*Engraulis japonicus*)는 2006년 9월과 11월 그리고 2007년 2월부터 5월까지 시기에 따라서 정점별 출현 유무에 차이는 보였지만 전체 16회 채집되었으며, 출현중 중 가장 넓은 수온 범위(14.0~28.6°C)에서 출현하였다. 노랑벤자리(*Callanthias japonicus*)는 2007년 1월부터 6월까지 멸치와 마찬가지로 전체 16회 채집되었으며, 채집 수온 범위 14.9~20.5°C였다. 넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 2007년 1월부터 4월까지, 11회 관찰되었으며, 수온 14.0~16.2°C에서 출현하였고, 놀래기(*Halichoeres tenuispinis*)는 2006년 10월과 2007년 4월부터 6월까지 7회 관찰되었으며, 수온 15.6~23.1°C에서 출현하였다. 뱅에돔(*Girella punctata*)는 2007년 5월부터 6월까지 6회 관찰되었으며, 수온 16.2~20.5°C에서 출현하였으며, 농어(*Lateolabrax japonicus*)는 2007년 1월과 2월에 5회 관찰되었으며, 수온 14.9~16.3°C에서 출현하였다. 여덩둥가리(*Goniistius quadricornis*)는 2006

년 9월부터 12월 사이에 4회, 수온 16.9~23.8°C에서 출현하였고, 황놀래기(*Pseudolabrus sieboldi*)는 2006년 9월, 11월, 12월에 4회, 수온 18.0~23.8°C에서, 그리고 무점황놀래기(*Pseudolabrus eoethinus*)는 11월부터 1월 사이에 4회, 수온 16.7~20.7°C에서 출현하였다.

그 외에도 경제성 어류인 옥돔(*Branchiostegus japonicus*), 참돔(*Pagrus major*), 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*), 흑돔(*Semicossyphus reticulatus*), 고등어(*Scomber japonicus*), 물가자미(*Eopsetta grigorjewi*), 도다리(*Pleuronichthys cornutus*)가 출현 하였으며, 옥돔은 2006년 9월에 수온 23.8°C에서, 참돔은 2007년 4월에 수온 16.2°C에서, 돌돔은 2006년 8월과 2007년 6월에 수온 18.3~27.3°C에서, 흑돔은 2007년 4월에서 6월까지 수온 15.6~19.8°C에서, 고등어는 2007년 5월과 6월에 수온 18.8~19.8°C에서, 물가자미는 2007년 1월과 2월에 수온 14.9~15.6°C에서, 그리고 도다리는 2007년 1월과 2월에 수온 14.9~15.5°C에서 출현하였다.

고 찰

부유성 어란의 평균 출현량은 해당 해역에 있어서 어류의 생산력과 관련이 있다고 생각된다. 따라서 연구기간 동안 제주도 주변해역에서의 정점당 월평균 어란 출현량(ind./1,000 m³)은 전체 출현량(24,271개체)을 조사 횟수(12)와 조사 정점의 수(4)로 나누어서 계산한 결과 506개체를 나타내었다. 채집 시기와 기간이 서로 다르기 때문에 다른 지역의 연구결과와 직접적으로 비교하기는 어려우나, 영일만 연안의 574개체(Han *et al.*, 2003)나 새만금 연안의 610개체(Cha *et al.*, 2004)보다는 약간 적었지만 비슷한 수준을 보였으며, 울진 연안의 299개체(Han and Kim, 2007)보다는 많았다. 또한 이번 조사에서 출현한 어란 가운데 멸치어란이 차지하는 비율이 28.4%로 나타나서, 영일만 63.4%(Han *et al.*, 2003), 울진 연안 38.3%(Han and Kim, 2007)보다는 낮았으나, 새만금 연안 0.4%(Cha *et al.*, 2004)보다 훨씬 높은 비율을 차지하였다(Table 2).

이번 연구에서 관찰된 어종의 어란 출현시기를 이전에 보고된 동일종의 산란시기 및 자치어 출현 시기, 생식주기에 관한 연구 결과와 비교하였을 때, 비교대상 어종과 어란 출현시기의 계절적인 차이는 보이지 않았으나, 물가자미(*E. grigorjewi*)의 경우에는 동지나해(Kim *et al.*, 2011)보다 제주도 연안에서 한 달 가량 빠른 1월에도 산란이 이루어지는 것을 확인할 수 있었으며, 이와 반대로 도다리(*P. cornutus*)의 경우에는 진해(Chun, 1993)보다 한달 가량 늦은 2월에도 제주도 연안에서 산란이 이루어지는 것을 확인할 수 있었다. 이는 이들 어류의 분포에 있어서 시공간적인 차이에 의한 환경적 변이 즉, 수온, 광주기, 염분 등이 생식소 발달에 영향을 미침으로써 산란기간에 차이를 나타내는 것으로 사료된다(Chun, 1993; Shiraishi *et al.*, 2008; Renuka and Joshi, 2012).

