

한국 연근해에 출현하는 깨다시꽃게 개체군의 유전학적 분석

이현규 · 명세훈 · 이정훈 · 최윤희^{1*}

국립수산과학원 수산자원연구센터 연구원, 국립수산과학원 수산자원연구센터 연구사, 국립수산과학원 수산자원연구센터 연구관, ¹부경대학교 수산생명과학부 교수

Population genetics of sand crab *Ovalipes punctatus* in Korean waters

Hyeon Gyu LEE, Se Hun MYOUNG, Jeong-Hoon LEE and Youn Hee CHOI^{1*}

Researcher, Fisheries Resources Research Center, National Institute of Fisheries Science, Tongyeong 56034, Korea

¹Professor, Division of Fisheries Life Sciences, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

To identify sand crab *Ovalipes punctatus* populations and establish management units for each population, mtDNA COI regions were analyzed. As a result, the clade of *O. punctatus* in Korea were separated by two with a genetic distance of 0.17–2.08%, and there was no significant difference in the result of pairwise F_{ST} values representing genetic differentiation by sampling areas ($p > 0.05$). Also, no geographical separation found in the distribution of haplotypes and the results of the haplotype network. This result suggests that *O. punctatus* larvae were dispersed for a long time by the ocean current by suffering meroplanktonic period for 1 month, and increased the gene flow due to the development of the swimming legs for the increase in mobility. Therefore, in the results of mtDNA COI region analysis of *O. punctatus* in the East Sea, Yellow Sea, South Sea and East China Sea (Jeodo) of Korea, no clear intra-species differentiation was found.

Keywords: Sand crab, Population, mtDNA, Genetic differentiation, Haplotype

서론

해양생물은 동일 종끼리 개체군을 형성할지라도 다양한 외부 요인에 의해 형태와 유전적 차이가 나타나기 때문에 이를 연구하기 위해 계측형질 분석, 표지방류법, 유전학적 분석 등을 주로 사용한다(Yeon et al., 2008). 유전학적 분석은 종의 유전자 흐름(gene flow)을 간접적으로 추정할 수 있는 분석 방법 중 하나이며(Hamm and Burton, 2000), 특히, 장기간의 부유유생기를 통해 넓게 분산하는 생활사 특성을 가지고 있는 계류의 경우 유전

학적 분석을 통해 이들의 개체군 구조를 쉽게 파악할 수 있다(McMillen-Jackson and Bert, 2004).

장기간의 부유유생기는 종의 유전자 흐름에 영향을 주기 때문에 개체군 연결성(population connectivity)이 강해져 유전적 고립을 방지한다(Puebla et al., 2008). 반면, 성체는 번식을 통해 유전자 풀(gene pool)을 공유하고 일정한 유전자 조성을 나타내는 계군을 형성한다(Zhang, 2010). 이처럼 상호작용이 각 종마다 다르기 때문에 지역집단 간의 유전자 풀을 비교 분석하여 종의

Received 30 June 2023; Revised 9 August 2023; Accepted 28 August 2023

*Corresponding author: unichoi@pknu.ac.kr, Tel: +82-51-629-5915, Fax: +82-51-629-5908

Copyright © 2023 The Korean Society of Fisheries and Ocean Technology

계군을 파악하는 것은 종에 대한 적절한 자원관리 방안을 마련할 수 있는 기초자료가 된다(Begg et al., 1999).

현재 해양생물의 계군 분석은 주로 mitochondrial DNA (mtDNA)를 사용하여 분석하고 있으며(Hwang et al., 1997; Liu and Cordes, 2004; Zheng et al., 2015), 어류의 경우 cyt b, control region, COI영역 등 다양한 영역을 사용하여 계군 분석을 실시하고 있다(Park and Kim, 2022). 하지만 갑각류에 대한 유전학적 연구는 주로 소수의 상업종에 대한 연구만이 존재하며, 현재까지 꽃게(Yeon et al., 2008; Lee et al., 2013), 대게(Kang et al., 2013) 그리고 대하(Hwang et al., 1997; Sung et al., 2007)에 그치고 있다.

깨다시꽃게는 우리나라 서해, 남해, 제주 그리고 동해 연안까지 출현하며(Hong et al., 2006), 100 m 미만의 수심 까지도 출현하지만 대체로 수심이 얇은 연안 해역에 서식하는 종이다(Kamei, 1976; Sasaki and Kawasaki, 1980; Takahashi and Kawaguchi, 2001). 중국에서는 높은 어획량을 나타내는 상업종이며(Wang et al., 2011), 자원관리를 위해 유전적 개체군 구조에 대한 연구가 진행되었다(Zheng et al., 2015). 상업 계류의 계군별 관리 단위를 설정하고 자원을 보존하기 위해서는 유전학적인 연구가 수반되어야 하지만(Ma et al., 2015) 국내의 경우 상업 계류

에 대한 유전학적 개체군 연구는 소수 종만이 연구되어 있다. 따라서 본 연구는 상업적 가치와 수요가 증가하고 있는 깨다시꽃게의 자원관리를 위해 이들의 주 서식지인 동해, 서해, 남해 그리고 이어도(동중국해)에 서식하는 개체의 mtDNA COI 영역을 분석하였으며, 중국의 선행 연구(Zheng et al., 2015)와 함께 비교하여 국내 깨다시꽃게의 유전적 다양성과 개체군 구조를 밝히고자 하였다.

