

BSPE99771-12262-3

CUFES를 이용한 인도-태평양 어류의 산란 가입

2020. 02. 28

주관연구기관 / 한국해양과학기술원

한국해양과학기술원

제 출 문

한국해양과학기술원장 귀하

본 보고서를 “CUFES를 이용한 인도-태평양 어류의 산란가입” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2020. 02. 28

연구책임자: 김 성

참여연구원: 최혜영

오지나

장요순

보고서 초록

| | | | | | |
|---|-----------------------|--|-------------------------------|-----------|-----------------------------------|
| 과제고유번호 | BSPE99771-12262-3 | 해당단계 연구기간 | 2017.03.01 - 2019.12.31 | 단계 구분 | 없음 |
| 연구사업명 | 중사업명 | 기관고유사업 | | | |
| | 세부사업명 | 주요사업(고유임무형사업) | | | |
| 연구과제명 | 중과제명 | (미래선도사업) 해양과학기술의 미래 연구주제 발굴 | | | |
| | 세부과제명 | CUFES를 이용한 인도-태평양 어류의 산란가입 | | | |
| 연구책임자 | 김 성 | 해당단계 참여연구원수 | 총 : 4 명 내부: 2 명 외부: 2 명 | 해당단계 연구비 | 정부: 120,000천원 기업: 천원 계 : 천원 |
| | | 총연구기간 참여연구원수 | 총 : 4 명 내부: 2 명 외부: 2 명 | 총 연구비 | 정부: 120,000천원 기업: 천원 계 : 천원 |
| 연구기관명 및 소속부서명 | 한국해양과학기술원 해양생태연구센터 | | 참여기업명 | | |
| 위탁연구 | | | | | |
| 요약(연구결과를 중심으로 개조식 500자 이내) | | | | 보고서 면수 | 43 |
| <ul style="list-style-type: none"> ○ 어류 자원보호의 첫걸음은 산란가입 종 분석 ○ 어류 종별 산란가입의 직접 증거는 어란의 시공간 분포로 확보가 용이함 ○ 많은 종류의 해양 경골어류가 번식을 위해 대량의 부유성 알을 방출하기 때문임 ○ 어란 채집은 쉽지만 형태형질로 종수준의 동정이 가능한 종은 소수 ○ 본 연구를 위해 인도-태평양 이동항로(2017-2019년)에서 수집한 296점의 표본에서 추출한 어란 4,519개와 통영해양생물자원기지(2013-2019년)에서 2주 간격으로 채집한 1,214점의 표본에서 추출한 어란 75,245개를 형태형질과 분자마커로 동정 ○ 어란 채집기기는 CUFES(Continuous Underway Fish Egg Sampler) ○ 형태형질이 뚜렷한 멸치 알은 형태형질과 분자마커로 동정 ○ 멸치 이외의 어란은 종 동정을 위해 COI이나 16S영역의 염기서열 분석 ○ 어란의 염기서열 분석 방법: 단일 어란은 Sanger sequencing(SS), 혼합 어란은 차세대유전자염기서열분석(NGS) ○ SS와 NGS로 확보한 대량 염기서열을 COI reference library(75,869건)와 비교하여 종 동정 ○ 동정한 어란은 인도-태평양 항로 195종, 통영해양생물자원기지 72종 등 총 252종 ○ 인도-태평양에서 출현빈도가 높은 어란은 <i>Katsuwonus pelamis</i>, <i>Cubiceps pauciradiatus</i>, <i>Gempylus serpens</i>, <i>Thunnus</i> spp. 등 ○ 통영해양생물자원기지에서 출현빈도가 높은 어란은 <i>Engraulis japonicus</i>, <i>Parapercis multifasciata/sexfasciata</i>, <i>Pagrus major</i>, <i>Pseudorhombus pentophthalmus</i>, <i>Cynoglossus interruptus</i>, <i>Callionymus beniteguri/valenciennei</i>, <i>Sillago japonica/sihama</i> 등 ○ 종 수준으로 동정한 어란의 출현정보는 어류 종별 산란시기와 산란장 탐색에 유용한 지표 | | | | | |
| 색인어 (각 5개 이상) | 한 글 | 단일어란, 혼합어란, 어란연속채집기, COI reference library, NGS | | | |
| | 영 어 | Single fish egg, mixed fish eggs, continuous underway fish egg sampler, COI reference library, NGS | | | |