형태학적 방법을 이용한 어란의 동정은 어란의 모양, 크기, 난막의 형태, 유구의 개수, 배아 특징 등이 식별 형질로 사용된다(Okiyama, 1988). 이러한 형태학적 동정 방법을 이용하여 국내에서는 멸치(*E. japonicus*), 엘통이(*Maurolis japonicus*), 전어(*Konosirus punctatus*), 보리멸(*Sillago sihama*), 뱀망이(*Sardinella zunasi*), 갈치(*Trichiurus japonicus*), 까나리(*Ammodytes personatus*), 정어리(*Sardinops melanostictus*) 등에 대한 동정이 여러 연구자에 의해 이루어졌으며, 종동정이 어려운 어란에 대해서는 미동정 어란으로 분류하였다(Cha and Park, 1991; Cha and Park, 1994; Chun *et al.*, 2004; Han and Kim, 2007). 외국의 경우, Shao *et al.* (2002)은 수중잡수 채집, 양식장 채집, 그리고 동물성플랑크톤 네트를 사용한 채집을 통해 얻은 어란을 93종을 형태적인 방법을 사용하여 동정하였다. 이들 가운데 광학현미경을 이용한 종동정이 가능한 종수는 27종에 불과하였다. 나머지 66종의 종동정을 위해서 어란을 부

화시킨 후 후기 자어기에 이르러서 종을 동정하거나 전자현미경을 이용하여 난막의 형태를 분석함으로써 종수준까지 형태적 동정을 시도하였다. 하지만 이와 같은 종동정법은 많은 시간과 노력이 필요하기 때문에 일반 연구자들이 채택하기 어렵다고 생각된다.

분자생물학적인 방법을 이용한 어란의 종동정과 관련하여, Aoyama *et al.* (2001)은 뱀장어를 대상으로 16s rRNA 유전자를 이용한 어란 동정을 통해서 산란장 예측을 시도하였고, Aranishi (2006)는 단일 어란에서 유전자를 추출하여 PCR 증폭하는 방법을 제시하였으며, Saitoh *et al.* (2009)은 성어의 16s rRNA 유전자와 비교하여 채집한 어란 7종을 동정하였다. 이외에도 microarray방법, PCR-RFLP(restriction fragment length polymorphism) 분석법, beadarray 방법 등 다양한 어란의 분자동정법이 시도되고 있다(Kochzius *et al.*, 2008; Lelièvre *et al.*, 2010; Gleason and Burton, 2012). 그러나 이들 연구들은 대부분 소수의 어종을 대상으로 어란의 분자 종동정법의 기술개발 측면에서 시도되어 왔다. 이번 연구에서는 제주도 연안 4개 정점에서 채집한 어란 시료에 대하여 *cyt b* 유전자 염기서열을 이용하여 43개 분류군으로 구분할 수 있었고, 이 가운데 34종을 종수준까지 동정할 수 있었다. 이러한 결과는 기존 형태학적 분류 방법을 이용한 연구 결과인 영일만 연안에서 출현한 9개 분류군 가운데 7종, 새만금 연안에서 8개 분류군 중 4종, 그리고 울진 연안에서 7개 분류군 가운데 5종의 출현종을 동정 보고한 것과 비교해보면 이번 연구에서 보다 많은 종이 정확하게 동정되었다는 것을 보여주고 있다(Table 2).

끝으로, 이번 연구에서 분자동정을 위해 사용한 *cyt b* 유전자는 기존에 축적된 database와 중간 또는 종내 변이를 잘 반영할 수 있는 장점에도 불구하고 유전자의 PCR 증폭률이 68.3%로 다소 낮았다. 이는 *cyt b* 유전자를 증폭을 위한 forward와 reverse primer를 디자인할 때 사용된 *cyt b* 유전자 주변 tRNA 지역(glutamic acid tRNA의 5' 말단과 threonine 또는 proline tRNA의 3' 말단)의 염기서열이 일부 어종에서 유전자 재배열(Inoue *et al.*, 2001)을 나타내었으며, tRNA^{Thr}의 염기서열에 변이가 많아서 다수의 어종을 대상으로 PCR 증폭을 할 수 있게 디자인한 degenerate primer 제작에 어려움이 있었기 때문이었다. 따라서 *cyt b* 유전자보다 PCR 증폭을 위한 프라이머 영역의 염기서열이 보다 보존적인 유전자, 예를 들면 cytochrome c oxidase I (COI)유전자를 분자동정에 이용함으로써 PCR증폭의 성공률을 향상시킬 필요가 있다고 생각된다.

