

## Genetic Relationships of Sandfish (*Arctoscopus japonicas*) from Five Different Areas of Korea and Japan Based on Mitochondrial DNA and Microsatellite Analyses

Eun-Mi Kim<sup>1</sup>, Hyun-Sook Kang<sup>1</sup>, Jung-Ha Kang<sup>1</sup>, Dong-Gyun Kim<sup>1</sup>, Cheul Min An<sup>1</sup>, Hae Won Lee<sup>2</sup> and Jung Youn Park<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Biotechnology Research Division, NFRDI, Busan 619-705, Korea

<sup>2</sup>External Research Cooperation Division, NFRDI, Busan 619-705, Korea

Received September 2, 2015 / Revised October 8, 2015 / Accepted October 12, 2015

A comprehensive analysis of the population structure of the sandfish (*Arctoscopus japonicas*), the most abundant fishery resource in the East Sea of Korea, has not been carried out, despite its importance in Korea. The present study examined the genetic diversity and differences between five populations (two Japanese and three Korean populations) of *A. japonicas* captured in the East Sea using both the 401 bp sequence of mitochondrial DNA (mtDNA, cytochrome *b*) and five microsatellite DNA (msDNA) markers. The results of the analysis using the Cyt *b* sequence revealed 27 haplotypes. Based on msDNA variations, the estimated expected heterozygosity ( $H_E$ ) in each population ranged from 0.68 (Gampo, Korea) to 0.7765 (Erimo, Japan). Pairwise  $F_{ST}$  and AMOVA tests using both the Cyt *b* sequence and msDNA data pointed to significant differences between the Korean and Japanese populations (mtDNA;  $F_{ST}=0.2648$ ,  $p<0.05$ , msDNA;  $F_{ST}=0.0814$ ,  $p<0.05$ ). These results were similar to the results of UPGMA, PCA, and structure analysis. In these analyses, the five populations were assigned to two groups (Korean populations and Japanese populations). These results shed light on the genetic diversity and relationships of *A. japonicas* and contribute to research on the evaluation, conservation, and utilization of Korean *A. japonicas* as genetic resources.

**Key words** : *Arctoscopus japonicas*, genetic relationship, microsatellite, mitochondrial DNA, sandfish

### 서 론

도루묵, *Arctoscopus japonicas*은 농어목(Order Perciformes) 도루묵과(Family Trichodontidae)에 속하는 어종으로 우리나라 동해, 일본 중부 이북, 캄차카반도, 사할린 및 알래스카 해역 등에 널리 분포하고[23], 수심 약 100-300 m인 대륙붕의 모래나 펄 지역에 서식하는[13] 우리나라 동해안에서 경제적으로 가치가 높은 중요한 수산자원 어종 중 하나이다.

도루묵 자원은 1971년 2만 5천 톤으로 최고치를 기록하였지만, 1970년대 후반부터 어획량이 크게 감소하여 4천 톤 미만의 낮은 어획수준을 보이다가 도루묵 자원의 회복을 위해 동해의 도루묵 산란장과 도루묵 어미 등을 보호하는 정책으로 도루묵 자원이 증가하는 경향을 보이고 있다. 따라서 회복된 도루묵 자원을 보존하고 합리적으로 이용하기 위해 체계적인 자원관리와 지속적인 관리를 위한 모니터링 계획의 수립이 필요하

며, 이러한 자원관리를 위해 도루묵 종 및 집단의 유전학적 분석을 통한 분자계통학적 연구 및 유전적 다양성에 관련된 연구가 수행되어야 할 것이다.

도루묵 자원의 집단 유전학적 분석에 관한 연구로, 일본에서는 도루묵의 주 산란장으로 아키타 현(혼슈의 북쪽)과 한국의 동해, 그리고 북해도 일대로 알려져 있으며, 산란을 위한 뚜렷한 이동을 보이고 있다고 보고하고 있다[16, 24, 25, 26, 35]. 또한, 산란장에 따라 북해도의 서쪽, 혼슈의 북쪽, 한국의 동해 지역으로 명확한 3개의 집단 구조를 보이며, 특히 북해도의 태평양 연안은 위의 3개 집단 구조와는 다르다고 보고하는 [25] 등 많은 연구가 수행되었다. 하지만, 우리나라에서 도루묵에 관련된 연구는 분포 특성[42], 행동습성[1] 및 자원량 추정 [19] 등 몇몇의 생태학적 특성 분석에 불과하며, 유전학적 분석에 대한 연구는 microsatellite 마커 개발[29]에 관한 연구만이 수행되어, 우리나라와 주변국 도루묵 집단과의 유전적 관계에 관한 연구는 아직까지 국내에서 이루어지지 않아 명확히 설정되지 않았으며, 유전학적 분석에 대한 연구가 매우 부족한 상태이다. 따라서, 우리나라에서도 도루묵 자원의 회복을 유지하고 합리적으로 이용하기 위한 효율적인 자원관리가 필요하며, 이를 위해 유전학적 분석 통한 도루묵 집단의 유전적 구조에 관한 유용한 정보가 필요한 실정이다.

Mitochondrial DNA (mtDNA)는 진화속도가 빠르고[11],

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-720-2460, Fax : +82-51-720-2456

E-mail : genome@korea.kr

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.

한 세포에 여러 copy의 mtDNA가 있어 세포 당 한 copy씩만 존재하는 nuclear DNA보다 PCR (Polymerase chain reaction) 을 통해 분석하기가 용이하고, 모계유전을 하며, 유전자 재조합을 하지 않는 특징을 가지고 있어 집단 간 유전적 차이를 분석하기에 적합한 유전자 마커로 알려져 있다[4, 18, 27]. Cytochrome *b* (Cyt *b*) 유전자는 전체 1.2Kb로 유전자의 구조와 서열이 잘 알려져 있으며, 어류를 포함한 많은 종에서 계통 유전학적 분석을 위한 마커로 널리 사용되고 있다[5, 40, 43].

Microsatellite 마커는 2~4개의 염기서열이 반복되는 부분으로, 진핵생물 유전체에 전반적으로 존재하며[20, 21], 개체 간 높은 다형성을 나타내고, Hardy-Weinberg 평형 가설을 기초로 하기 때문에 언어[3], 넓치[34], 참돔[31] 등 여러 어종의 유전학적 계군 분석 등의 집단유전학적 연구에 널리 이용되고 있다[12, 39].

따라서, 본 연구는 도루묵의 지역 집단 간 유전적 특성과 유연 관계를 파악하기 위해 한국 동해안 3지역과 일본 2지역의 도루묵을 대상으로 mtDNA와 msDNA를 사용하여 분석하였으며, 유전적 다양성을 평가하고 집단 구조를 밝혀냄으로써 우리나라 도루묵 자원의 보존 및 관리를 위해 필요한 유전학적 기초자료를 제공하고 이를 활용하고자 수행되었다.