요 약 문

I. 제목: CUFES를 이용한 인도-태평양 어류의 산란가입

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1. 연구개발의 목적

이사부호의 이동항로(인도-태평양)와 통영해양생물자원기지에서 CUFES로 수집한 어란 동정과 어류의 종별 산란생태 모니터링을 위한 어란 메타바코딩

2. 연구개발의 필요성

어류 자원보호의 첫 걸음은 산란가입 종 분석이다. 산란가입의 직접 증거는 어란의 시공간 분포로 확보가 용이하다. 많은 종류의 해양 경골어류가 번식을 위해 대량의 부유성 알을 방출하기 때문이다. 어란 채집은 쉽지만, 형태형질로 종수준의 동정이 가능한 종은 소수에 불과하다. 본 연구에서 분자마커와 형태형질을 이용하여 대량의 어란 표본을 종 수준으로의 동정을 시도하였다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

1. 연구 기간

2017. 03. 01 ~ 2019. 12. 31

2. 연구 개발의 내용 및 범위

이사부호의 인도-태평양 향료와 통영해양생물자원기에서 CUFES로 어란 수집
어란 중 동정을 위한 어류의 COI reference library 제작

어란의 염기서열 분석

- 개별 어란: Sanger sequencing (SS)
 - 혼합 어란: 차세대유전자염기서열분석(NGS)
 - 어란 중 동정 분자마커: COI, 16S rRNA
- 어란의 중 동정
- 멸치 알은 형태형질로 동정
 - 단일 어란은 COI과 16S rRNA 염기서열의 종내 종간 유전적 변이
 - 혼합 어란은 대량의 COI 염기서열을 COI reference library와 비교하여 중 동정

IV. 연구개발결과

CUFES로 채집한 어란은 인도-태평양 이사부호 향료 4,519개, 통영해양생물자원
기지 75,245개 등 총 79,764개

어류 중 동정 용 COI reference library 75,869건 작성

동정한 어란은 인도-태평양 향료 195종, 통영해양생물자원기지 72종 등 총 252종
인도-태평양에서 출현빈도가 높은 어란은 *Katsuwonus pelamis*, *Cubiceps*

pauciradiatus/squamiceps, *Gempylus serpens*, *Thunnus* spp. 등

통영해양생물자원기지에서 출현빈도가 높은 어란은 *Engraulis japonicus*, *Parapercis*
multifasciata/sexfasciata, *Pagrus major*, *Pseudorhombus pentophthalmus*, *Cynoglossus*
interruptus, *Sillago japonica/sihama*, *Callionymus beniteguri/valenciennei* 등

S U M M A R Y

The spawning information of fishes is a key indicator for resource protection and management. Accurate spawning data can be obtained through the distribution of fish eggs. It is because lots of marine teleost release large amounts of pelagic eggs for breeding. Fish egg collection is easy, but its identification using morphological characteristics is very difficult. So, we explored fish eggs on the Indo-Pacific shipping lane (IPSL) in 2017-2019 and at the Tongyoung Marine Living Resource Station (TMLRS) in the south coastal area of Korea in 2013-2019. Total of 79,764 eggs were collected by the CUFES, which were identified by the morphological characteristics and the molecular markers (COI or 16S rRNA). The fish eggs identified by two methods was a total of 252 species composed of 195 species on the IPSL and 72 species at the TMLRS. The fish eggs with a high frequency of appearance were *Katsuwonus pelamis*, *Cubiceps pauciradiatus*, *Gempylus serpens*, and *Thunnus* spp. in the IPSL and *Engraulis japonicus*, *Parapercis multifasciata/sexfasciata*, *Pagrus major*, *Pseudorhombus pentophthalmus*, *Cynoglossus interruptus*, *Callionymus beniteguri/valenciennei*, and *Sillago japonica/sihama* at the TMLRS. The fish eggs identified as the species level will be a useful indicator for searching spawning area and season of fishes.