요 약

이 연구는 제주도 주변 4개의 정점에서 채집된 어란의 월별 종조성 및 출현량을 알아보기 위해 실시하였다. 현장조사는

2006년 8월부터 2007년 7월까지 봉고네트를 이용하여 월별로 표층채집을 하였으며, 종동정은 채집된 어란의 미토콘드리아 cytochrome *b* 유전자 (*cyt b*) 염기서열을 성어 염기서열과 상호 비교함으로써 이루어졌다. 채집된 어란은 총 43개의 분류군으로 분류되었고, 이중 34종(6목 24과 33속)은 종(species)까지 동정이 이루어졌다. 나머지 9종 가운데 4종은 과(family)까지 동정할 수 있었고, 5종은 미동정되었다. 지역별로 제주항 근해에서는 23개의 분류군으로 가장 많은 분류군이 나타났고, 성상포 근해에서 21개, 서귀포항 근해에서 19개, 차귀도 근해에서는 18개의 분류군이 출현하였다. 시기별로는 2006년 9월에 15개의 분류군으로 가장 많이 나타났고, 12월과 7월에 3개의 분류군으로 가장 적게 나타났다. 동정이 이루어진 34종 중 멸치(*E. japonicus*)와 노랑벤자리(*C. japonicus*)가 가장 높은 출현 빈도를 보였으며, 멸치는 표층수는 14.0~28.6°C에서, 노랑벤자리는 14.9~20.5°C에서 출현하였다. 이번 연구에서 사용된 *cyt b* 유전자의 PCR 증폭 성공률은 68.3%였으며, 종동정률은 79.1%였다.

사 사

이 논문은 2015년도 국립수산물학원 수산과학연구소(R2015032)의 지원으로 수행된 연구이며 연구비 지원에 감사드립니다.

REFERENCES

Aoyama, J., S. Ishikawa, T. Otake, N. Mochioka, Y. Suzuki, S. Watanabe, A. Shinoda, J. Inoue, P.M. Lokman, T. Inagaki, M. Oya, H. Hasumoto, K. Kubokawa, T.W. Lee, H. Fricke and K. Tsukamoto. 2001. Molecular approach to species identification of eggs with respect to determination of the spawning site of the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fisheries Science*, 67: 761-763.

Aranishi, F. 2006. Single fish egg DNA extraction for PCR amplification. *Conservation Genetics*, 7: 153-156.

Cha, S.S. and K.J. Park. 1991. Spatio-temporal distribution of the ichthyoplankton in the Mankyong-Dongjin Estuary. *Journal of the Oceanological Society of Korea*, 26: 47-58.

Cha, S.S. and K.J. Park. 1994. Distribution of the ichthyoplankton in Kwangyang Bay. *Korean Journal of Ichthyology*, 6: 60-70.

Cha, S.S., S.J. Chun, J.S. Yang and K.W. Choi. 2004. Species composition and abundance of ichthyoplankton in the waters of Saemangeum, Korea 2003. *Korean Journal of Ichthyology*, 16: 321-330.

Chun, Y.Y. 1993. A study on the reproductive ecology of frog flounder, *Pleuronichthys cornutus* in the Chinhae Bay. *Bulletin*

of National Fisheries Research and Development Agency, 47: 71-82.

Chun, Y.Y., S.J. Hwang, Y.H. Hur and K.H. Ho. 2004. Characteristics of the distribution of ichthyoplankton along the eastern coast of Korea. *Journal of the Korean Society of Fisheries Resources*, 6: 33-45.

Esposti, M., S. De Vries, M. Crimi, A. Ghelli, T. Patarnello and A. Meyer. 1993. Mitochondrial cytochrome *b*: evolution and structure of the protein. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1143: 243-271.

Gleason, L.U. and R.S. Burton. 2012. High-throughput molecular identification of fish eggs using multiplex suspension bead arrays. *Molecular Ecology Resources*, 12: 57-66.

Han, K.-H. and D.-G. Kim. 2007. Quantitative variation and species composition of ichthyoplankton in coastal waters of Uljin, Korea. *Korean Journal of Ichthyology*, 19: 332-342.

