

한국 연어의 소상하천간 유전적 유사성과 차이점 및 일본 연어와 유전적 관계

김고은 · 김충곤 · 이윤호*
한국해양연구원 해양바이오신소재연구사업단

Genetic Similarity-dissimilarity Among Korea Chum Salmons of Each Stream and Their Relationship with Japan salmons

GO-EUN KIM, CHOONG-GON KIM AND YOUN-HO LEE*
Korea Ocean Research and Development Institute, Ansan P.O. Box 29, 425-600, Korea

한국 동해안의 가장 대표적인 연어과 어류인 연어(*Oncorhynchus keta*)의 집단 분석을 위한 연구가 국내에서는 많이 수행되지 않았다. 최근 연어과 어류의 계군을 분석하는데 유전자를 이용하는 방법들이 시도되고 있으며, 단일염기다형성(SNP)을 이용한 집단 구분 방법이 점차 많이 이용되고 있다. 본 연구에서는 한국 연어의 소상하천간 유전적 유사성과 차이점 및 일본 연어와 유전적 관계를 살펴 보기 위하여, 미토콘드리아의 COIII-ND3-ND4L 지역 720 bp 염기 서열을 분석하였다. 한국의 3개 지역(고성 북천, 양양 남대천, 울진 왕피천)에서 채집된 108개체와 일본의 2개 지역(홋카이도의 마시케와 하코다테)에서 채집된 44개체를 분석하여 29개의 haplotype을 확인하였다. 유전적 다양성은 남대천 연어에서 가장 높고 하코다테에서 가장 낮았다. Pairwise F_{ST} 와 AMOVA를 이용한 집단 분석 결과, 한국 연어는 소상하천간 유전적 차이가 거의 없으며 일본 연어와도 크게 구분되지 않았다($F_{ST} < 0.07$). 그러나, haplotype 유사성으로 본 각 개체의 유전적 관계는 한국 연어의 일부(약 25%)가 일본 연어와 구분되는 독특한 유전적 가계(lineage)를 형성하고 있으며, 국내 남대천과 북천 연어에는 왕피천과 구분되는 연어 가계가 존재함을 보여준다.

Analysis of population structure of *Oncorhynchus keta*, the most abundant salmon in the East Sea of Korea, has not been much carried out despite its importance as a fishery resource in the North Pacific. Currently, molecular methods are being applied to stock identification and a method of using single nucleotide polymorphisms (SNPs) is getting more popular. In this study, we analyzed the 720 bp long sequence of the mtDNA COIII-ND3-ND4L region in order to examine genetic similarity-dissimilarity among the Korea chum salmons of each stream and their relationship with the Japan chum salmons. A total of 152 individuals were analyzed, 108 from 3 locations of Korea and 44 from 2 locations of Japan, which resulted in as many as 29 different haplotypes. Pairwise F_{ST} and AMOVA tests of the populations show that there is no significant population-level genetic difference among the chum salmons analyzed ($F_{ST} < 0.07$). On the other hand, haplotype relationships among the individuals reveal that approximately 25% of the Korea salmons consist genetic lineages independent of Japan salmons and also that a genetic lineage exists in the Puk river and the Namdae river salmons independent of the Wangpi river salmons of Korea.

Keywords: Chum Salmon, *Oncorhynchus keta*, COIII-ND3-ND4L, Genetic Diversity, Population

서론

연어과 어류는 냉수성 어종으로서 북태평양과 북대서양에 널리 분포한다. 이들은 육지의 하천에서 부화하여 자치어의 시기를 거친 후 바다로 나가 성장하고 성체가 되면 산란을 위해 다시 태어난 하천으로 돌아온다. 짝짓기를 마친 암컷과 수컷은 곧 죽고, 부화된 새끼가 이듬해 바다로 내려감으로써 생활사를 반복한다. 북

태평양에 서식하는 7종의 연어과 어류 중 생물량이 가장 많은 종이 연어(*Oncorhynchus keta*; chum salmon)이다. 한국을 비롯하여 미국, 일본, 러시아와 캐나다 등은 연어의 모천회귀 습성을 이용하여 자원을 증대시키기 위해 치어의 인공생산과 방류사업을 실시한다. 우리나라의 경우 동해안에 위치한 국립수산물과학원 양양연어연구센터가 1985년부터 연어의 치어 방류를 시작하여 2000년에 1300만 마리를 방류하였다(성, 2004). 본 센터는 2010년까지 1억 마리 이상의 치어를 방류하여 연어를 동해안의 대표어종으로 육성하겠다는 계획을 세워 놓고 있다. 우리나라는 연어자원의 관

*Corresponding author: ylee@kordi.re.kr

리와 어획문제를 다루는 북태평양소하성어류위원회(North Pacific Anadromous Fish Commission, NPAFC)에 2003년 5번째 회원국(미국, 캐나다, 러시아, 일본, 한국)으로 가입하고, 방류 연어 자원에 대한 권리를 국제적으로 주장하기 시작하였다.