재료 및 방법

시료 채집

깨다시꽃게 시료는 2021년 국립수산물과학원 수산과학 조사선(탐구20,21,22호)을 이용하여 채집하였으며, 해역별로 동해(East Sea, ES), 서해(Yellow Sea, YS), 남해(South Sea, SS) 그리고 이어도(Ieodo, ID)의 총 4개의 해역으로 구분하였다(Fig. 1).

Genomic DNA 추출 및 분석

분석을 위한 시료는 각 해역별로 30개체 이상을 채집하였다(Table 1). 시료의 근육조직은 유영지(swimming leg)의 저절(coxa) 근육 부분을 99% 에탄올에 고정하여 사용하였다. Genomic DNA는 에탄올에 고정한 근육 시료를 GeneAll® Exgene™ Clinic SV DNA extraction kit

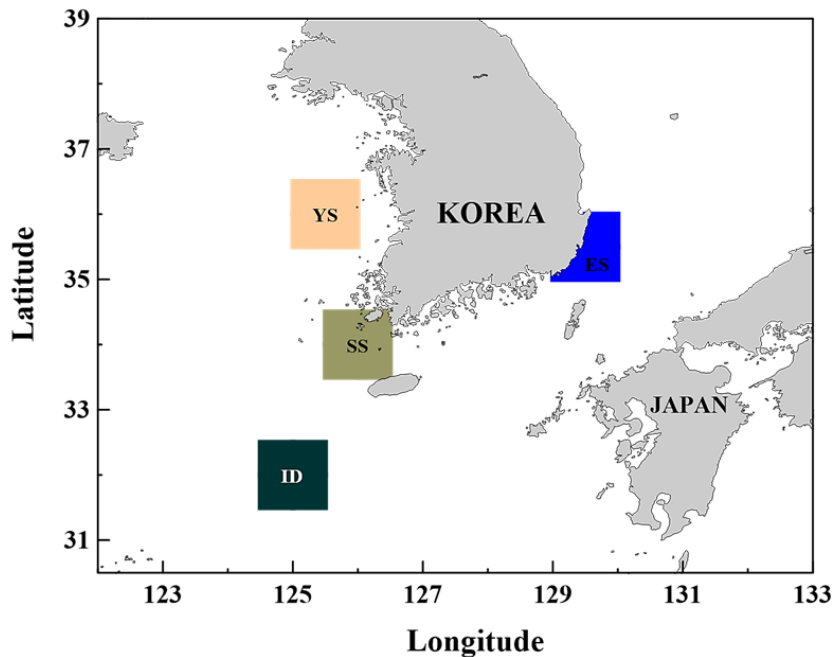


Fig 1. Sampling area of *Ovalipes punctatus* in Korean waters in 2021. ES, East Sea; YS, Yellow Sea; SS, South Sea; ID, Ieodo.

(GeneAll Biotechnology Co. Ltd., Korea)의 절차에 따라 추출하였고 4°C에 보관하였다. mtDNA COI 영역의 증폭은 Zheng et al. (2015)의 L1491 (5'-TTTCTACAAATCATAAAGACATTGG-3')와 Folmer et al. (1994)의 H2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3') primer를 이용하여 중합효소연쇄반응(polymerase chain reaction, PCR)으로 증폭하였다.

PCR을 수행하기 위해 AccuPower® PCR Premix에 4 µl의 Genomic DNA를 첨가하고 전체 용량이 20 µl가 될 때까지 3차 증류수를 추가하여 혼합물을 제작하였다. 이후 Thermal cycler (Bio-Rad C1000™, USA)를 이용하여 PCR을 최종 수행하였으며, 조건은 다음과 같다: Initial denaturation 94°C 3분, PCR reaction 39 cycles (Denaturation 94°C 1분, Annealing 50°C 1분, Extension 72°C 1분), Final extension 72°C 10분.

증폭 완료 후 1.5% Agarose gel에 PCR 산물을 주입하고 전기영동장치(Submarine electrophoresis system; Takara Bio Inc. Mupid-2plus, Japan)에서 25분 동안 100 voltage로 전기영동을 실시하였으며, Gel documentation system (Nippon genetics, Japan) 하에서 전기영동 시킨 gel의 밴드를 최종 확인하였다. 염기서열은 ABI 3730XL DNA Analyzer (Applied Biosystems Inc., USA)에서 ABI BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready

Reaction Kit v 3.1를 이용하여 분석하였고 조건은 다음과 같다: PCR reaction 35 cycles (Denaturation 94°C 10초, Annealing 56°C 10초, Extension 60°C 3분).

자료 분석

염기서열은 BioEdit version 7 (Hall, 1999)의 Clustal W (Thompson et al., 1994)를 이용하여 다중 정렬하였다. 염기서열 간의 유전적 거리는 MEGA 11 (Tamura et al., 2021)의 Kimura-2-parameter model (Kimura, 1980)을 이용하여 계산하였고 Neighbor-Joining (NJ)방법으로 1,000 번의 bootstrap을 실시하여 염기서열의 유사도에 따라 Phylogenetic tree로 나타내어 해석별 개체들의 유연관계를 파악하였다. 국내 종 간의 Clade 구분을 위해 NCBI Genebank에 등록된 중국산 깨다시꽃게의 염기서열을 Clade 별로 각각 10개씩 사용하였다(Table 2)