**재료 및 방법**

**실험 시료 확보 및 DNA 추출**

본 연구에 사용한 도루묵 시료는 총 96개체로, 국립수산물학원 전략양식연구소 생명공학과에서 수집하여 수장고에 보관중인 일본 2지역, 북해도(n=22)와 에리모(n=22)의 genomic DNA와 독도수산연구센터에서 우리나라 동해안 3지역, 동해(n=10), 감포(n=34) 및 독도(n=8)의 도루묵을 채집하여 99.9% 에탄올에 고정된 지느러미 조직을 공급받아 사용하였다(Table 1).

시료의 DNA 추출은 magnetic bead 기반의 Mag Extractor genome DNA purification Kit (Toyobo, Japan)와 함께 자동화

Table 1. Collections of *Arctoscopus japonicus* samples for the present study

Sample site	Date collected	Assay	Assay
		no. 1	no. 2
		n	n
Japan			
Hokkaido (JHKD)	2004. 10. 20	18	22
Erimo (JERM)	1999. 12. 03	17	22
Eastern coast of Korea			
Dokdo (KDD)	2014. 06. 01	7	8
Donghae (KDH)	2014. 06. 20	9	10
Gampo (KGP)	2014. 06. 27	32	34
Total		83	96

Assay no. 1, sequencing analysis of Cyt *b* gene 83 specimens  
 Assay no. 2, microsatellite analysis using 96 specimens

DNA 추출 장비(MagExtractor MFX-6100, Toyobo, Japan)를 사용하여 total genomic DNA를 분리하였다.

**mtDNA Cyt *b* 영역의 염기서열 분석**

도루묵의 mtDNA cytochrome *b* 영역의 PCR 증폭을 위해 사용된 primer는 forward primer: Cyt-L, L15338 (5'-CGA AGC TTG ATA TGA AAA ACC ATC GTT-3')과 reverse primer: Cyt-H, H15763 (5'-AAA CTG CAG CCC CTG CTC AGA ATG ATA TTT GTC CTC A-3')를 사용하였다[28]. PCR 조성은 10× Taq PCR buffer 3 µl, dNTP mixture (10 mM) 0.6 µl, Hs Taq DNA polymerase (2.5 U/µl; TNT Research, Seoul, Korea) 0.3 µl, forward와 reverse primer 각각 1.2 µl (10 mM), template DNA 3 µl를 넣고, 총 30 µl까지 멸균된 증류수를 넣은 후, PCR은 Thermal cycler (PTC-0220 DNA Engine Dyad Peltier; MJ Research, MA)를 이용하여, 95°C에서 11분간 preincubation 후, 94°C에서 1분간 denaturation, 54 °C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분간 extension 하여 총 34 cycles을 수행하였으며, full extension은 72°C에서 5분간 실시하였다. PCR 후 1.5% agarose gel 상에서 전기영동으로 증폭된 DNA 밴드의 유무를 확인하였다. PCR 산물은 QIA quick PCR purification kit (Qiagen, USA)로 정제한 후 염기서열 분석에 사용하였다. ABI PRISM Big Dye Terminator version 3.1 cycle sequencing kit (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 ABI PRISM 3130XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA)를 통해 염기서열을 분석하였으며, ABI DNA sequencing analysis software version 5.2 (Applied Biosystems, USA)를 사용하여 염기서열 파일을 생성하였다.

**Microsatellite (msDNA) 마커 분석**

본 연구에 사용한 MS marker는 2006년에 박 등[29]이 개발한 msDNA 마커 중에서 5개 마커의 정보를 사용하여 primer (DR55, DR72, DR118, DR148, DR225)를 제작하였다(Table 2). PCR 조성은 10× Taq PCR buffer 1 µl, dNTP mixture (10 mM) 0.2 µl, Hs Taq DNA polymerase (2.5 U/ µl; TNT Research, Seoul, Korea) 0.1 µl, forward와 reverse primer 각각 0.4 µl (10 mM), template DNA 1 µl를 넣고, 총 10 µl까지 멸균된 증류수를 넣은 후, PCR은 Thermal cycler (PTC-0220 DNA Engine Dyad Peltier; MJ Research, MA)를 이용하여, 95°C에서 11분간 preincubation 후, 94°C에서 1분간 denaturation, 58°C에서 1분간 annealing, 72°C에서 1분간 extension 하여 총 34 cycles을 수행하였으며, full extension은 72°C에서 5분간 실시하였다. PCR 후 1.5% agarose gel 상에서 전기영동으로 증폭된 DNA 밴드의 유무를 확인하였다. PCR 산물은 Hi-Di Formamide와 size standard, GeneScan 400HD ROX (Applied Biosystems, USA)를 혼합하여 95°C에서 2분간 denaturation 후 ABI PRISM 3130XL Genetic Analyzer (Applied

Table 2. Distribution of mtDNA haplotypes in 5 sample sites of *A. japonicus* based on Cyt *b* gene sequences

Haplotype	Haplotype frequency					Total N	%
	JHKD	JERM	KDD	KDH	KGP		
Hap01	11		1		1	24	28.92
Hap02	2					2	2.41
Hap03	1	11				3	3.61
Hap04	1					2	2.41
Hap05	1	2				2	2.41
Hap06	1	1				1	1.20
Hap07	1	1				1	1.20
Hap08			1		2	3	3.61
Hap09			4	5	10	19	22.89
Hap10			1		1	2	2.41
Hap11				2		2	2.41
Hap12				1		1	1.20
Hap13		1		1		1	1.20
Hap14		1				1	1.20
Hap15						1	1.20
Hap16					7	7	8.43
Hap17					1	1	1.20
Hap18					1	1	1.20
Hap19					1	1	1.20
Hap20					1	1	1.20
Hap21					1	1	1.20
Hap22					1	1	1.20
Hap23					1	1	1.20
Hap24					1	1	1.20
Hap25					1	1	1.20
Hap26					1	1	1.20
Hap27					1	1	1.20
Total	18	17	7	9	32	83	100

Biosystems, USA)를 이용하여 분석하였다.

**데이터 분석**

mtDNA Cyt *b* 영역의 염기서열은 SeqMan software 프로그램(DNASTAR Lasergene 8 package)을 이용하여 sequence assembly하여 정렬하였다. Haplotype의 결정 및 빈도, 변이부위 탐색, 유전적 변이성 추정 등의 분석은 DnaSP (v. 5.10.01)를 이용하였다. 집단 간 염기서열의 유전적 거리는 MEGA 5 [38]의 Between group mean distance를 Kimura-2-parameter 모델[15]로 계산하였다. 유전적 집단구조 분석은 Arlequin 3.1 [8]를 이용하여 집단 간 유전적 분화 정도를 추정하기 위한 Pairwise  $F_{ST}$  값을 구하였으며, 집단 내 또는 집단 간의 유전적 변이 분석을 통한 집단의 유사성 및 유연관계를 알아보기 위해 Tamura and Nei model [37]을 적용하여 AMOVA (analysis of molecular variance) [9] 분석을 수행하였다.

msDNA 마커 별 대립유전자들의 크기는 GeneMapper version 4.0 (Applied Biosystems, USA)를 이용하여 결정하였으며, Microsoft Excel 파일로 저장하였다. 유전적 다양성 분석을

위해 FSTAT version 2.9.3 [10]를 사용하여 대립유전자수 (number of alleles,  $N_A$ ), 대립유전자 크기(product size range, S), 집단 크기를 보정한 대립유전자수(allelic richness,  $A_R$ )를 구하였다. Arlequin version 3.1 software [8]를 사용하여 이형접합률(expected heterozygosity,  $H_E$ ), 관찰치 이형접합률(observed heterozygosity,  $H_O$ )를 추정하였으며, Markov-chain 방법으로 Hardy-Weinberg equilibrium (HWE) 이탈에 대한 분석을 수행하였다. 집단 내 근친교배 계수(inbreeding coefficients,  $F_{IS}$ ) [41]의 분석은 GENEPOP version 4.0 computer package [33]를 이용하였으며, 1,000회 반복하여 유의성을 측정하였다.