연어자원에 대한 권리 주장과 해양생태계 내에서의 효율적인 자원관리를 위해서는 연어의 각 집단을 구분하고 그 생물학적 특징을 명확히 이해할 필요가 있다. 우리나라 연어 집단의 생물학적 특징에 대한 연구는 방류사업이 시작된 이래 간헐적으로 이루어져 왔다. 명 등(1992)은 한국산 연어의 형태적 형질을 분석하고 두장, 미병고, 기름지느러미의 길이, 주둥이 형질 등에서 연어 집단이 크게 두 그룹(양양 남대천, 고성 북천과 명주 주수천; 삼척 오십천, 울진 왕피천과 영덕 오십천)으로 나누어 진다고 보고하였다. 성 등(1998)은 양양 남대천에 소상하는 연어의 소상량과 체장, 연령조성 등에 대해 보고하였으며, 성(1999)은 박사학위 논문에서 한국산 연어의 생물학적 특징을 기술하고 연어방류 사업에 따른 방류 하천별 연어의 성장율과 회귀율에 대해 종합적으로 정리하였다. Kang and Kim(2004)은 한국과 일본의 아시아산 연어가 북미산 연어보다 크기가 작고 체중이 적으며 이석의 중량에 있어서도 차이가 있음을 지적하였다. 한국산 연어의 경우 회귀한 성체의 연령이 다른 나라 연어에 비하여 낮은 평균 3.4세에 머물렀다. 한국산 연어의 회유경로에 대해서는 정 등(2001)이 기존에 막연히 제시되었던 북태평양 전체를 경유해 돌아오는 대순환 회유경로를 수정하여, 북서태평양 서쪽 연안을 따라 베링해로 가서 성장하고 되돌아오는 서태평양순환 회유경로를 제시하였다. 한편, Seo *et al.*(2006)은 일본 연어의 회유경로를 제시한 Urawa(2000)의 가설을 근거로 하여 한국산 연어도 동해에서 소야해협을 거쳐 오후츠크해로 나간 후 일본 연어와 같은 회유경로를 거칠 것으로 추론하였다.

연어의 집단을 유전적으로 구분하려는 시도는 isozyme 분석으로 시작되었다. Okazaki(1983)는 MDH-B 단백질의 다형성을 근거로 연어 집단을 아시아 계군과 북미 계군으로 구분하였으며, 명 등(1992)은 한국 연어가 일본 혼수계군과 유사하다고 제시하였다. 그런데, DNA 분석 기술이 발전하면서 isozyme이 DNA 염기서열보다 변이성이 낮다는 것이 알려지고 생물의 집단 구조 분석에 DNA가 이용되기 시작하였다. 특히, 동물의 미토콘드리아 DNA는 세포 내 복제수가 많고 핵 유전자보다 5~10배나 빠른 속도로 진화하는 특성이 있어 집단분석의 마커로서 유용하다고 제안되었다(Brown *et al.*, 1982). Sato *et al.*(2001)은 미토콘드리아의 control region을 이용하여 일본 연어의 소상하천간 유전적 차이를 밝히려고 시도하였으며, 이후 2004년에는(Sato *et al.*, 2004) 북태평양 전역에서 채집된 연어를 분석하여 유전적 집단이 일본/러시아/북아메리카 계군으로 구분된다고 제시하였다. 이 연구에서 한국 연어는 남대천에서 채집된 시료만 포함되었으며 일본연어와 같은 계군에 속하는 것으로 나타났다. 그런데, 이 연구에서 북태평양 연어 약 2100마리가 분석되었으나 발견된 변이는 30개 haplotype에 불과하여, 미토콘드리아 control region이 보다 상세한 계군 분석을 위해서는 적절치 않은 마커일 수 있다는 의문이 제기된다. 정 등(2003)은 마이크로새틀라이트 DNA Ogo5(Olsen *et al.*, 1998)와 미토콘드리아 유전자 중 변화율이 특히 높은 것으로 알려진 ND3(Jacobs *et al.*, 1988; Sunnucks, 2000)와 그 주변 지역 COIII,

ND4L 말단의 염기배열을 분석하여 한국과 일본 연어와 미국 연어가 차이가 있음을 밝혔다. 최근 Kim *et al.*(2007)은 COIII-ND3-ND4L 분석을 확대하여 북태평양 연어의 집단구조가 한국-일본(러시아 Primorye 포함)/러시아-알래스카-캐나다/미국 등으로 구분된다고 제시하였다.

지금까지 한국산 연어에 대한 연구에서 소상하천간 유전적 차이에 대한 분석은 많이 이루어지지 않았다. Kim *et al.*(2007)이 북태평양 연어 분석에서 양양 남대천과 울진 왕피천에서 채집된 연어를 포함시켰을 뿐이다. 본 연구에서는 이를 보완하고자 고성 북천에서 연어를 채집하여 분석하였으며 양양 남대천 연어도 추가로 채집하여 분석하였다. 분석 대상 분자마커로는 기존 연구와 비교할 수 있도록 하기 위해 유전자 변이성이 높은 것으로 알려져 계군분석에 이미 이용되어 왔던 미토콘드리아 DNA COIII-ND3-ND4L 지역을 택하였다. 분석된 염기서열을 비교하여 소상하천간 서로 다른 haplotype의 존재 여부를 확인하였으며, 한국 연어와 일본 연어를 비교하여 그 차이점과 유사성을 분석하였다.

재료 및 방법

시료채집

집단 분석에 사용된 연어는 한국 연어 108개체, 일본 연어 44개체로써 총 152개체이다. 이 중, 한국 연어는 강원도 양양의 남대천과 고성의 북천, 그리고 경상북도 울진군의 왕피천에서 채집되었다(Fig. 1). 남대천에서는 1999, 2000, 2001, 2005년에 각각 6, 14, 15, 30개체씩 채집되었으며 북천에서는 2005년에 30개체, 왕피천에서는 2000년에 13개체가 채집되었다. 일본 연어는 2000년에 홋카이도의 마시케 shokanbetsu 강에서 22개체, hakodate에서 20개체가 채집되었다. 각 개체에서 간 혹은 근육 조직을 채취하여 100% 에탄올에 고정된 후 DNA 분석에 이용하였다.