모든 집단유전학적 분석은 Arlequin 3.5.2.2을 이용하여 분석하였다. 집단의 유전적 다양성은 유전자형 다양도(haplotype diversity, h)와 염기 다양도(nucleotide diversity, π)로 파악하였고 다양성의 패턴이 선택적 중립성(selective neutrality)과 개체군 평형성(population equilibrium)을 따르는지 평가하기 위해 Fu's *F_s* 값(Fu, 1997)과 Tajima's *D* 값(Tajima, 1989)을 이용하였다. 해석별 집단 간의 유전적 차이는 Pairwise *F_{ST}* 값(Slatkin

Table 1. The number of samples in each sampling area

Year	Month	Sampling			n
		Area	Coordinate	Gear	
2021	May	East Sea (ES)	35° 15' 09.6" N 129° 44' 50.1" E	Trawl net	31
	May	Yellow Sea (YS)	35° 44' 56.5" N 125° 40' 31.3" E		31
	Jun.	South Sea (SS)	35° 09' 03.5" N 126° 15' 09.1" E		32
	Mar.	Ieodo (ID)	31° 45' 51.7" N 124° 44' 05.5" E		33
Total					127

Table 2. Sequence lists from Genebank

Clades	Genebank accession number	n	Reference
A	KF906362.1, KF906365.1, KF906373.1, KF906406.1, KF906397.1, KF906408.1, KF906376.1, KF906404.1, KF906388.1, KF906386.1	10	Zheng et al. (2015)
B	KF906402.1, KF906382.1, KF906394.1, KF906401.1, KF906407.1, KF906405.1, KF906393.1, KF906395.1, KF906387.1, KF906379.1	10	
Total		20	

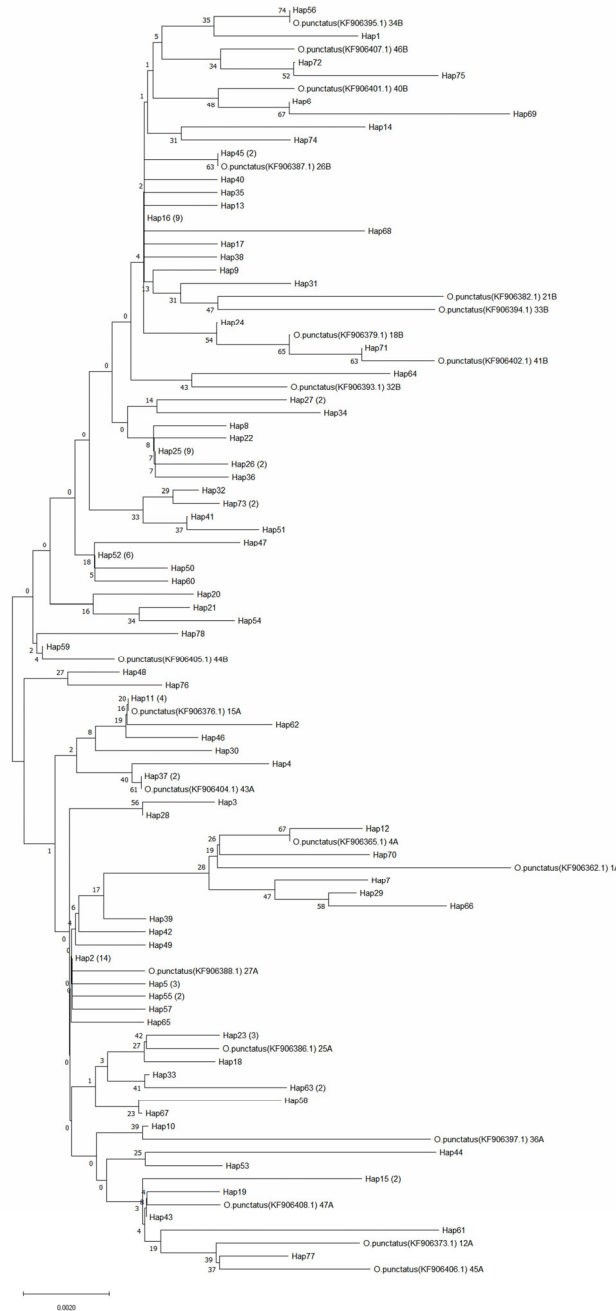
and Hudson, 1991)으로 계산하였고 10,000번의 random permutation을 수행하여 유의성 검정을 실시하였으며, 유전적 분화의 통계적인 유의성 검정은 Markov chain 방법으로 10,000번의 Exact test를 실시하였다. Historic demographic expansion은 Mismatch distribution 분석을 실시하여 Sudden expansion model (Rogers and Harpending,

1992)로 검증하였으며, Haplotype network는 Popart version 1.7로 시각화하였다.

결 과

mtDNA 분석

각 해역별 깨다시꽃게 mtDNA COI 영역의 염기서열



Clade A

Clade B

Fig. 2. The phylogenetic tree based on the Neighbor-joining (NJ) method of *Ovalipes punctatus* with China sequences from Genebank. Bootstrap values were conducted by 1000 replications.

은 총 587 bp로 증폭되었고 이 중 71개의 염기가 치환(substitution) 되었으며, 삽입(insertion)과 결실(indel)은 나타나지 않았다.