유전적 집단구조 분석을 위해, FSTAT version 2.9.3 [10]를 이용하여 집단 간 유전적 분화 정도, Pairwise  $F_{ST}$  [41] 수치를 측정하여 비교하였다. 집단 내 또는 집단 간의 유전적 변이 정도를 통계적으로 추정하여 집단 간 유전적 분화정도를 알아보기 위해 Tamura and Nei model [37]을 적용한 AMOVA (analysis of molecular variance) [9] 분석은 Arlequin 3.1 [8]를 사용하여 수행하였다. 유전적 변이 분포를 이용하여 지역 집단의 기하학적 관계를 2차원적으로 보여주는 Principal Coordinate analysis (PCoA) 분석은 GeneAEx 6.4 program [30]을 이용하여 분석하였다. 유전적 거리에 기초한 집단 간 계통학적 유연관계는 Populations 1.2.32 [17]를 이용하여 Nei [22]의 방법에 따라  $D_s$  유전거리를 산출하여 UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetical average) [36]방법으로 작성하였다. 집단의 유전형상과 군집구조를 분석하기 위해 STRUCTURE version 2.3 program [32]를 이용하여 분석을 수행하였다. 적절한 실제 집단의 수( $K$  값)를 추정하기 위해 Bayesian 통계분석을 수행하여 각각의  $K$  ( $K=1\sim10$ ) 값에 대해 20회 반복하여 평균 추정치  $Pr(X|K)$ 와 표준편차를 계산하였다(burn-in period: 5,000, MCMC, Markov Chain Monte Carlo: 50,000). 이 결과를 Evanno 등[7]의 방법을 적용하여  $\Delta K$  값을 계산하고 최적의  $K$  값을 결정하여 각각의 클러스터에 대한 각 집단의 유전형상에 따른 실제 분포를 추정하였다.

**결 과**

**mtDNA Cyt *b* gene 분석**

mtDNA의 Cyt *b* gene 영역에서 401 base pair의 염기서열 분석 결과, 총 27개의 haplotype으로, 북해도 지역에서 7개, 에리모 지역에서 6개, 독도와 동해 지역에서 각각 4개, 감포 지역에서 16개의 haplotype이 관찰되었다. 이들 지역 집단 간 haplotype 구성을 살펴보면, Hap01은 일본 2지역에서 가장 많이 관찰되었고(북해도: 61%, 에리모: 65%), Hap02~07과 Hap14~15는 일본 지역에서만 관찰되었다. 반면, Hap09는 우리나라 동해안 3지역에서 가장 많이 관찰되었고(독도: 57%,

Table 3. Genetic diversity for 5 sample sites of *A. japonicus* based on mtDNA Cyt *b* gene sequence

Genetic diversity	JHKD	JERM	KDD	KDH	KGP
No. of sequence	18	17	7	9	32
No. of polymorphic sites	14	12	11	10	28
No. of haplotypes (H)	7	6	4	4	16
No. of transitions	12	10	9	8	24
No. of transversions	3	2	2	3	4
No. of indels	0	0	0	0	0
Hplotype diversity (Hd)	0.6340	0.5882	0.7143	0.6944	0.8649
Nucleotide diversity (Pi)	0.00820	0.00799	0.00903	0.00852	0.00862

Table 4. Pairwise  $F_{ST}$  (above diagonal) and genetic distances (below diagonal) between 5 sample sites of *A. japonicus* based on mtDNA Cyt *b* gene sequence

	JHKD	JERM	KDD	KDH	KGP
JHKD	0.0000	-0.0459	0.1671*	0.1979*	0.2802*
JERM	0.0080	0.0000	0.1983*	0.2230*	0.3047*
KDD	0.0100	0.0110	0.0000	-0.0392	-0.0096
KDH	0.0110	0.0110	0.0090	0.0000	0.0648
KGP	0.0120	0.0120	0.0090	0.0090	0.0000

Symbol "\*" indicates significant support for  $F_{ST}$  values ( $p < 0.05$ ).

동해: 56%, 감포: 31%), Hap08, 10~13과 Hap16~27은 우리나라 동해안 3지역에서만 관찰되었다(Table 2).

각 지역별 haplotype 다양성(haplotype diversity, Hd)은 감포에서 가장 높고(0.8649), 에리모에서 가장 낮은(0.5882) 값을 나타내었다. 염기 다양도(nucleotide diversity, Pi)는 독도에서 가장 높고(0.00903), 에리모에서 가장 낮은(0.00799) 값을 나타냈으며, 한국의 동해안 3지역이 일본의 2지역 보다 상대적으로 높은 값을 나타내었다(Table 3).

집단 간 유연관계를 관찰하기 위한 염기서열 기반의 유전적 거리에서 북해도와 에리모가 0.0080으로 가장 낮은 값을 나타내었고, 북해도와 감포, 에리모와 감포가 각각 0.0120으로 가장 높은 값을 나타내었다. 그리고 한국의 동해안 3지역과 일본의 2지역 간에는 0.0100~0.0120의 값을 나타내었고, 한국의 동해안 3지역 간에는 0.0090의 값을 나타내어, 유전적 거리 값을 통해 한국 집단과 일본 집단으로 나뉘어 지는 것을 관찰할 수 있었다(Table 4).

집단 간 유전적 차이 정도를 나타내는 pairwise  $F_{ST}$  값을 추정할 결과 북해도와 에리모 지역에서 가장 낮은 값(-0.0459)이 관찰되었고, 에리모와 감포 지역 간에 가장 높은 값(0.3047)이 관찰되었다(Table 4). 한국과 일본 집단 간의  $F_{ST}$  값은 0.1671에서 0.3047로 나타나 상대적으로 일본 집단 간의 값(-0.0459)과 한국 집단 간의 값(-0.0392~0.0648)보다 높고, 유의한 차이가 있는 것으로 나타나( $p < 0.05$ ), 유전적 거리에서의 결과와 동일하게 한국 집단과 일본 집단으로 분리되는 결과를 보여주었다.