Han, K.-H., J.-S. Hong, Y.-S. Kim, K.-A. Jeon, Y.-S. Kim, B.-K. Hong and D.-S. Hwang. 2003. Species composition and seasonal variations of ichthyoplankton in coastal waters of Yeongil Bay, Korea. *Korean Journal of Ichthyology*, 15: 87-94.

Huh, S.-H., H.C. Choi, G.W. Baeck, H.W. Kim and J.M. Park. 2013. Seasonal distribution of larval fishes in the central and southern surface waters of the East Sea. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 46: 216-222.

Inoue, J.G., M. Miya, K. Tsukamoto and M. Nishida. 2001. Complete mitochondrial DNA sequence of *Conger myriaster* (Teleostei: Anguilliformes): novel gene order for vertebrate mitochondrial genomes and the phylogenetic implications for anguilliform families. *Journal of Molecular Evolution*, 52: 311-320.

Kang, G.Y. and C.B. Song. 2004. Phylogenetic relationships among groupers (genus *Epinephelus*) based on mitochondrial cytochrome *b* DNA sequences. *Journal of the Korean Fisheries Society*, 37: 414-422.

Kim, Y., Y. Kim, H. Kang, J.K. Kim and Y.Y. Chun. 2011. Age and growth of shotted halibut *Eopsetta grigorjewi* in the East China Sea. *Korean Journal of Ichthyology*, 23: 30-36.

Kim, Y.U. 1981. Fish eggs and larvae of the coastal waters in Korea. *Institute of Marine Sciences, National Fisheries University of Pusan*, 109pp.

Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequence. *Journal of Molecular Evolution*, 16: 111-120.

Kochzius, M., M. Nölte, H. Weber, N. Silkenbeumer, S. Hjørleifsdóttir, G.O. Hreggvidsson, V. Marteinson, K. Kappel, S. Planes, F. Tinti, A. Magoulas, E. Garcia Vazquez, C. Turan, C. Hervet, D. Campo Falgueras, A. Antoniou, M. Landi and D. Blohm. 2008. DNA microarrays for identifying fishes. *Marine Biotechnology*, 10: 207-217.

Lelièvre, S., V. Verrez-Bagnis, M. Jérôme and S. Vaz. 2010. PCR-RFLP analyses of formalin-fixed fish eggs for the mapping

- of spawning areas in the Eastern Channel and Southern North Sea. *Journal of Plankton Research*, 32: 1527-1539.
- Lim, T.Y., M.K. Jo and M.J. Lee. 1970. The occurrence and distribution of the fish eggs and larvae in the Korean adjacent sea. *Reports of Fisheries Resource*, 8: 7-29.
- Okiyama, M. 1988. An atlas of the early stage fishes in Japan. Tokai University press, Tokyo, 1154pp.
- Renuka, K. and B.N. Joshi. 2012. Photoperiodic regulation of ovarian function in the teleost fish *Channa punctatus* (Bloch). *International Journal of Life Sciences*, 1: 104-107.
- Saitoh, K., S. Uehara and T. Tega. 2009. Genetic identification of fish eggs collected in Sendai Bay and off Johban, Japan. *Ichthyological Research*, 56: 200-203.
- Saitou, N. and M. Nei. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 4: 406-425.
- Sassa, C., Y. Konishi and K. Mori. 2006. Distribution of jack mackerel (*Trachurus japonicus*) larvae and juveniles in the East China Sea, with special reference to the larval transport by the Kuroshio Current. *Fisheries Oceanography*, 15: 508-518.
- Shao, K.-T., K.-C. Chen and J.-H. Wu. 2002. Identification of marine fish eggs in Taiwan using light microscopy, scanning electric microscopy and mtDNA sequencing. *Marine Freshwater Research*, 53: 355-365.
- Shiraishi, T., K. Okamoto, M. Yoneda, T. Sakai, S. Ohshimo, S. Onoe, A. Yamaguchi and M. Matsuyama. 2008. Age validation, growth and annual reproductive cycle of chub mackerel, *Scomber japonicus*, off the waters of northern Kyushu and in the East China Sea. *Fisheries Science*, 74: 947-954.
- Takehana, Y., N. Nagai, M. Matsuda, K. Tsuchiya and M. Sakai-zumi. 2003. Geographic variation and diversity of the cytochrome *b* gene in Japanese wild populations of medaka, *Oryzias latipes*. *Zoological Science*, 20: 1279-1291.
- Yoo, J.M., S. Kim, E.K. Lee and J.S. Lee. 1992. The distribution of ichthyoplankton in Chinhae Bay. *Ocean Research*, 14: 77-87.