분석된 유전자형(Haplotype, Hap)은 총 78개였고 Hap2는 14개로 모든 해역에서 출현하여 최우점(11%)하였다. Neighbor-Joining (NJ) tree 결과에서 국내 깨다시꽃게는 2개(A, B)의 Clade로 나뉘는 경향을 보였고 Clade A와 B 사이의 유전적 거리는 0.17-2.27%로 평균 1.11%였다. 각각의 Clade 별 유전적 거리는 Clade A가 0-1.56%로 평균 0.74%였고 B가 0-1.91%로 평균 0.77%였다. 중국산 깨다시꽃게와 국내 깨다시꽃게 사이의 유전적 거리는 Clade A에서 0.51-1.56%, Clade B에서 0.17-1.38%로 나타났다(Fig. 2).

해역별 유전적 분화도와 다양성

집단 간 유전적 분화의 정도를 나타내는 Pairwise F_{ST} 값은 모두 유의한 차이를 보이지 않았다($p>0.05$)(Table 3).

mtDNA의 유전자형 다양성(haplotype diversity, h)은 ES에서 0.991로 가장 높았고 SS에서 0.956로 가장 낮았으며, 염기 다양성 (nucleotide diversity, π)은 ID에서 0.008로 가장 높았고 YS에서 0.006로 가장 낮았다(Table 4).

집단통계학적 분석

해역별 개체군의 유전적 다양성 패턴을 평가하기 위해 중립성 검정(neutrality test)을 실시하였고 Tajima's D 와 Fu's F_s 값은 모두 유의한 음의 값을 나타냈다(Table 5). 개체군의 팽창 연대 매개변수(expansion age parameter)인 τ 값은 SS에서 4.48로 가장 컸고 ES가 2.88로 가장 낮았다. 해역별 깨다시꽃게의 팽창 전 돌연변이 매개변수 θ_0 와 팽창 후 돌연변이 매개변수 θ_1 간의 차이는 모든 해역에서 컸고 특히, SS를 제외한 모든 해역에서 2,000 이상의 큰 차이가 나타났다. 모든 해역 집단의 mismatch distribution은 단봉형 분포(unimodal distribution)를 나타냈다(Fig. 3).

Table 3. Pairwise F_{ST} values (below diagonal) and Pairwise F_{ST} p values (above diagonal) for the mtDNA COI by each sampling area of *Ovalipes punctatus*

Sampling area	ES	YS	SS	ID
ES		0.70864 (p>0.05)	0.36333 (p>0.05)	0.55371 (p>0.05)
YS	-0.00747		0.49975 (p>0.05)	0.97921 (p>0.05)
SS	0.00012	-0.00386		0.17662 (p>0.05)
ID	-0.00421	-0.01455	0.00815	

ES, East Sea; YS, Yellow Sea; SS, South Sea; ID, Ieodo.

Table 4. Haplotype and nucleotide diversity based on the mtDNA COI by each sampling area of *Ovalipes punctatus*

Sampling area	n	N	h	π
ES	31	27	0.991 ± 0.010	0.007 ± 0.004
YS	31	23	0.970 ± 0.018	0.006 ± 0.004
SS	32	25	0.956 ± 0.029	0.007 ± 0.004
ID	33	23	0.974 ± 0.015	0.008 ± 0.004

ES, East Sea; YS, Yellow Sea; SS, South Sea; ID, Ieodo; N, number of haplotypes; h, haplotype diversity; π , nucleotide diversity.

Table 5. Molecular diversity of *Ovalipes punctatus* for each sampling area

Sampling area	n	N	Tajima's		Fu's		Mismatch distribution		
			D	p	F_s	p	τ	θ_0	θ_1
ES	31	27	-1.88*	0.0133	-25.43***	0.0000	2.88	1.9	3414.98
YS	31	23	-2.11**	0.0047	-18.73***	0.0000	3.13	0.66	2774.99
SS	32	25	-1.70*	0.0223	-21.45***	0.0000	4.48	0.01	27.98
ID	33	23	-1.89*	0.0113	-14.19***	0.0001	3	1.8	3454.99
Total	127	78	-2.18**	0.0011	-25.72***	0.0000	2.75	1.9	3414.97

* $p<0.05$, ** $p<0.01$, *** $p<0.001$; ES, East Sea; YS, Yellow Sea; SS, South Sea; ID, Ieodo; n, sample size; N, number of haplotypes; mismatch distribution parameters estimated under the sudden expansion model.

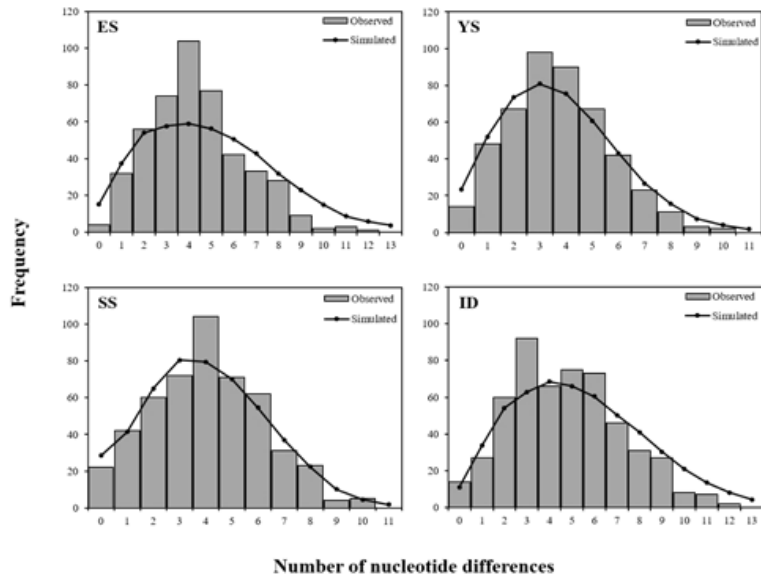


Fig. 3. Mismatch distribution of *Ovalipes punctatus* for each sampling area from sudden expansion model. ES, East Sea; YS, Yellow Sea; SS, South Sea; ID, Ieodo. Bar: observed distribution; Line: simulated distribution.