계놈 DNA 추출

에탄올에 고정된 시료에서 약 30-40 mg을 떼어내어 3차 증류수에 두 번 행군 후 DNeasy Tissue Kit(Qiagen)을 이용하여 주어진

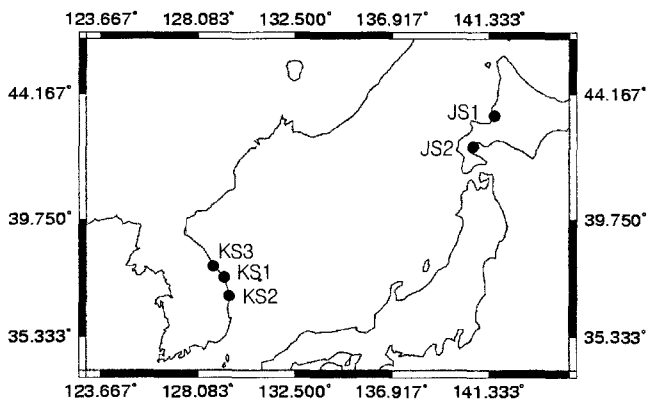


Fig. 1. Sampling locations of Korea and Japan chum salmon (*O. keta*). (KS1: Namdae River, KangwonDo, 38°44'20"N 128°37'17"E; KS2: Wangpi River, KyoungsangbukDo, 36°59'23"N 129°24'15"E, KS3 : Puk river, Kangwondo, 38°23'13"N 128°28'07"E, JS1: Mashike, Hokkaido, 43°46'59"N 141°31'59"E, JS2: Hakodate, Hokkaido, 41°46'59"N 140°45'E).

방법으로 실험하여 게놈 DNA를 추출하였다. 추출된 DNA는 1% 아가로스 젤에 전기영동하여 상태를 확인하였으며, DNA의 정량과 순도는 spectrophotometry를 이용하여 A260/280를 측정함으로써 분석하였다.

대상 유전자의 중합효소연쇄반응(PCR)

추출된 게놈 DNA에서 중합효소연쇄반응을 이용하여 COIII-ND3-ND4L 유전자를 선택적으로 증폭하였다. 증폭에 사용된 프라이머는 COIII와 ND4L 유전자 말단의 염기 배열에 맞게 디자인되었다 (Domanico and Phillips, 1995; forward primer, COIII: 5'-TTA CAA TCG CTG ACG GCG-3'; reverse primer, ND4L: 5'-GGT GCG GTG AAA CGC GAG TG -3'). PCR 반응 용액은 10× PCR buffer와 각 2.5 mM의 dNTP (dATP, dTTP, dCTP, dGTP), 2.5 unit의 TaKaRa Ex Taq polymerase를 섞은 용액에 forward primer와 reverse primer를 각각 20pmole 첨가하여 전체 50 μl로 만들었다. PCR 반응은 DNA Engine (MJ Research사, 미국)에서 denaturation (94 °C, 45초), annealing (60 °C, 45초)과 extension (72 °C, 2분)의 연쇄 반응을 30회 반복 수행하였다. 연쇄반응 전 predenaturation과정으로 94 °C에서 5분 동안 반응시켰고 연쇄반응 후에는 final extension 과정으로 72 °C에서 10분 동안 반응시켰다. 반응 후 PCR 산물 중 5 μl를 1% 아가로스 젤에 전기영동하여 증폭된 DNA의 크기를 확인하였으며, 증폭이 확인된 산물은 QIA Quick PCR Purification Kit(Qiagen)을 이용하여 정제하였다.

클로닝 및 염기서열 결정

정제된 DNA는 전기 영동과 spectrophotometry를 이용하여 농도와 순도를 확인하였다. 이 중 높은 농도 및 순도를 보이는 시료는 COIII와 ND4L 프라이머를 이용하여 양 방향에서 각각 직접 시퀀싱을 실시하여 염기서열을 결정하였다. 농도가 낮은 시료의 경우는 Topo TA cloning kit(Invitrogen)를 이용하여 정제된 DNA를 클로닝하였다. 클로닝 과정은 제품에서 제시한 방법을 따라 진행하였으며, DNA를 pCRII-Topo vector에 재조합 후 *E. Coli*로 이 전하였다. 증폭된 COIII-ND3-ND4L DNA가 들어있는 양성클로니를 확인하기 위해 Invitrogen에서 제공한 M13 forward와 M13 reverse 프라이머를 이용하여 콜로니 PCR을 실시하고 아가로스 젤 상에서 전기영동하여 증폭된 DNA 크기를 확인하였다. 이 후, 양성클로니를 배양하여 Qiaquick mini preparation kit(Qiagen)을

사용하여 플라스미드 DNA를 분리하고, T7promoter 프라이머를 이용하여 염기서열을 분석하였다.

염기서열 비교 및 집단 분석

분석한 염기서열은 일차적으로 DNAssist프로그램을 이용하여 정렬시켰으며 MEGA2 프로그램의 ClustalW를 이용하여 최종적으로 정렬하였다. 집단간의 계군 분석을 위해서 ARLEQUIN program(Schneider et al. 2000)을 이용하여 haplotype다양성(h)과 nucleotide다양성(π), pairwise F_{ST} value(Slatkin 1995)를 산정하였으며, Tamura and Nei model(1993)을 적용하여 AMOVA test (AMOVA, Excoffier et al. 1992)를 실시하였다. 또한, 개체 및 지역 간 유전적 관계를 살펴 보기 위해 TCS 프로그램(version 1.21, 95% maximum connection steps)을 사용하였다(Clement et al., 2000).

결 과

언어의 미토콘드리아 DNA, COIII-ND3-ND4지역의 염기서열 분석

한국 언어 108개체와 일본 언어 44개체의 간 조직으로부터 추출된 게놈 DNA에서 미토콘드리아 DNA COIII-ND3-ND4 지역의 염기서열이 분석되었다. Domanico and Philips(1995)가 이용한 COIII와 ND4L 프라이머를 사용함으로써 약 780 bp 크기의 DNA 단편이 증폭되었다. 증폭된 DNA는 정제 후, 직접 시퀀싱 과정을 거치거나 클로닝-시퀀싱 과정을 거쳐 프라이머 부분을 제외한 약 720 bp의 염기서열이 확정되었다. 각 염기서열에서 204번까지 COIII 유전자의 말단 서열이고, 205번부터 273번까지 염기서열이 tRNA(gly) 유전자이며, 274번부터 624번까지는 ND3 유전자, 626번부터 692까지 tRNA(arg) 유전자, 693번부터 ND4L 유전자의 5' 쪽 시작 부분이다(Fig. 2). 이 염기서열은 NCB에 등록된 chum salmon의 염기서열(Accession number, D84147)과 99%의 일치도를 보이고 오직 4개의 위치에서 차이를 보이는 것으로 나타나(67번째 T→C, 633-634 번째 TA→GG, 691번째 A→G) COIII-ND3-ND4L 지역 DNA임을 확인할 수 있었다.