전 지역 간과 한국과 일본 집단 간의 유전적 차이를 관찰하기 위해 AMOVA test를 실시한 결과, 전 지역 간의 변이도는 전체 유전변이의 19.07%, 각 지역 집단 내 개체간 변이도는 80.93%로 관찰되었다( $F_{ST}=0.1907, p=0.0000$ ). 전 지역을 일본(북해도와 에리모)과 한국(독도, 동해, 감포)으로 분리하여 분석한 결과, 2개 그룹 간의 변이도는 전체 유전변이의 26.6%, 각 그룹 내 지역 집단 간 변이도는 -0.12%, 각 지역 집단 내 개체간 변이도는 73.52%로 관찰되었다( $F_{ST}=0.2648, p=0.0000$ ) (Table 5).

**Microsatellite DNA 분석**

도루묵 5집단을 대상으로 5개의 msDNA 마커(Table 6)를 이용하여 유전자형을 분석하였다. 전체적으로 높은 다양성을 보였으나 집단 별 각 유전자좌에서의 유전적 다양성 정도는 다르게 나타났다(Table 7). 전체 대립유전자수( $N_A$ )는 2-23개였으며 평균 10.1개로 관찰되었고, 평균  $N_A$  값은 감포에서 12.6개로 가장 높은 값을, 독도에서 6개로 가장 낮은 값을 나타내었다. 집단의 크기를 보정한 유전자좌당 대립유전자수( $A_R$ )는

Table 5. AMOVA of Cyt *b* diversity in 5 sample sites of *A. japonicus*

Analysis	Source of variation	d.f.	$F_{ST}$	Percentage of variation
All sites (No grouping)	Among sites	4	0.1907 ( $p=0.0000$ )	19.07
	Within sites	78		80.93
Regional grouping (Korea vs. Japan)	Among groups	1	0.2648 ( $p=0.0000$ )	26.6
	Among sites within groups	3		-0.12
	Within sites	78		73.52

Significant was tested by nonparametric permutation tests (10,100 permutations).

Table 6. Primer sequences and information about microsatellite markers from *A. japonicus*

Locus	Forward (5'-3')	Reverse (5'-3')	Size (bp)	Tm
DR55	6-FAM-CGTCTGCCCTTCGTGA	CACAAACATTTCCCAACT	204-262	58
DR72	HEX-GGATTTGCTTGGGTTTATT	CAGAAGCACTTCCGTCTTAT	100-160	58
DR118	NED-CCTGTTGAAGCCTGGTG	CGTCATCATCCTGAATCATT	170-214	58
DR148	6-FAM-AACTTAATTGCCTTCACAAA	CCGACCTAACCACCAT	198-212	58
DR225	NED-ACAAGCGGTGTTCCCTCATAC	CGCTTCTGTCTTCAAAAAG	170-218	58

Table 7. Genetic variability at 5 microsatellite markers in 5 populations of *A. japonicus*

Populations ( <i>n</i> )	Microsatellite markers					Mean
	DR55	DR72	DR118	DR148	DR225	
Hokkaido, Japan (22)						
N <sub>A</sub>	14	18	14	4	9	11.8
A <sub>R</sub>	8.2	9.4	8.1	2.2	5.7	6.7
H <sub>E</sub>	0.9222	0.9546	0.9232	0.2006	0.8142	0.7630
H <sub>O</sub>	0.8333	0.5909	0.7368	0.2105	0.8095	0.6362
<i>p</i>	0.3359	0.0000	0.0602	1.0000	0.3739	0.354
F <sub>IS</sub>	0.0989 (0.3745)	0.3865 (0.0000)	0.2063 (0.0583)	-0.0511 (1.0000)	0.0058 (0.3582)	0.0058
Erimo, Japan (22)						
N <sub>A</sub>	19	15	16	4	7	12.2
A <sub>R</sub>	8.9	9	8.3	2.3	5.8	6.9
H <sub>E</sub>	0.9397	0.9474	0.9257	0.2242	0.8455	0.7765
H <sub>O</sub>	0.9000	0.6842	1.0000	0.1429	0.8095	0.7073
<i>p</i>	0.2526	0.0000	0.4552	0.0035	0.3277	0.2078
F <sub>IS</sub>	0.0434 (0.1332)	0.2833 (0.0000)	-0.0825 (0.4776)	0.3684 (1.0000)	0.0436 (0.3264)	0.0436
Dokdo Island, Korea (8)						
N <sub>A</sub>	8	8	8	4	2	6.0
A <sub>R</sub>	7.3	6.9	8.0	3.9	2.0	5.6
H <sub>E</sub>	0.8901	0.8500	0.9091	0.6000	0.3626	0.7224
H <sub>O</sub>	0.8571	0.5000	0.8333	0.5000	0.4286	0.6238
<i>p</i>	0.7618	0.0089	0.6486	0.3339	1.0000	0.5506
F <sub>IS</sub>	0.0400 (0.7979)	0.4286 (0.0098)	0.0909 (0.6255)	0.1765 (0.3341)	-0.2000 (1.0000)	0.1072
Donghae, Korea (10)						
N <sub>A</sub>	9	13	11	3	3	7.8
A <sub>R</sub>	7.3	9.4	9.1	2.6	2.2	6.12
H <sub>E</sub>	0.8954	0.9579	0.9500	0.4158	0.1947	0.6828
H <sub>O</sub>	0.8889	0.6000	0.7500	0.3000	0.2000	0.5478
H <sub>O</sub>	0.8826	0.0016	0.0750	0.4717	1.0000	0.4862
<i>p</i>	0.0078	0.3864	0.2222	0.2895	-0.0286	0.1755
F <sub>IS</sub>	0.0078 (0.8818)	0.3864 (0.0000)	0.2222 (0.0600)	0.2895 (0.4794)	-0.0286 (1.0000)	0.1755
Gampo, Korea (34)						
N <sub>A</sub>	16	23	18	3	3	12.6
A <sub>R</sub>	8.0	9.2	8.3	2.1	3.0	6.1
H <sub>E</sub>	0.9138	0.9473	0.9231	0.2177	0.4107	0.6825
H <sub>O</sub>	0.9032	0.6765	0.8485	0.2353	0.3030	0.5933
<i>p</i>	0.6660	0.0000	0.4555	1.0000	0.2317	0.4706
F <sub>IS</sub>	0.0309 (0.6702)	0.2890 (0.0000)	0.0820 (0.6264)	-0.0820 (1.0000)	0.2652 (0.2033)	0.1170

N<sub>A</sub>=number of alleles per locus; A<sub>R</sub>=allelic richness; H<sub>E</sub>=expected heterozygosity; H<sub>O</sub>=observed heterozygosity; F<sub>IS</sub>=inbreeding coefficient.

\*Not in conformity with Hardy-Weinberg equilibrium ( $p < 0.005$ , Bonferroni-corrected value).

Table 8. Pairwise  $F_{ST}$  (above diagonal) and genetic distances (below diagonal) between 5 sample sites of *A. japonicus* based on msDNA markers

	JHKD	JERM	KDD	KDH	KGP
JHKD	0.0000	0.0031	0.0605*	0.0422*	0.0312*
JERM	0.1017	0.0000	0.0596*	0.054*	0.0423*
KDD	0.3681	0.3616	0.0000	0.0092	0.0069
KDH	0.2374	0.2757	0.1879	0.0000	-0.001
KGP	0.1383	0.1725	0.1253	0.0808	0.0000

Symbol “\*” indicates significant support for  $F_{ST}$  values ( $p < 0.05$ ).