해역별 유전자형의 분포 및 구조

해역별 유전자형(haplotype)의 분포는 각각의 유전자형을 Clade A와 B로 그룹화하여 지도상에 나타냈다. 유전자형의 분포 비율은 ES, YS, SS 그리고 ID가 각각 52:48, 58:42, 41:59, 58:42로 나타났으며, SS를 제외한 모든 해역에서 Clade A가 우점하였지만 큰 차이를 보이

지 않았다(Fig. 4).

유전자형 네트워크(haplotype network) 결과에서 깨다시꽃게의 유전자형은 거대 유전자형(Hap2, Hap16, Hap25, Hap52)을 기준으로 별 모양으로 분지되어 나가는 형태였으며, 해역별로 지리적 분화가 발생하지는 않았다(Fig. 5).

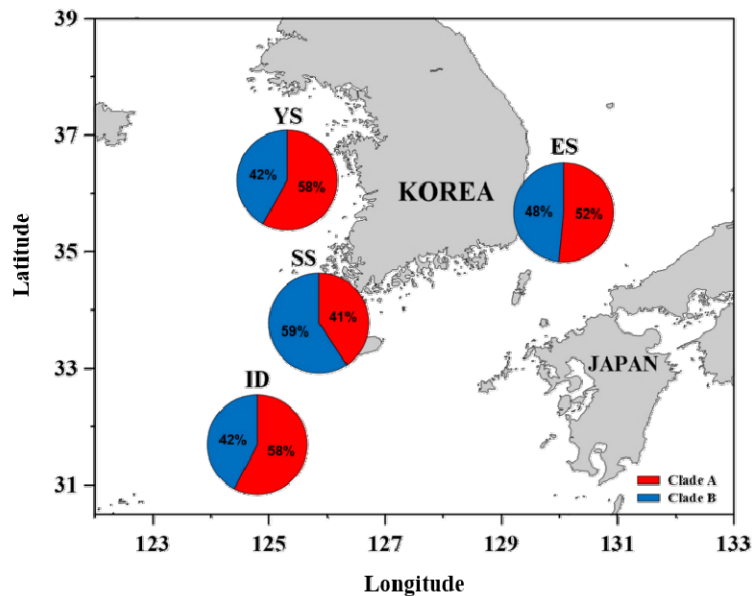


Fig. 4. Haplotype distribution by clade of *Ovalipes punctatus* for each sampling area.