C O N T E N T S

| | |
|--|------|
| Summary | i |
| Contents | v |
| List of Figures | vii |
| List of Tables | viii |
| | |
| Chapter 1. Outline of the study | 1 |
| Section 1. Necessities of the study | 3 |
| Section 2. Objectives of the study | 4 |
| | |
| Chapter 2. Status of domestic and oversea technology | 5 |
| Section 1. Trends of study in Korea | 7 |
| Section 2. Trends of study in foreign countries | 7 |
| | |
| Chapter 3. Content and results of the study | 9 |
| Section 1. Material and methods | 11 |
| Section 2. Species composition of fish eggs on the Indo-Pacific shipping lanes | 15 |
| Section 3. Monitoring of fish spawning based on metabarcoding of fish eggs | 26 |
| Section 4. Discussion | 32 |
| | |
| Chapter 4. Application plan and ripple effect of the study results | 35 |
| Section. 1. Application plans of the study results | 37 |
| Section 2. Ripple effects of the study results | 37 |
| | |
| Chapter 5. References | 40 |

목 차

| | |
|---------------------------------------|------|
| 요약문 | i |
| 목차 | v |
| List of Figures | vii |
| List of Tables | viii |
| | |
| 제1장 서 론 | 1 |
| 제1절 연구개발의 필요성 | 3 |
| 제2절 연구개발의 목표 및 내용 | 4 |
| | |
| 제2장 국내외 연구 동향 | 5 |
| 제1절 국내 동향 | 7 |
| 제2절 국외 동향 | 7 |
| | |
| 제3장 연구 수행 내용 및 결과 | 9 |
| 제1절 재료 및 방법 | 11 |
| 제2절 인도-태평양 이사부호 향로의 어란 종 조성 | 15 |
| 제3절 어류의 종별 산란 모니터링을 위한 어란 메타바코딩 | 26 |
| 제4절 토의 | 32 |
| | |
| 제4장 연구개발결과의 활용계획 및 파급효과 | 35 |
| 제1절 연구개발 결과의 활용계획 | 37 |
| 제2절 연구개발 결과의 파급효과 | 37 |
| | |
| 제5장 참고문헌 | 39 |

List of Figures

| | |
|---|----|
| Fig. 3.1.1. A map showing the sampling stations in 2017-2019 | 12 |
| Fig. 3.1.2. Lab of RV/ISABU used for fish egg sampling, gDNA extraction, and PCR ... | 13 |
| Fig. 3.1.3. FastTree of fish COI barcode reference library | 14 |
| Fig. 3.2.1. Morphological characteristics of fish eggs identified by DNA barcode | 16 |
| Fig. 3.2.2. Relative abundance of fish eggs in June 2017 | 23 |
| Fig. 3.2.3. Relative number of species of fish eggs in June 2017 | 23 |
| Fig. 3.2.4. Relative abundance of fish eggs in March 2018 | 24 |
| Fig. 3.2.5. Relative number of species of fish eggs in March 2018 | 24 |
| Fig. 3.2.6. Relative abundance of fish eggs in the Indian Ocean in March 2019 and the Northwestern Pacific Ocean in October 2019 | 25 |
| Fig. 3.2.7. Relative number of species of fish eggs in the Indian Ocean in March 2019 and the Northwestern Pacific Ocean in October 2019 | 25 |
| Fig. 3.3.1. Annual variation of surface seawater temperature at the Tongyoung in 2013-2019 | 26 |
| Fig. 3.3.2. Annual variation of fish egg abundance at the Tongyoung in 2013-2019 | 27 |
| Fig. 3.3.3. Annual variation of fish egg species at the Tongyoung in 2013-2019 | 29 |
| Fig. 3.3.4. Principal component analysis on the spawning time of the 32 species | 30 |
| Fig. 3.3.5. Probability density function on the spawning pattern of the 32 species | 31 |

List of Tables

| | |
|--|----|
| Table 3.1.1. Primers for amplifying barcode regions of fish eggs | 13 |
| Table 3.2.1. Over view of DNA barcoding of the fish eggs collected by the CUFES on the Indo-Pacific shipping lane of the RV/ISABU | 15 |
| Table 3.2.2. Species composition of fish eggs in the Indo-Pacific in 2017-2019 | 17 |
| Table 3.2.3. Species list of fish eggs identified by DNA barcoding in 2017-2019 | 18 |
| Table 3.3.1. Species composition of fish eggs at the Tongyoung in 2013-2019 | 27 |
| Table 3.3.2. Abundance and occurrence frequency of fish eggs at the Tongyoung in 2013-2019 | 28 |