2.1-9.4개로 관찰되었으며, 평균  $A_R$ 값은 에리모에서 6.9개로 가장 높은 값을, 독도에서 5.6개로 가장 낮은 값을 나타내었다.

각 집단 별 평균 관찰치 이형접합률( $H_O$ )과 기대치 이형접합률( $H_E$ )은 각각 0.5478~0.7073과 0.6825~0.7765로 관찰되었으며, 전체 평균  $H_O$ 와  $H_E$ 는 각각 0.6217과 0.7254로 나타났다. Hardy-Weinberg 평형의 이탈은 DR72에서는 독도를 제외한 모든 집단에서 그리고 DR148에서는 에리모 집단에서 관찰되었다( $p < 0.01$ , Bonferroni correction). 근친교배계수( $F_{IS}$ )는 -0.2000에서 0.4286으로 나타났으며, 전체 평균 0.0898의 낮은 수치를 보였다.

Table 8은 집단 간 유전적 차이 정도를 나타내는 pairwise  $F_{ST}$ 값과 유전적 거리를 측정된 결과이다. Pairwise  $F_{ST}$ 값은 -0.0010에서 0.0605로 나타났으며, 한국의 3지역과 일본의 2지역 집단들 사이에서는 유의한 차이를 보였다( $p < 0.05$ ). 모든 집단의 유전적 거리는 0.0808에서 0.3681로 관찰되었다. 한국의

3지역과 일본의 2지역간에는 평균 0.2589(0.1383~0.3681)의 차이를 나타내어, 일본 집단 간의 평균 값 0.1017과 한국 집단 간의 평균 값 0.1313(0.0808~0.1879) 보다 큰 유전적 거리 차이를 나타내었다.

도루묵 집단 간 Nei의 유전적 거리에 기반한 UPGMA 군집 분석 결과는 전체적으로 북해도(JHKD)와 에리모(JERM) 집단이 하나의 그룹을 형성하며, 동해(KDH), 감포(KGP) 및 독도(KDD) 집단이 다른 그룹을 형성하여 분리되는 양상을 나타내었다(Fig. 1). 주성분 분석에서는 상위 3개의 주성분이 전체 변이의 95.13%(제1주성분=61.65%, 제2주성분=21.75%, 제3주성분=11.74%)를 차지하였으며, 제1주성분과 제2주성분에 의한 분포도는 UPGMA에서의 결과와 동일하였다(Fig. 2). 북해도(JHKD)와 에리모(JERM) 집단이 가깝게 분포하였고, 동해(KDH)와 감포(KGP) 집단이 가깝게 분포하였으며, 독도(KDD) 집단은 상대적으로 동해(KDH)와 감포(KGP) 집단과 가깝게 분포하였다.

유전적 거리, pairwise  $F_{ST}$ 값, UPGMA와 주성분분석의 결과와 지리적 분포에 근거하여, 1) 5개의 도루묵 집단을 하나의 그룹으로, 2) 한국과 일본 집단을 분리하여 2개의 그룹으로 가정하여, 집단 간의 유전적 차이를 보기 위한 AMOVA test를 실시하였다. 그 결과, 전체 도루묵 집단을 하나의 그룹으로 가정하였을 때 변이도는 전체 유전변이의 5.83%, 각 지역 집단 내 개체간 변이도는 94.17%로 나타났다( $F_{ST}=0.0583$ ,  $p=0.0000$ ). 한국(독도, 동해, 감포)과 일본(북해도와 에리모)의 2 그룹으로 나누어 분석한 결과는 그룹 간의 변이도는 전체 유전변이의

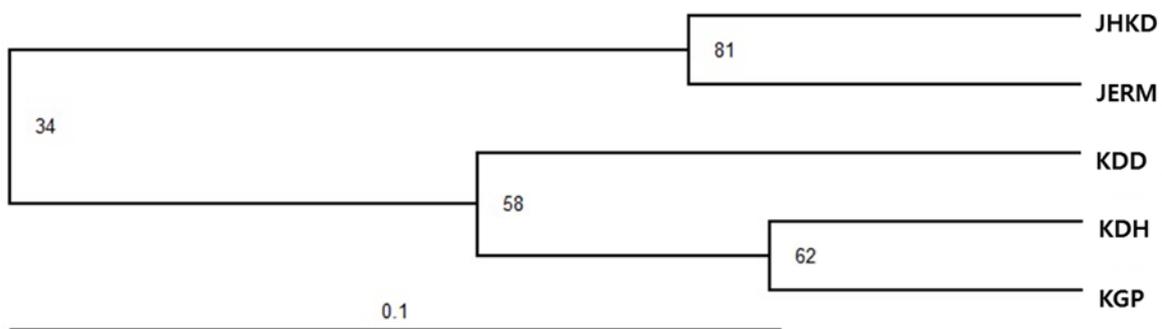


Fig. 1. Dendrogram based on Nei's genetic distance by UPGMA method for 5 populations of *A. japonicas*.

Table 9. AMOVA for 5 sample sites of *A. japonicus*, based on msDNA markers

Analysis	Source of variation	d.f.	$F_{ST}$	Percentage of variation
All sites (No grouping)	Among sites	4	0.0583 ( $p=0.0000$ )	5.83
	Within sites	187		94.17
Regional grouping (Korea vs. Japan)	Among groups	1	0.0814 ( $p=0.0000$ )	7.22
	Among sites within groups	3		0.92
	Within sites	187		91.86

Significant was tested by nonparametric permutation tests (10,100 permutations).

Table 10. Proportion of each population of *A. japonicus* assigned to each cluster ( $K=2$ ) inferred from STRUCTURE program

Population	Inferred clusters		Number of individuals
	1 (Red)	2 (Green)	
JHKD	0.626	0.374	22
JERM	0.628	0.372	22
KDD	0.385	0.615	8
KDH	0.442	0.558	10
KGP	0.448	0.552	34

The highest values for each population is in bold.

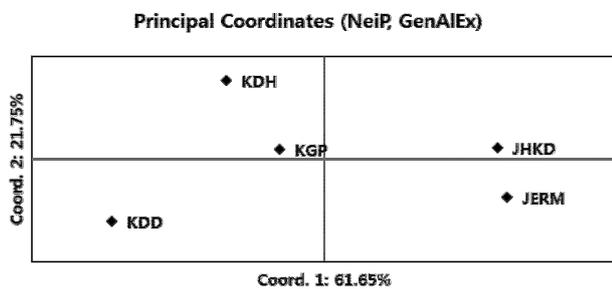


Fig. 2. Biplot of principal coordinates analysis based on the Nei's genetic distance for 5 populations of *A. japonicus*.

7.22%, 각 그룹 내 지역 집단 간 변이도는 0.92%, 각 지역 집단 내 개체간 변이도는 91.86%로 나타났다( $F_{ST}=0.0814, p=0.0000$ ) (Table 9).