분석한 152개체 언어 시료 모두에서 삽입이나 결실된 염기서열은 관찰되지 않았다. 개체간의 단일염기다형성(single nucleotide polymorphism, SNP)은 모두 29개의 위치에서 발견 되었으며, SNP에 의하여 서로 다른 염기 서열을 갖는 29개의 haplotype이 구분

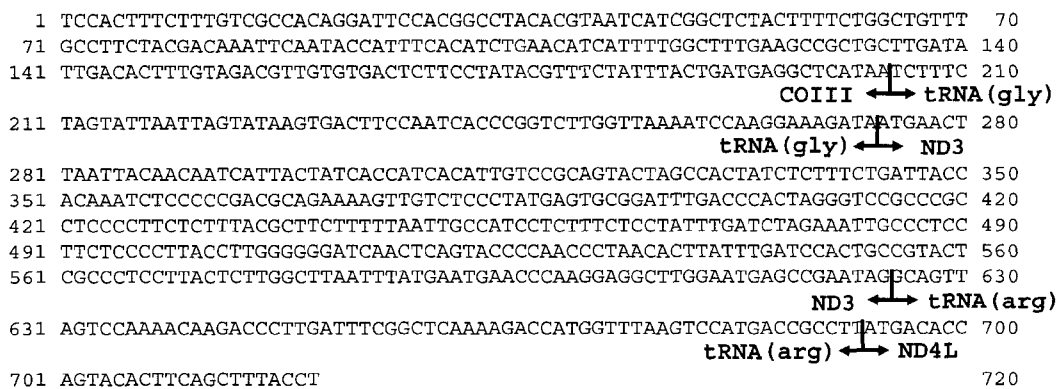


Fig. 2. The major haplotype (H01) sequence of the COIII-ND3-ND4 region among the chum salmons (*O. keta*).

Table 1. Comparison of the nucleotide sequences among the haplotypes. The nucleotide positions only with polymorphisms are shown. Dots represent the same nucleotide sequence as in the haplotype H01.

Haplotype	Number of Samples	Nucleotide Position																												
		0	0	0	0	0	1	1	2	2	3	3	3	3	3	3	4	4	4	4	5	5	5	5	5	5	5	6	6	7
H01	90	T	T	G	T	G	A	T	T	G	C	A	T	G	G	C	C	C	T	G	T	A	A	A	C	A	T	G	A	C
H02	1	T	T
H03	1	A
H04	1	G
H05	1	.	.	.	T
H06	1	G	C
H07	1	T
H08	1	.	.	A
H09	1	C
H10	1	G
H11	1	G
H12	1	C	.	.	T
H13	1	C	G
H14	1	G	.
H15	1	G
H16	4	C
H17	1	C	A	G	.	.
H18	8	A	G	.	.	.
H19	1	A	G	.	A	.	.
H20	3	.	.	C	G
H21	10	.	.	C	G	.	.	.	G
H22	1	C	.	C	G	.	.	G
H23	1	.	.	C	G	G	.	.	G
H24	1	G	.	.	C	G	.	.	G
H25	14	.	.	C	C	G	.	.	G
H26	1	.	.	C	C	T	G	.	.	G
H27	1	.	.	C	C	G	.	.	G	.	A	.	.	.
H28	1	.	.	C	C	G	.	T
H29	1	.	G	.	C	C	G

되었다(Table 1). 29개의 haplotype중 23개가 한 개체에서만 발견되는 개체 특이적 변이(singleton)이었고, 6개 haplotype(H01, H16, H18, H20, H21, H25)만이 두 개체 이상에서 공통적으로 발견되는 집단 특이적 변이로 나타났다.

가장 많은 개체에서 공통적으로 보여지는 haplotype인 H01은 모두 90개체의 언어를 포함하고 있다(Table 1). H01과 염기 하나의 차이를 보이는 haplotype은 모두 11개로 H03~H05, H07~H11, H14~H16 등이며, 여기에 한국 언어 9개체와 일본 언어 5개체가 포함되고 있다. 이 중 H16의 경우만이 집단 특이적 변이로서(8번째 염기에서 T→C 변이) 한국 언어만 4개체를 포함한다. 한편, 한국 언어만 8개체를 포함하는 H18은 H01과 두 개의 위치에서 차이(246번째 염기에서 G→A, 591번째 염기에서 A→G 변이)를 보인다. H18이 갖는 변이는 H17과 H19에서도 공통적으로 보여지며, 개체 특이적 변이(singleton)인 H17과 H19는 H01과 비교할 때 H18보다 한 개의 염기에서 더 차이를 보인다. H17은 8번째 염기에서 T→C의 변화를 가지며, H19는 619번째 염기에서 G→A의

추가적인 염기 치환이 일어났다. H20는 H01과 비교하여 57번째 염기 서열에서 T→C 변이와 534번째 염기 서열에서 A→G 변이가 일어나 두 개의 염기에서 차이가 있다. 이러한 변이는 H21~H29가 공통적으로 갖고 있어 일정한 가계(lineage)를 대표하는 특이적인 변이로 보여진다. 다만, H24는 57번째 변이가 다시 C→T로 역전되는 변이를 겪은 것으로 보인다. 10개체가 포함된 H21은 H20보다 한 개의 변이가 더 많다: 591번째 염기가 A→G로 변하였다. 한편, 14개의 한국 언어 개체가 포함된 H25은 H21과는 다른 위치에서 H20보다 한 개의 변이가 더 많다: 307번 위치에서 A→C로의 transversion변이가 보인다. 이 변이는 H26~H29에서 공통적으로 발견되는 가계 특이적 변이인 것으로 나타났다(Table 1).