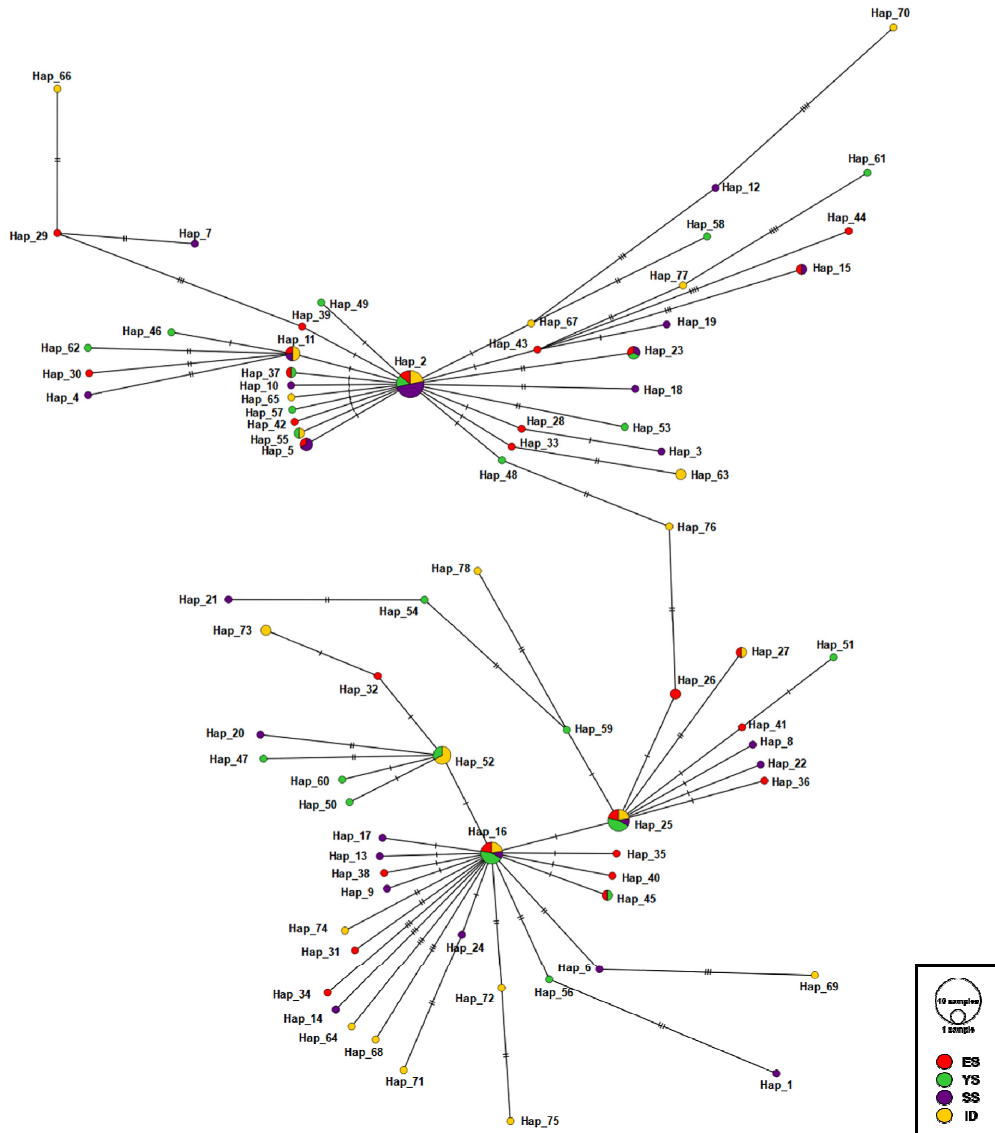


Fig. 5. A single minimum spanning tree of the 78 mtDNA COI haplotypes of *Ovalipes punctatus*. Circle size reflects haplotype abundances. The length of the line between the haplotypes indicates the number of nucleotide substitutions. Bars reflect a 1-nucleotide difference.

고찰

깨다시꽃게는 30일 이상의 부유유생기 이후 성체가 되면서 유영지가 발달하는 종으로 높은 이동성을 나타낸다(Zheng et al., 2015). 유생은 크기가 작고 유영 능력이 약하기 때문에 해류와 조석과 같은 다양한 환경요인의 영향을 받아 분산되며, 분산의 정도는 서식지의 환경요인과 유생기의 기간에 따라 결정된다(Weersing and Toonen, 2009). 유전자 흐름은 성체의 서식지로부터 유

생이 분산되어 이동하는 거리만큼 발생하며, 이를 연구하는 것은 종의 개체군 연결성을 파악하는데 중요한 자료가 된다(Cowen and Sponaugle, 2009; Hellberg, 2009; Carbonell et al., 2021).

국내 깨다시꽃게의 유전자형은 Clade A와 B로 나뉘는 경향성은 나타났지만 COI영역의 분석만으로는 분화의 정도를 뚜렷하게 파악하기 어려웠으며, Clade 내의 유전적 거리의 평균이 각각 0.74와 0.77%로 좁게 나타났기

때문에 추후 control region, cytochrome b (cyt b) 분석 등으로 정확한 종내의 유전자 흐름을 파악해야 한다. 일반적으로 집단의 분화 정도는 Pairwise F_{ST} 값이 0.01-0.15 범위면 보통의 분화를, 0.15 이상은 높은 분화가 나타나는 것으로 판단하지만(Wright, 1978), 결과에서 해역별 깨다시꽃게의 유전적 차이는 유의한 차이를 나타내지 않아 뚜렷한 분화가 발생되지 않은 것으로 판단되었다. 이처럼 뚜렷한 유전적 차이가 나타나지 않은 이유는 깨다시꽃게가 30일 이상의 부유유생기를 거치고 성체가 되면서 유영지가 발달하여 높은 이동성을 나타내는 종이기 때문일 수 있으며, 따라서 서로 다른 개체군 간의 번식과 이주가 발생하여 유전적 교환이 활발히 이루어져 높은 유전자 흐름이 발생한 것으로 보인다(Hedgecock, 1986; Suppapan et al., 2023).

Zheng et al. (2015)의 선행연구에서도 깨다시꽃게는 Clade가 2개로 나뉘는 유사한 경향성을 나타냈지만, Pairwise F_{ST} 값이 서로 유의한 차이를 나타내지 않아 본 연구의 결과와 일치하였다. 따라서 깨다시꽃게는 성체와 유생 간의 개체군 연결성이 강하고 집단 간의 유전적 균질화가 발생하는 종이며(Zheng et al., 2015), 유생기에 동중국해에서 우리나라 서해 연안을 따라 유입되는 난류인 한국연안류와 서해에서 중국 연안을 따라 동중국해로 유입되는 한류인 중국연안류(Ichikawa and Beardsley, 2002) 등의 영향을 받아 활발한 유전자 흐름이 발생한 것으로 추정된다.

깨다시꽃게의 유전자형 다양성(h)과 염기 다양성(π)은 전 해역에서 0.9 이상과 0.006-0.008의 값을 나타냈는데 이러한 높은 유전자형 다양성과 낮은 염기 다양성을 갖는 종은 과거 개체군에 유전적 병목현상이 발생한 이후 개체군의 크기가 빠르게 확장되는 sudden expansion을 겪은 종인 것으로 판단할 수 있다(Grant and Bowen, 1998). 통상 갑각류의 mtDNA COI 영역의 돌연변이율은 100만년당 1.66-2.60% 범위로 알려져 있다(Wares and Cunningham, 2001). 이 돌연변이율과 이번 연구 결과의 τ 값을 Rogers and Harpending (1992)의 팽창 연대 계산식에 대입하였을 때, 깨다시꽃게 개체군은 가장 최근의 빙하기가 있었던 시기에 팽창이 발생한 것으로 추정된다.