도루묵 집단의 유전형상과 군집구조 분석을 위해 베이스 군집구조 추론을 실시한 결과,  $\Delta K$  값이 2일 때 최대값을 보여 최적군집수( $K=2$ )에 따라 2개의 군집으로 가정하여 분석하였다(Fig. 3, Table 10). 분석된 5개 집단을 최적군집수에 따라 2개의 군집으로 가정하고, 각 집단이 군집에 할당될 사후확률을 기준으로 판정할 때, 크게 두 개의 그룹으로 분리되었는데, 북해도와 에리모 집단이 하나의 군집에 할당되었고, 독도, 동해, 감포 집단이 다른 하나의 군집에 할당되었다. 또한,  $K=2$ 일 때, 유전적 균일도는 군집 1에서 북해도 집단이 62.6%, 에리모 집단이 62.8%, 군집 2에서 독도 집단이 61.5%, 동해 집단이

55.8% 그리고 감포 집단이 55.2%를 나타냈다(Table 10). 따라서, STRUCTURE 분석 결과에서도 한국과 일본 집단으로 분리되는 경향을 나타낸다는 것을 관찰할 수 있었다.

### 고찰

본 연구에서는 우리나라 동해의 도루묵 집단의 유전학적 특성과 유연 관계를 파악하고자 한국 동해안의 독도, 동해, 감포 지역과 일본의 북해도와 에리모 지역 도루묵 집단을 대상으로 mtDNA (Cyt *b*)와 msDNA 분석을 수행하였다.

한국과 일본 집단의 Cyt *b* 염기서열 분석 결과 전체 27개의 haplotype이 나타났으며, 이들 중 Hap01과 Hap09가 전체 집단에서 가장 높은 빈도로 관찰되었다. 한국과 일본 도루묵 집단에서 동일한 haplotype을 공유하는 것은 Hap01에서 독도와 감포 지역의 각각 1개체를 제외하고는 관찰되지 않았다 (Table 2). Haplotype 중에서 Hap01은 일본의 북해도 지역(62.9%)에서, Hap09는 한국의 동해안 지역(39.6%)에서 높은 빈도로 나타나 이들 두 haplotype이 한국 동해안과 일본 북해도 지역의 집단 차이를 나타내는 major haplotype임을 시사하였다. 특히, Hap09는 한국의 동해안 지역에서만 관찰되어, 한국 동해안과 일본 북해도 지역 도루묵 집단을 구분하는데 유용한 분자 마커로 활용 될 가능성이 있을 것으로 예상된다(Table 2).

Haplotype 다양성에서는 각 지역별 집단 모두에서 높은 값( $H_d > 0.5, 0.5882 \sim 0.8649$ )을 나타내었으나, 염기다양도에서는 낮은 값( $P_i < 1.0\%, 0.00799 \sim 0.00903$ )을 나타내어 한국 동해안과 일본의 도루묵 집단은 분화가 비교적 최근에 이루어졌음을 시사하였다. 집단의 분화가 최근에 발생했음을 나타내는 유전현상은 일반적으로 haplotype 다양성은 높고, 염기다양도가 낮게 나타나는 경우이기 때문이다[2, 14]. 또한, 한국 동해안 집단이 일본 집단 보다 비교적 높은 유전다양성을 유지하는 것으로 나타나 우리나라 동해안의 도루묵 자원의 유전다양성이 비교적 잘 유지되고 있음을 나타내었다.

도루묵 집단 간 유연관계를 확인하기 위한 Dxy 유전적 거리와 pairwise  $F_{ST}$  값 및 AMOVA 분석 결과에서도 한국 동해안과 일본 북해도 집단이 명확한 유전적 차이를 나타냄을 확

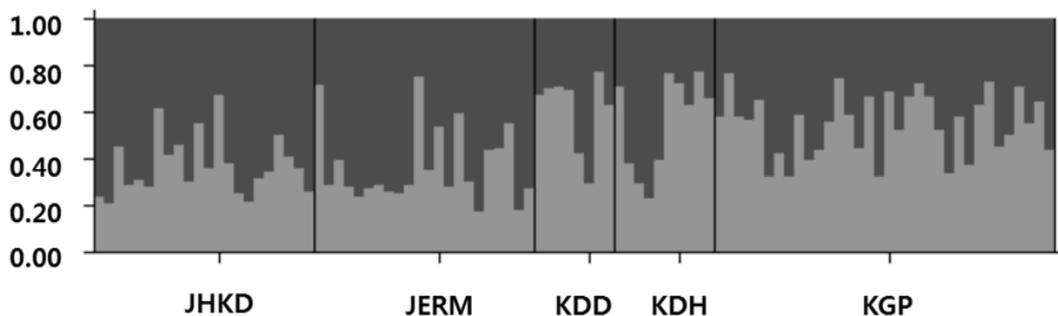


Fig. 3. Population structure inferred by Bayesian clustering method using the STRUCTURE program. The different colors represent two different clusters ( $K=2$ ). Vertical lines separate the 5 populations of *A. japonicus*.

인할 수 있었다. 유전적 거리는 개체나 집단 간에 나타나는 염기서열의 유사성에 근거하며 유전적 거리가 낮을수록 그 유연관계는 높음을 나타내는데, 비록 그 값의 차이가 크지는 않았지만 한국 동해안과 일본 북해도 집단으로 분리되어 각각 서식지의 분포에 따라 유전적 유연관계가 높은 것으로 확인되었다(Table 4). Pairwise  $F_{ST}$  값의 경우에도 한국 동해안과 일본 북해도 집단 간에 유의한 차이( $p < 0.05$ )를 나타내어 한국과 일본 도루묵 집단 사이에 유의한 유전적 차이가 있음을 보여주었다 (Table 4). 또한, AMOVA test 분석에서도 한국 동해안과 일본 북해도의 서식지 분포에 따라 2 그룹으로 나누어 분석하였을 때의 변이도 값(26.6%)이 서식지 분포를 구분하지 않고 분석한 값(19.07%)보다 더 크게 나타나, 한국 동해안과 일본 북해도 집단이 서식지 분포에 따라 뚜렷한

유전적 차이를 반영 함을 확인할 수 있었다(Table 5). 우리나라와 같이 도루묵에 대한 이용도가 많은 일본의 Shirai 등 [35]의 연구에서도 mtDNA의 control region의 염기서열 분석을 통한 도루묵 집단의 AMOVA test 분석 연구에서 우리나라 동해안과 일본 연안의 서해의 도루묵 집단이 유전적 차이를 나타내며 독립적인 경향을 보임을 밝혀, 본 연구 결과와 동일한 결과를 보고한 바 있다.

msDNA 분석에서 도루묵 집단의 유전적 다양성은  $H_E$ 에서 0.73으로 나타나, 해산 어류 평균인 0.79에 비해 약간 낮은 수치를 나타내었으나[6], 평균  $F_{IS}$ 는 0.0898로 낮은 수치로 나타나 비교적 유전 다양성을 잘 유지하고 있는 것으로 조사되었다.

msDNA를 이용한 도루묵 집단의 pairwise  $F_{ST}$  값과 AMOVA test 분석에서도 우리나라 도루묵 3 집단과 일본 도루묵 2 집단은 유의한 유의적 차이를 나타내었다( $p < 0.05$ ). 특히, AMOVA test 분석에서는 도루묵 전 집단을 하나의 그룹으로 하여 분석하였을 때와 우리나라와 일본으로 나누어 2개의 그룹으로 분리하여 분석하였을 때, 유전변이 값이 5.83%에서 7.22%로 증가하여 우리나라와 일본의 도루묵 집단 간 뚜렷한 유전적 차이를 나타냈으며( $p = 0.0000$ ), 이는 mtDNA를 이용한 AMOVA test 분석 결과와도 일치하는 경향을 보이며, 일본의 Shirai 등 [35]의 연구결과와도 유사한 결과를 나타내었다.