COIII-ND3-ND4L 지역 염기서열의 차이에서 드러난 각 haplotype 간 유전적 상관도와 한국과 일본 언어 개체의 지역간 상관 관계가 TCS diagram에서 잘 드러났다(Fig. 3). 이 그림에서 haplotype의 빈도는 원의 크기와 비례하며, 유전적 거리는 원과 원을 연결하는 막대의 개수로 표시된다. 가장 높은 빈도를 보이는 H01은 한

Table 2. Haplotype frequency in each sampling site

Haplotype	Number of Samples	Sampling site				
		KS1	KS2	KS3	JS1	JS2
H01	90	33	10	18	13	16
H02	1	1	0	0	0	0
H03	1	1	0	0	0	0
H04	1	1	0	0	0	0
H05	1	1	0	0	0	0
H06	1	1	0	0	0	0
H07	1	1	0	0	0	0
H08	1	0	1	0	0	0
H09	1	0	0	0	1	0
H10	1	0	0	0	1	0
H11	1	0	0	0	1	0
H12	1	0	0	0	1	0
H13	1	0	0	0	0	1
H14	1	0	0	0	0	1
H15	1	0	0	0	0	1
H16	4	3	1	0	0	0
H17	1	1	0	0	0	0
H18	8	2	1	5	0	0
H19	1	0	0	1	0	0
H20	3	1	0	0	1	1
H21	10	6	0	0	4	0
H22	1	1	0	0	0	0
H23	1	0	0	0	1	0
H24	1	0	0	0	1	0
H25	14	8	0	6	0	0
H26	1	1	0	0	0	0
H27	1	1	0	0	0	0
H28	1	1	0	0	0	0
H29	1	1	0	0	0	0
Total	152	65	13	30	24	20

국과 일본 언어 모두에서 고르게 나타났다. Haplotype들은 유전적 상관도에 따라 크게 두 그룹으로 나뉘어 졌다: H01~H19와 H20~H29. 첫째 그룹은 다시 H01~H16과 H17~H19의 2개의 소그룹으로 구분되고, 둘째 그룹은 H20~H24와 H25~H29의 2개의 소그룹으로 구분되었다. H01을 중심으로 하는 H01~16의 소 그룹은 H16을 제외하고는 모두 H01에서 파생된 개체특이적 변이로서 한국과 일본 언어를 고루 포함한다. H17~H19로 이루어진 소그룹은 오직 한국 언어만을 포함하고 있으며, 특히 H18은 한국 언어를 채집한 세 지역 모두에서 나타났다. H20~H24 소그룹은 한국과 일본 언어를 모두 포함하고 있는 데 반해, H25~H29 소그룹은 한국산 언어만을 포함하고 있다. 특히, 이 소그룹은 H01 다음으로 많은 개체에서 발견되는 H25를 중심으로 하고 있어 지역 특이적인 독특한 가계의 존재를 보여준다.

집단간 haplotype 구성과 유전적 다양성

한국 언어 시료 108개체에서 나타난 20개의 서로 다른 haplotype을 채집지 별로 살펴 보면 KS1의 경우 65개체에서 18개의 서로 다른 haplotype이 나타났고, KS2의 경우는 13개체에서 4개

Table 3. Haplotype diversity ($h \pm$ standard deviation) and nucleotide diversity ($\pi \pm$ average over loci) within population

Population	N	h	δ (%)
KS1	65	0.72 \pm 0.057	0.28 \pm 0.18
KS2	13	0.42 \pm 0.16	0.086 \pm 0.08
KS3	30	0.59 \pm 0.08	0.24 \pm 0.16
JS1	24	0.70 \pm 0.10	0.26 \pm 0.17
JS2	20	0.37 \pm 0.14	0.08 \pm 0.08

haplotype, KS3의 경우는 30개체에서 4개의 haplotype을 보였다. 일본 언어 시료는 44개체에서 12개의 서로 다른 haplotype을 보였으며, 채집지 별로는 JS1에서 24개체가 9개의 haplotype, JS2에서 20개체가 5개의 haplotype을 보였다. ARLEQUIN program을 통해 분석된 각 채집지별 haplotype 다양성은 KS1에서 가장 높고 (0.72 \pm 0.06), JS2에서 가장 낮은 값(0.37 \pm 0.13)을 나타내었다. Nucleotide 다양성 역시 KS1(0.2 \pm 0.1 %)에서 가장 높게 나타났으며, JS2에서 가장 낮은 값(0.08 \pm 0.08 %) 값을 보여 (Table 3), 한국 언어가 일본 언어에 비해 상대적으로 높은 값이 나왔다.

한국 언어 집단간의 haplotype 구성을 살펴 보면, 양양 남대천(KS1), 삼척 왕피천(KS2) 고성 북천(KS3)의 언어 시료 중 50% 이상이 H01을 갖는 것으로 나타났다(KS1:33/65, KS2:10/13, KS3:18/30). 한국 언어 집단에서만 관찰되는 haplotype은 모두 16개이며, 이 중 2개 이상의 개체에서 공통적으로 보이는 것은 3개로써 H16(4개체), H18(8개체), H25(12개체)이다. H16은 H01과 1개의 염기 서열 차이를 갖는데 비하여, H18은 2개의 염기서열 차이를 보이고, H25의 경우는 H01과는 3개의 염기서열 차이를 보이며 뚜렷이 구분이 되었다. 그 외 H18과 1개 혹은 2개의 염기 차이를 보이는 H17과 H19등이 독특한 haplotype으로 나타났다. H25와 1개씩의 염기 서열 차이를 보이며 singleton group을 이루고 있는 4개의 haplotype 역시 모두 한국 언어 개체만으로 구성되어 있다는 것이 특이하다(Fig. 3).