유전자형의 분포와 네트워크의 결과에서 깨다시꽃게는 해역별로 뚜렷한 지리적 분화가 나타나지는 않았다.

이는 긴 부유유생기를 보내는 깨다시꽃게가 해류와 조석같은 다양한 해양학적 요인에 의해 먼 곳까지 분산되어 성체로 성장하며, 이후 유영지가 발달하여 또다시 이동하는 생활사를 보내기 때문인 것으로 판단된다. 따라서 우리나라에 서식하는 깨다시꽃게는 중국에 서식하는 개체군과 마찬가지로 강한 유전자 흐름을 가지고 있는 것으로 판단되며, COI 영역의 분석 결과에서 뚜렷한 분화가 나타나지 않았지만 추후 정확한 종내의 유전적 계군을 파악하기 위해 control region, cytochrome b (cyt b) 분석을 실시하고 나아가 microsatellite DNA (msDNA) 또는 single nucleotide polymorphism (SNP) 분석으로 최근의 유전적 흐름을 파악하여 분화에 대한 가능성을 모니터링 할 필요가 있다.

결론

본 연구는 깨다시꽃게의 mtDNA COI 영역을 분석하여 계군을 파악하고 이를 통해 계군별 관리단위를 설정하기 위한 기초자료로서 활용되고자 수행되었다. 결과에서 국내 깨다시꽃게의 Clade는 2개로 분리되었고 Clade 간 mtDNA COI 영역의 유전적 거리는 0.17-2.08%로 차이를 보였지만 유의한 차이를 나타내지 않았다($p > 0.05$). 또한, 해역간 유전자형의 분포와 네트워크의 결과에서도 지리적 분화가 나타나지 않았다. 이러한 결과는 깨다시꽃게가 유생기에 약 한 달의 기간을 부유유생기로 보내고 해류에 의해 장기간 분산되며, 성장하면서 유영지의 발달 및 이동성의 증가로 인해 유전자 흐름이 높아졌기 때문인 것으로 판단된다. 이처럼 우리나라 동해, 서해, 남해 그리고 동중국해(이어도)에 서식하는 개체들의 mtDNA COI 영역 분석 결과에서는 뚜렷한 종내 분화가 나타나지 않았지만 추후 본 종에 대한 최근의 유전자 흐름과 정확한 유전적 분화를 파악하기 위해 추가적인 분석을 실시할 필요가 있다.

사사

본 연구는 2023년도 국립수산과학원 수산과학연구소 사업(R2023001)의 지원을 받아 수행된 연구입니다.

References

Begg GA, Friedland KD and Pearce JB. 1999. Stock identification and its role in stock assessment and

- fisheries management: an overview. *Fish Res* 43, 1-8. [https://doi.org/10.1016/S0165-7836\(99\)00062-4](https://doi.org/10.1016/S0165-7836(99)00062-4).
- Carbonell A, Aparicio-González A, Papiol V and Cartes JE. 2021. Composition and distribution of the larval decapod community in the deep sea of the Western Mediterranean Sea Balearic Sub-basin. *Fish Oceanogr* 30, 205-218. <https://doi.org/10.1111/fog.12514>.
- Cowen RK and Sponaugle S. 2009. Larval dispersal and marine population connectivity. *Ann Rev Mar Sci* 1, 443-466. <https://doi.org/10.1146/annurev.marine.010908.163757>.
- Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R and Vrijenhoek R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol Mar Biol Biotechnol* 3, 294-9.
- Fu YX. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147, 915-925. <https://doi.org/10.1093/genetics/147.2.915>.
- Grant WAS and Bowen BW. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation. *J Hered* 89, 415-426. <https://doi.org/10.1093/jhered/89.5.415>.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp Ser* 41, 95-98.
- Hamm DE and Burton RS. 2000. Population genetics of black abalone, *Haliotis cracherodii*, along the central California coast. *J Exp Mar Biol Ecol* 254, 235-247. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(00\)00283-5](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(00)00283-5).
- Hellberg ME. 2009. Gene flow and isolation among populations of marine animals. *Annu Rev Ecol Evol Syst* 40, 291-310. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120223>.
- Hong SY, Park KY, Park CW, Han CH, Suh HL, Yun SG, Song CB, Jo SG, Lim HS, Kang YS, Kim DJ, Ma CW, Son MH, Cha HK, Kim KB, Choi SD, Park KY, Oh CW, Kim DN, Shon HS, Kim JN, Choi JH, Kim MH and Choi IY. 2006. Marine invertebrates in Korean Coasts. Academy Publ Co., Seoul, Korea, 317-409.
- Hedgecock D. 1986. Is gene flow from pelagic larval dispersal important in the adaptation and evolution of marine invertebrates? *Bull Mar Sci* 39, 550-564.
- Hwang GL, Lee YC and Chang CS. 1997. Mitochondrial DNA analysis of the fleshy prawn (*Penaeus chinensis*) for stock discrimination in the Yellow Sea. *Korean J Fish Aquat Sci* 30, 88-94.
- Ichikawa H and Beardsley RC. 2002. The current system in the Yellow and East China Seas. *J Oceanogr* 58, 77-92. <https://doi.org/10.1023/A:1015876701363>.
- Kamei M. 1976. Biology of Hiratsume-gani, *Ovalipes punctatus* (De Haan), in Sagami Bay [Japan]. *Japanese J Ecol.*
- Kang JH, Park JY, Kim EM and Ko HS. 2013. Population genetic analysis and origin discrimination of snow crab (*Chionoecetes opilio*) using microsatellite markers. *Mol Biol Rep* 40, 5563-5571. <https://doi.org/10.1007/s11033-013-2658-4>.
- 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. <https://doi.org/10.1007/BF01731581>.
- Lee HJ., Yoon SJ, Hyun YS, Kim HJ, Hwang SI, Bae JS and Chung KW. 2013. Analysis of microsatellite loci for swimming crab *Portunus trituberculatus* populations in the Korean side of the Yellow Sea. *J Life Sci* 23, 1088-1095. <http://dx.doi.org/10.5352/JLS.2013.23.9.1088>.
- Liu ZJ and Cordes JF. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* 238, 1-37. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.027>.
- Ma H, Ma C, Li C, Lu J, Zou X, Gong Y, Wang W, Chen W, Ma L and Xia L. 2015. First mitochondrial genome for the red crab (*Charybdis feriata*) with implication of phylogenomics and population genetics. *Sci Rep* 5, 1-14. <https://doi.org/10.1038/srep11524>.
- McMillen-Jackson AL and Bert TM. 2004. Mitochondrial DNA variation and population genetic structure of the blue crab *Callinectes sapidus* in the eastern United States. *Mar Biol* 145, 769-777. <https://doi.org/10.1007/s00227-004-1353-3>.
- Park GH and Kim JK. 2022. Population Structure of Korean *Paraplagusia japonica* (Cynoglossidae) Based on Morphological and Molecular Markers. *Korean J Ichthyol*, 34(2), 73-85. <https://doi.org/10.35399/ISK.34.2.1>
- Puebla O, Sévigny JM, Sainte-Marie B, Brêthes JC, Burmeister A, Dawe EG and Moriyasu M. 2008. Population genetic structure of the snow crab (*Chionoecetes opilio*) at the