또한, 도루묵 집단 간의 UPGMA 계통도와 주성분 분석에서도 우리나라 동해안(독도, 동해, 감포) 집단과 일본(북해도, 에리모) 집단으로 분리되는 양상을 나타내었다. STRUCTURE 분석 결과에서도 우리나라 동해안(독도, 동해, 감포) 집단은 cluster 2에서, 일본 집단(북해도, 에리모)은 cluster 1에서 각각 높은 수치를 나타내어 우리나라 동해안과 일본으로 각각의 cluster를 형성하면서 구조화 되는 경향을 보여주었다. 이러한 결과는 유전적 거리에 기초한 UPGMA 계통수와 주성분 분석 결과와도 일치하였다. 따라서, 집단 간 빈번한 유전자 교류가 이루어지지만, 도루묵 집단들이 상대적으로 우리나라 동해안 지역과 일본 지역으로 구조화 되고 있는 현상이 나타나는 것으로 추정된다.

본 연구는 mtDNA와 msDNA 마커를 이용한 분석결과를 토대로 도루묵 집단에 대한 유전적 다양성 및 집단 간 유연관계를 확인하고자 하였다. 본 연구의 결과, mtDNA와 msDNA 마커의 분석 모두에서 우리나라 동해안 도루묵 집단이 일본 도루묵 집단에 비해 비교적 유전적 다양성이 잘 유지되고 있음이 확인되었으며, 우리나라 동해안 집단과 일본 집단이 AMOVA test 및 계통유전학적 분석에서 유의한 유전적 차이가 있음을 보여주었다. 비록 분석에 사용된 도루묵 집단의 개체수가 적고, 일본 집단의 지역적 한계가 있었으나, 본 연구의 결과는 우리나라 동해안의 유용한 수산자원으로서 도루묵의 보존 및 유전적 특성을 규명하기 위한 구체적인 과학적 근거 자료로 사용 가능할 것이며, 나고야의정서에 대응하기 위한 우리나라 생물자원 주권 확보를 위한 기초자료로도 활용 가능할 것이라 생각된다. 앞으로 더욱 명확한 도루묵 집단의 유전적 유연관계 파악을 위해 여러 지역의 도루묵 시료의 채집과 충분한 시료 확보가 필요하며, 유전적 분석이 추가되어야 할 것으로 사료된다.

## 감사의 글

이 논문은 2015년도 국립수산물과학원 수산과학연구사업의 지원으로 수행된 연구이며 연구비 지원에 감사드립니다.

## References

1. An, H. C., Lee, K. H., Lee, S. I., Park, H. H., Bae, B. S., Yang, J. H. and Kim, J. B. 2011. Behaviour habitats of sailfin sandfish, *Arctoscopus japonicus* approaching toward the eastern coastal waters of Korea in the spawning season. *Jour. Fish. Mar. Sci. Edu.* **23**, 35-42.
2. Avise, J. C. 1994. Molecular markers, Natural History and Evolution. Chapman and Hall, New York.
3. Beacham, T. D., Lapointe, M., Candy, J. R., Miller, K. M. and Withler, R. E. 2004. DNA in action: rapid application of DNA variation to sockeye salmon fisheries management. *Conserv. Gen.* **5**, 411-416.
4. Brown, W. M., George, M. Jr. and Wilson, A. C. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **76**, 1967-1971.
5. Carr, S. M. and Marshall, H. D. 1991. Detection of intraspecific DNA sequence variation in the mitochondrial cytochrome *b* gene of Atlantic cod (*Gadus morhua*) by the polymerase chain reaction. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **48**, 48-52.
6. DeWoody, J. A. and Avise, J. C. 2000. Microsatellite variation in marine, freshwater and anadromous fishes compared with other animals. *J. Fish. Biol.* **56**, 461-473.
7. Evanno, G., Reguaut, S. and Goudet, J. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Mol. Ecol.* **14**, 2611-2620.
8. Excoffier, L., Laval, G. and Schneider, S. 2005. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics

- data analysis. *Evol. Bioinform.* **1**, 47-50.
9. Excoffier, L., Smouse, P. E. and Quattro, J. M. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics* **131**, 479-491.
  10. Goudet, J. 1995. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* **86**, 485-486.
  11. Hillis, D. M., Mabel, B. K. and Moritz, C. 1996. Application of molecular systematic: the state of the field and a look to the future, pp. 515-543. In: *Molecular Systematics*, 2<sup>nd</sup> edn. (eds. Hillis, D., Moritz, C., Mable, B. K.), Sinauer Associates, Massachusetts.
  12. Jarne, P. and Lagoda, P. J. G. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *Trends. Ecol. Evol.* **11**, 424-429.
  13. Kim, I. S., Choi, Y., Lee, C. Y., Lee, Y. J., Kim, B. J. and Kim, J. H. 2005. Illustrated book of Korean fishes. pp. 1-615. Kyohak Press, Seoul.
  14. Kim, J. Y., Yoon, M. G., Moon, C. H., Kang, C. K., Choi, K. H. and Lee, C. I. 2013. Morphological and genetic stock identification of *Todarodes pacificus* in Korean waters. *J. Kor. Soc. Oceanogr.* **18**, 131-141.
  15. Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J. Mol. Evol.* **16**, 111-120.
  16. Kobayashi, T. and Kaga, Y. 1981. Population of sandfish, *Arctoscopus japonicus* (Steindachner), in the seas around Hokkaido estimated from the variations of meristic characters (in Japanese). *Bull. Hokkaido. Reg. Fish. Res. Lab.* **46**, 69-83.
  17. Langella, O. 2002. POPULATIONS 1.2.29. Population genetic software (individuals or populations distances, phylogenetic trees), <http://bioinformatics.org/~tryphon/populations>.
  18. Lansman, R. A., Shade, R. O., Shapira, J. F. and Avise, J. C. 1981. The use of restriction endonucleases to measure mitochondrial DNA sequence relatedness in natural populations. III. Techniques and potential applications. *J. Mol. Evol.* **17**, 214-226.
  19. Lee, S. I., Yang, J. H., Yoon, S. C., Chun, Y. Y., Kim, J. B., Cha, H. K. and Choi, Y. M. 2009. Biomass estimation of sailfin sandfish, *Arctoscopus japonicus*, in Korean waters. *Kor. J. Fish. Aquat. Sci.* **42**, 487-493.
  20. Liu, Z. 2011. Genomic variations and marker technologies for genome-based selection. In: Liu, Z. (ed.), *Next Generation Sequencing and Whole Genome Selection in Aquaculture*. WileyBlackwell, Oxford, U.K.
  21. Liu, Z. J. and Cordes, J. F. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* **238**, 1-37.
  22. Nei, M. 1972. Genetic distance between populations. *Am. Nat.* **106**, 283-292.
  23. NFRDI (National Fisheries Research and Development Institute). 2004. Commercial fishes of the coastal and offshore waters in Korea. pp. 1-333. 2nd ed Hangul Press, Busan.
  24. Ochiai, A. and Tanaka, M. 1986. *Ichthyology*, vol 2, new edn (in Japanese). Koseisha-Koseikaku, Tokyo.
  25. Okiyama, M. 1970. Studies on the population biology of the sandfish, *Arctoscopus japonicus* (Steindachner). II. Population analysis (preliminary report) (in Japanese). *Bull. Jpn. Sea. Reg. Fish. Res. Lab.* **22**, 59-69.
  26. Okiyama, M. 1990. Contrast in reproductive style between two species of sandfishes (family Trichodontidae). *Fish. Bull.* **88**, 543-549.
  27. Park, C. J., Nam, W. S., Lee, J. H., Noh, J. K., Kim, H. C., Park, J. W., Hwang, I. J. and Kim, S. Y. 2013. Analysis of genetic divergence according to each mitochondrial DNA region of *Haliotis discus hannai*. *Kor. J. Malacol.* **29**, 335-341.
  28. Park, J. Y., Lee, H. J., Kim, W. J., Lee, J. H. and Min, K. S. 2000. Mitochondrial cytochrome b sequence variation in Korean salmonids. *J. Fish. Biol.* **56**, 1145-1154.
  29. Park, J. Y., Lee, S. J., Lee, H. W., Lee, Y. G., Jung, S. J. and Kang, Y. J. 2006. Polymerase chain reaction primers for polymorphic microsatellite loci from the Korean sandfish, *Arctoscopus japonicus*. *Mol. Ecol. Notes* **6**, 674-676.
  30. Peakall, R. and Smouse, P. E. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol. Ecol. Notes* **6**, 288-295.
  31. Perez-Enriquez, R., Takagi, M. and Taniguchi, N. 1999. Genetic variability and pedigree tracing of a hatchery-reared stock of red sea bream (*Pagrus major*) used for stock enhancement, based on microsatellite DNA markers. *Aquaculture* **173**, 413-423.
  32. Pritchard, J. K., Stephens, M. and Donnelly, P. 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155**, 945-959.
  33. Rousset, F. 2008. GENEPOP'007: a complete re-implementation of the GENEPOP software for Windows and Linux. *Mol. Ecol. Resour.* **8**, 103-106.
  34. Sekino, M., Saitoh, K., Yamada, T., Kumagai, A., Hara, M. and Yamashita, Y. 2003. Microsatellite-based pedigree tracing in a Japanese flounder *Paralichthys oliaceus* hatchery strain: implications for hatchery management related to stock enhancement program. *Aquaculture* **221**, 255-263.
  35. Shirai, S. M., Kuranaga, R., Sugiyama, H. and Higuchi, M. 2006. Population structure of the sailfin sandfish, *Arctoscopus japonicus* (Trichodontidae), in the Sea of Japan. *Ichthyol. Res.* **53**, 357-368.
  36. Sneath, P. H. A. and Sokal, R. R. 1973. *Numerical taxonomy: The principles and practice of numerical classification*. W. H. Freeman, San Francisco.
  37. Tamura, K. and Nei, M. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* **10**, 512-526.
  38. Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. and Kumar, S. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol. Biol. Evol.* **28**, 2731-2739.
  39. Tautz, D. 1989. Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers. *Nucl. Acids. Res.* **17**, 6463-6471.

40. Ward, R. D., Zemlak, T. S., Innes, B. H., Last, R. R. and Hebert, P. D. H. 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philos. Trans. R. Soc. Biol. Sci.* **360**, 1847-1857.
41. Weir, B. S. and Cockerham, C. C. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38**, 1358-1370.
42. Yang, J. H., Lee, S. I., Park, K. Y., Yoon, S. C., Kim, J. B., Chun, Y. Y., Kim, S. W. and Lee, J. B. 2012. Migration and distribution changes of the Sandfish, *Arctoscopus japonicus* in the East Sea. *J. Kor. Soc. Fish. Tech.* **48**, 401-411.
43. Zardoya, R. and Doadri, I. 1999. Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids. *J. Mol. Evol.* **49**, 227-237.

### 초록 : Mitochondrial DNA와 microsatellite marker 분석을 통한 한국과 일본에 서식하는 5 지역의 도루묵(*Arctoscopus japonicus*)에 대한 유전학적 유연관계 분석

김은미<sup>1</sup> · 강현숙<sup>1</sup> · 김정하<sup>1</sup> · 김동균<sup>1</sup> · 안철민<sup>1</sup> · 이해원<sup>2</sup> · 박중연<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>국립수산과학원 생명공학과, <sup>2</sup>국립수산과학원 대외협력과)

도루묵은 우리나라 동해에서 어획되는 상업적으로 중요한 수산자원으로 동해안의 자원회복관리 대상어종이며, 자원량의 회복 및 보전과 관리가 필요한 어종이다. 하지만 우리나라 도루묵 자원의 관리를 위한 유전학적 분석에 따른 연구는 매우 미비한 실정이다. 따라서 본 연구는 mitochondrial DNA의 Cytochrome *b* (Cyt *b*) 유전자 서열과 5개의 microsatellite marker의 유전자형을 토대로 우리나라 동해안 도루묵과 일본 도루묵의 유전적 다양성과 집단 구조를 분석하여 유전학적 유연관계를 파악하고, 도루묵 자원의 보전과 관리를 위한 과학적 자료를 제공하기 위해 실시하였다. 한국 3개 지역(독도, 동해, 감포)과 일본의 2개 지역(북해도와 에리모)에서 채집된 총 83개 개체의 mtDNA Cyt *b* 영역을 분석하여 27개의 haplotype을 확인하였다. 유전적 다양성은 에리모에서 가장 높고 감포에서 가장 낮았다. Pairwise  $F_{ST}$ 값과 유전적 거리, UPGMA와 주성분분석, AMOVA test 및 structure 분석 결과, 한국의 동해안 도루묵 집단 간 유전적 차이는 거의 없었으나 일본 도루묵 집단과는 유의적인 차이가 나타났으며( $p < 0.05$ ), 한국의 동해안 집단과 일본의 집단으로 그룹을 형성하며 구분되는 유연관계를 확인하였다. 본 연구에서 확인된 도루묵의 유전적 특성 및 집단 간 유연관계는 중요한 수산유전자원으로서의 도루묵에 대한 중요한 과학적인 근거자료가 될 것이며, 앞으로 도루묵의 보존, 평가 및 이용에 활용 가능한 정보를 제공할 것이라 사료된다.