일본 언어 집단 역시 조사된 두 지역의 언어 시료 중 50% 이상(JS1 : 13/24, JS2 : 16/20)이 H01에 해당되었다. H01과 한 개의 염기서열 차이를 갖는 haplotype에 5개의 개체가 singleton으로 나타났다으며 2개의 염기서열 차이를 갖는 haplotype에 2 개체가 포함되었다. H01과 두 개 이상의 염기서열 차이를 보이는 4개의 haplotype에 8개의 개체가 해당되었다. 이 중 2개의 haplotype에는 한국 언어가 함께 포함되었으며, 나머지 두 개의 haplotype 만이 일본 언어 한 개체씩 singleton으로 나타났다.

채집지 간 혹은 한국과 일본 언어 사이의 유전적 차이를 보기 위해 AMOVA(Analysis of molecular variance) test를 실시한 결과(Excoffier *et al.* 1992), 한국과 일본 언어 두 그룹 간의 변이도는 전체 유전자 변이의 0.38%로 매우 낮게 나타났으며, 각 그룹 내의 채집지 별 변이도 역시 2.62%로 낮게 나타났다. 분석된 언어 시료에서 나타난 변이의 96.99%가 haplotype간의 차이로 나타났다. 이는 한국과 일본 언어를 별도의 유전적 집단으로 구분하는 것이 유의하지 않음을 보여주며, 각 채집지의 언어도 독립적인 유전적 집단으로 볼 수 없음을 시사한다. 한국과 일본 언어의 채집지 별 pairwise F_{ST} 값을 산정한 결과도 각 채집지 간에 모두 0.07 이하의 낮은 값을 보여 채집지 별로 독립적인 유전적 집단을 설정할 수 없음을 나타냈다(Table 4). 한국 언어 채집지 간의 F_{ST} 값은 0.01052에서 0.02994사이, 일본 언어 채집지 간의 값은 0.05382

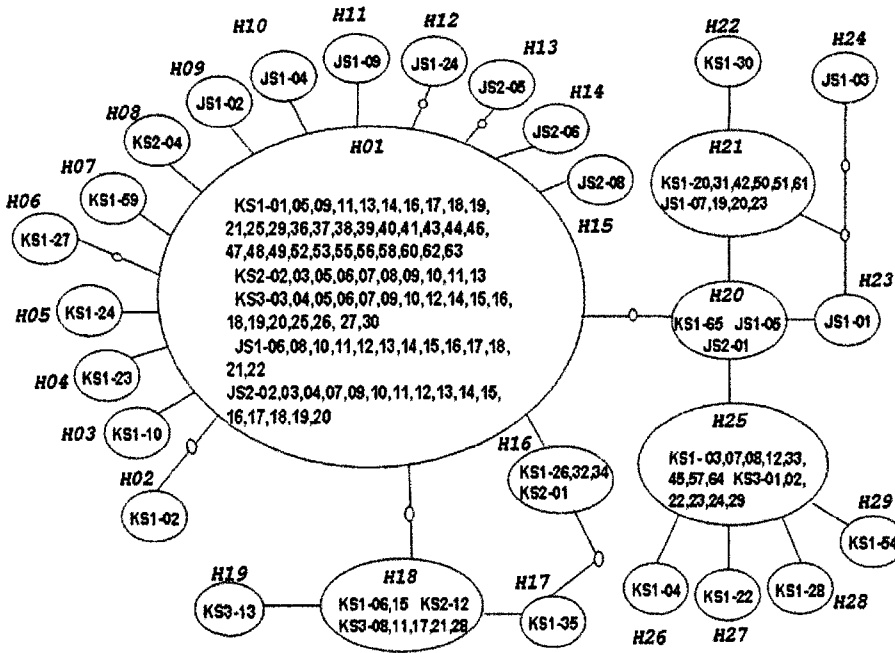


Fig. 3. Genetic relationship among the haplotypes in the Korea and Japan chum salmon (*O. keta*) constructed by the TCS program (ver 1.21; Clement *et al.*, 2000). Circles and lines indicate each haplotype and one nucleotide difference, respectively. Haplotype names are in italics and individual numbers are within the circle.

Table 4. Pairwise F_{ST} s among the chum salmon populations

	KS1	KS2	KS3	JS1	JS2
KS1					
KS2	0.02994				
KS3	0.01052	0.02687			
JS1	-	0.03063	0.04813		
JS2	0.05982	-	0.071122	0.05382	

* $P < 0.01$

로 나타났으며, 0과 유의한 차이를 보이지 않았다.

고찰

한국 연어의 소상하천간 유전적 차이점 혹은 유사성에 대한 연구는 그 동안 매우 미흡하였다. 일부 효소다형(isozyme)에 대한 연구(명 등, 1992; 성, 1996)와 핵의 18SrDNA와 미토콘드리아의 12SrDNA와 16SrDNA를 분석한 연구(Seong, 1999)가 있었으나 하천간의 유전 집단을 분석하기에는 한계가 있었으며 오히려 연어와 시마연어, 산천어, 무지개 송어 등 연어목 어류 종간의 관계를 보는 데 치중하였다. COIII-ND3-ND4L 지역을 대상으로 한 기존의 연구(Choi, 2002; 정 등, 2003)는 한국과 일본, 미국 등 각 국가별 연어의 유전적 차이를 보는 데 중점을 두어 국내 연어 집단 내의 상관성을 분석하는 데는 부족한 점이 많았다.

본 연구에서는 한국산 연어로서 양양 남대천과 고성 북천, 울진 왕피천에서 채집한 연어 108개체를 대상으로 미토콘드리아 유전자 COIII-ND3-ND4지역 약 720 bp의 염기서열을 분석하여 서로 비교함으로써 국내 소상하천간 연어들의 유전적 상관성을 살펴보았다. 또한, 이 결과를 일본의 홋카이도 지방 두 곳에서 채집된 연어 44개체의 유전자 염기서열 분석결과와 비교함으로써 한국연어와 일본연어의 유전적 유사성과 차이점을 밝힐 수 있었다. 특히, 양양 남대천

연어의 경우는 1999년, 2000년, 2001년, 2005년에 걸쳐 채집된 시료를 사용함으로써 채집년도에 따른 유사성도 살펴 볼 수 있었다.