- Northwest Atlantic scale. *Can J Fish Aquat* 65, 425-436. <https://doi.org/10.1139/f07-163>.
- Rogers AR and Harpending H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol Biol Evol* 9, 552-569. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040727>.
- Sasaki K and Kawasaki T. 1980. Some aspects of the reproductive biology of the swimming crab, *Ovalipes punctatus* (De Haan). *Tohoku J Agric Res* 30, 183-194.
- Slatkin M and Hudson RR. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, 129, 555-562. <https://doi.org/10.1093/genetics/129.2.555>.
- Sung, YG, Nam YK, Han HS and Bang IC. 2007. Genetic Diversity and Variation of Chinese Shrimp *Fenneropenaeus chinensis* Populations as Inferred by AFLP Fingerprinting. *J Aquaculture* 20, 255-259.
- Suppapan J, Songrak A, Meesook W and Supmee V. 2023. Population Genetic Structure of the Blue Swimming Crab (*Portunus pelagicus*) along the Andaman Sea Coast of Thailand. *Sains Malays* 52, 369-380. <https://doi.org/10.17576/jsm-2023-5202-05>.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123, 585-595. <https://doi.org/10.1093/genetics/123.3.585>.
- Takahashi K and Kawaguchi K. 2001. Nocturnal occurrence of the swimming crab *Ovalipes punctatus* in the swash zone of a sandy beach in northeastern Japan. *Fish Bull-National Oceanic and Atmospheric Administration* 99, 510-515.
- Tamura K, Stecher G and Kumar S. 2021. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11. *Mol Biol Evol* 38, 3022-3027.
- Thompson JD, Higgins DG and Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 22, 4673-4680.
- Wang Y, Yu C, Zheng J, Chen X and Ning P. 2011. Biological characteristics and seasonal variations of *Ovalipes punctatus* in the Zhoushan fishing ground. *Oceanol Limnol Sin* 42, 274-8. <https://doi.org/10.3109/19401736.2013.873894>.
- Wares JP and Cunningham CW. 2001. Phylogeography and historical ecology of the North Atlantic intertidal. *Evolution*, 55, 2455-2469. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2001.tb00760.x>.
- Weersing K and Toonen RJ. 2009. Population genetics, larval dispersal, and connectivity in marine systems. *Mar Ecol Prog Ser* 393, 1-12. <https://doi.org/10.3354/meps08287>.
- Wright S. 1978. Variability within and among populations. *Evolution and the Genetics of Populations*. University of Chicago Press, Chicago, U.S.A., 512.
- Yeon IJ, Song MY, Hwang HJ, Sohn MH, Kim JB, Im YJ, Kim YS, Kim KS and Bang IC. 2008. Population structure of the blue and purple types of the blue crab *Portunus trituberculatus* (Miers) from the west sea of Korea based on morphometric characteristics and AFLP analysis. *Korean J Fish Aquat Sci* 41, 94-101. <https://doi.org/10.5657/kfas.2008.41.2.094>.
- Zhang CI. 2010. *Marine Fisheries Resource Ecology*. Pukyong National University, Busan. Korea, 1-561.
- Zheng W, Han Z, Chen G, Yu C and Gao T. 2015. Mitochondrial DNA variation in the East China Sea and Yellow Sea populations of swimming crab *Ovalipes punctatus*. *Mitochondrial DNA* 26, 559-565. <https://doi.org/10.3109/19401736.2013.873894>.