미토콘드리아 DNA COIII-ND3-ND4지역의 염기서열 분석에서 한국 연어는 소상하천에 따라 서로 다른 유전적 집단으로 구분되지 않았으며, 전체 집단의 수준에서 한국 연어가 일본 연어와도 구분되지 않았다. 한국과 일본 연어에서 모두 동일한 haplotype을 50% 이상의 개체가 공유하고 있었다(한국 56.6%, 일본 65%). 채집지 간 혹은 한국과 일본 연어 그룹을 대상으로 한 AMOVA 분석(Excoffier *et al.* 1992)에서도 관측된 변이의 96.99%가 haplotype간 차이로 나타났으며, 한국과 일본 연어 두 그룹 간의 변이도와 채집지 별 변이도는 매우 낮게 나타났다. 또한, 한국과 일본 연어의 채집지 별 pairwise F_{ST} 값 역시 모든 비교 쌍에서 0.07 이하의 낮은 값을 보여 한국의 소상하천 간에 어떠한 독립적인 유전적 집단도 존재하지 않으며, 일본 연어와도 차이가 없는 것으로 나타났다(Table 4). 한국과 일본 연어의 유전적 유사성이 높은 이유는 두 집단이 분리된 후 시간이 오래되지 않아 변이가 축적될 시간이 충분치 않았을 가능성과 두 나라의 연어 집단 사이에 지금도 지속적인 개체의 이동이 일어나고 있을 가능성, 그리고 1985-1986년에 일본으로부터 100만 마리 이상의 인공종묘를 도입하여 양양 남대천에 방류함으로써 인위적인 유전자 교환이 일어났을 가능성 등으로 설명될 수 있다(정 등, 2003).

그런데, haplotype간의 유전적 유사성을 분석한 TCS 도표는 한국과 일본 연어 사이에 유전적으로 서로 다른 가계(lineage)의 개체들이 존재함을 보여주었다. 본 연구에서 드러난 모두 29개의 haplotype에서 집단특이적 변이를 공유하는 8개의 haplotype(H17~H19; H25~H29)이 한국 연어만으로 구성되었으며, 분석된 한국연어 시료의 약 25%가 이 haplotype에 속한 것으로 나타났다(Fig. 3). 일본 연어만으로 구성된 haplotype도 일부 있었으나 모두 1개의 개체만이 속한 개체특이적 변이(singleton)였다. 이러한 결과는 한국 연어와 일본 연어가 집단 수준에서는 구분되지 않지만, 각 개체의 유전적 조성을 고려한 개체별 가계(lineage) 수준에

서는 구분될 수 있는 가능성을 시사한다. 한국 연어로만 구성된 haplotype은 향후 한국 하천에서 바다로 내려온 연어집단을 일본 하천에서 내려온 연어집단과 구분하는데 유용한 분자마커로 이용될 수 있을 것이다.

TCS 분석 결과는 한국의 소상하천간 연어 집단 사이에도 가계 수준의 차이가 있을 수 있음을 보여준다. 한국 연어 특이적 haplotype 소그룹인 H17~H19에는 양양 남대천(KS1), 울진 왕피천(KS2), 고성 북천(KS3)의 연어가 모두 포함되어 있으나, 또 다른 소그룹인 H25~H29에는 양양 남대천(KS1)과 고성 북천(KS3)의 연어만이 포함되고 울진 왕피천(KS2)의 연어는 포함되지 않는다(Fig. 3; Table 2). 이러한 결과는 유전자 소그룹 H25~H29에 속하는 가계의 연어가 동해안의 모든 연어소상 하천에 분포하지 않고 동해 북부쪽으로 치우쳐 분포하고 있을 가능성을 보여준다. 이 결과는 또 한 명 등(1992)의 형태적 형질 연구와도 일치하고 있다. 명 등(1992)은 두장, 미병고, 기름지느러미의 길이, 주둥이 형질 등 한국산 연어의 형태적 형질을 분석하고 동해 연안의 연어 집단을 두 그룹으로 나누었다(양양 남대천, 고성 북천과 명주 주수천; 삼척 오십천, 울진 왕피천과 영덕 오십천).

본 연구의 결과는 비록 집단 수준에서는 한국의 소상하천간 연어의 유전적 차이가 없으며, 한국과 일본 연어 사이에도 유전적 차이가 없는 것으로 나타났으나 각 개체의 가계(lineage) 수준에서는 유전적 차이가 있음을 보여준다. 가계 수준의 유전적 차이는 그 개체들이 속한 집단을 구분하는 분자 마커로 활용될 수 있을 것이다. 앞으로 보다 여러 곳의 하천에서 시료를 채집하고 더 많은 시료를 분석한다면, 가계 수준의 집단 특이적 분자마커를 다양하게 확보할 수 있을 것이며, 그 결과는 우리나라가 북태평양소상어류위원회(NPAFC) 내에서 혹은 주변국과 어업 협정을 체결할 때 활용할 수 있는 구체적인 과학적 근거자료가 될 수 있을 것이다.

감사의 글

본 연구는 해양수산부 수산특정 연구개발사업(1999-2002)의 지원을 받아 수행되었으며, 연구에 사용한 연어 시료를 제공해 주신 국립수산물연구원 동해 수산연구소 연어연구센터의 성기백 박사님과 강수정 박사님께 감사의 말씀을 드립니다.

참고문헌

- 명정구, 박철원, 김병기, 홍경표. 1992. 한국산 연어류의 형태·분류학적 연구. 한국해양연구소 BSPE 00254-420-3, 160pp.
- 성기백. 1999. 한국산 연어의 생물학적 특성 및 집단유전학적 연구. 박사학위 논문, 부경대학교, 125pp.
- 성기백. 2004. 남대천에 연어가 올라오고 있어요. 보림출판사, 파주, 140pp.
- 성기백, 백국기, 홍관의, 이진호. 1998. 양양 남대천에 소상하는 연어의 소상량과 체장, 연령조성. 수진연구보고, 54: 131-139.
- 이원호. 2003. 우리나라 방류 연어의 계군 분석 및 생활장, 회유경로의 파악. 한국해양연구원 BSPG349-00-1561-3, 201pp.
- 정웅식, 이원호, 김수암, 진덕희, 성기백. 2003. 유전적 형질에 의한 북태평양 연어(chum salmon, *Oncorhynchus keta*)의 계군 구분. 한국수산학회지, 36(6): 578-585.

- 정웅식, 이원호, 신형철, 성기백, 김수암. 2001. Microsatellite DNA를 이용한 연어(*Oncorhynchus keta*, chum salmon)와 굽사연어(*O. gorbuscha*, pink salmon)의 구분. 한국수산학회지, 4(1): 30-41.
- Allendorf, F.W. and L.W. Seeb. 2000. Concordance of genetic divergence among sockeye salmon populations at allozyme, nuclear DNA, and mitochondrial DNA markers. *Evolution.*, 54: 640-651.
- Brown, W.M., E.M. Prage, A. Wang and A.C. Wilson. 1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: Tempo and mode of evolution. *J. Mol. Evol.*, 18: 225-239.
- Clement, M., D. Posada, and K.A. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.*, 9(10): 1657-1660.
- Choi, Y.S. 2002. Cloning and Nucleotide Sequence of Mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 3 DNA for Population Analysis of Chum salmon, (*Oncorhynchus keta*). Korea. MS. Thesis, Kangnung National University.
- Dominico, M.J. and R.B. Phillips. 1995. Phylogenetic analysis of Pacific salmon (*genus Oncorhynchus*) based on mitochondrial DNA sequence data. *Mol. Phylo. Evol.*, 4: 366-371.
- Excoffier, L., P.E. Smouse, and J.M. Quattro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, 131: 479-491.
- Hong K.P., J.G. Myuon, J.K. Son and C.W. Park. 1994. A biochemical study for the development of genetic marker in salmonids in Korea. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 27: 83-88.
- Jacobs, H.T., D.J. Elliott, V.B. Math and A. Farquharson. 1988. Nucleotide sequence and gene organization of sea urchin mitochondrial DNA. *J. Mol. Biol.*, 202: 185-217.
- Jung, W., Y.-H. Lee, S. Kim, D.H. Jin, K.B. Seong. 2003. Genetic identification of the North Pacific Chum Salmon (*Oncorhynchus keta*) Stocks. *J. Kor. Fish. Soc.*, 36(6): 578-585.
- Kang, S. and S. Kim, 2004. Comparison of biological characteristics of chum salmon, *Oncorhynchus keta* from the eastern and western North Pacific. *J. Korean Soc. Fish. Res.*, 6: 153-162.
- Kim, G.-E., Y.-H. Lee, G. Kang, C.-G. Kim, W. Jung, K.-B. Seong, J.E. Seeb, S. Kim, S. Kang. 2007. Genetic Diversity and Population Structure of the Chum Salmon in the North Pacific. NPAFC bulletin #4 (in press).
- Lee, H.J., J.Y. Park, J.H. Lee, K.S. Min, I.G. Jeon, M.A. Yoo and W.H. Lee. 2000. Phylogeny of the subfamily Salmonidae distributed in Korea based upon nucleotide sequences of mitochondrial ribosomal RNA genes. *J. Korean Fish. Soc.*, 33: 103-109.
- McKay, S.J., R.H. Devlin and M.J. Smith. 1996. Phylogeny of Pacific salmon and trout based on growth hormone type-2 and mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 3 DNA sequences. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 53: 1165-1176.
- Okazaki, T. 1983. Genetic structure of chum salmon *Oncorhynchus keta* river population. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 49: 1525-1535.
- Olsen, J.B., P. Bentzen and J.E. Seeb. 1998. Characterization of seven microsatellite loci derived from pink salmon. *Mol. Ecol.*, 7: 1083-1090.
- Sato, S., H. Kojima, J. Ando, H. Ando, R.L. Wilmot, L.W. Seeb, V. Efremov, L. LeClair, W. Buchholz, D. Jin, S. Urawa, M. Kae-

- riyama, A. Urano, and S. Abe. 2004. Genetic population structure of chum salmon in the Pacific Rim inferred from mitochondrial DNA sequence variation. *Environ. Biol. Fish.*, **69**: 37–50.
- Sato, S., J. Ando, H. Ando, S. Urawa, A. Urano and S. Abe. 2001. Genetic variation among Japanese populations of chum salmon inferred from the nucleotide sequences of the mitochondrial DNA control region. *Zool. Sci.*, **18**: 99–106.
- Schneider, S., D. Roessli, and L. Excoffier. 2000. Arlequin version 2.000: A software for population genetics data analysis. Genetics and Biometry Lab., Univ. of Geneva, Switzerland.
- Seo, H., S. Kim, K. Seong, and S. Kang. 2006. Variability in scale growth rates of chum salmon (*Oncorhynchus keta*) in relation to climate changes in the late 1980s. *Prog. in Oceanogr.*, **68**: 205–216.
- Slatkin, M. 1995. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies. *Genetics*, **139**: 457–462.
- Sunnucks, P. 2000. Efficient genetic markers for population biology. *TREE.*, **15**: 199–203.
- Tamura, K. and M. Nei. 1993. Estimation of the number of the nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.*, **10**: 512–526.
- Urawa, S., 2000. Ocean migration route of Japanese chum salmon with a reference to future salmon research. Nat. Salmon Resources Center Newsletter, **5**: 3–9. (in Japanese)
-
- 2007년 5월 7일 원고접수
2007년 5월 18일 수정본 채택
담당편집위원: 김수암