제1장 서론

제1장 서론

제1절 연구개발의 필요성

1.1.1. 기술적 측면

어란은 어류 산란의 직접 증거(Tsukamoto et al., 2011)

어란은 형태형질이 유사하여 소수의 종만 종 수준의 동정 가능(Okiyama, 2014)

형태형질이 유사한 어란(Okiyama, 2014)도 분자마커를 이용하면 종수준의 동정 가능(Shao et al., 2002; Kawakami et al., 2010)

대표적인 연구 사례는 뱀장어 산란장 규명의 핵심 증거인 동종의 어란을 북서태평양에서 채집하여 분자마커로 종 확인(Tsukamoto et al., 2011)

최근 어류 산란장 탐색이나 해양보호구역 설정을 위해 종 수준의 어란 동정 요구가 날로 높아짐(Lee and Kim, 2014; Harada et al., 2015; Lin et al., 2016; Lewis et al., 2016)

1.1.2. 경제·산업적 및 사회문화적 측면

어류의 종별 산란생태정보는 어류자원보호를 위한 해양보호구역 지정과 금어기 설정 등 정책개발의 필수 자료

전통적으로 금어기 설정에 필요한 어류의 종별 산란생태 정보를 성어의 어획통계와 생식소속도지수 분석 등을 통해 얻고 있음

현재 어류자원의 지속적 이용과 관리를 위한 종별 산란장과 산란시기 등의 산란생태 정보가 축적된 종은 멸치와 고등어 등 매우 제한적임

본 연구를 통해 확보한 다양한 어류 종별 산란생태 정보 제공

제2절 연구개발의 목표 및 내용

1.2.1. 연구개발의 목표

이사부호의 이동항로(인도-태평양)와 통영해양생물자원기지에서 CUFES로 수집한 어란의 종 동정과 어란을 이용한 어류의 종별 산란생태 모니터링

1.2.2. 연구개발의 내용 및 범위

어란 시료 확보

- 이사부호의 인도-태평양 항로에서 CUFES로 채집(2017-2019년)
- 통영해양생물자원기지서 CUFES로 수집한 어란 표본(2016-2019년)
- 통영해양생물자원기지 어란의 MiSeq Data(2013-2015년)

어란 종 동정을 위한 어류의 COI reference library 제작

어란의 염기서열 분석

- 개별 어란은 Sanger sequencing (SS)
- 혼합 어란은 차세대유전자염기서열분석(NGS)
- 어란 종 동정용 분자마커: COI과 16S rRNA

어란의 종 동정 기준

- 멸치 알은 형태형질
- 단일 어란은 분자마커(COI과 16S rRNA) 염기서열의 종내 종간 유전적 변이
- 혼합 어란은 NGS로 확보한 대량의 COI 염기서열을 COI reference library와 비교수은자료 확보

통영해양생물자원기지와 인접한 국립수산과학원의 학림(34°44.99'N 128°14.78'E)

모니터링 자료를 2주 간격으로 평균 함

제2장 국내외 연구 동향

제2장 국내외 연구 동향

제1절 국내 동향

어란은 어류의 산란 생태를 모니터링 할 수 있는 직접 증거임. 한반도 주변해역에서 멸치와 앨통이를 제외한 대부분의 어란을 형태형질로 종 수준으로 동정하는 것은 매우 어려움. 대안으로 자치어를 이용하여 산란장과 산란시기를 연구함. 최근 분자마커를 이용하여 단일 어란의 종 동정(Han et al., 2015; Lee and Kim, 2014; Lee et al., 2014; Oh and Kim, 2015; Choi et al., 2018). 개별 어란을 분자마커로 분석하는 것은 정확도가 높음. 많은 어란 표본을 분석하는 것은 많은 시간과 비용이 필요함. 최근 이를 극복하기 위해 한국해양과학기술원에서는 메타바코딩으로 대량 혼합 어란을 동정하여 다양한 어류의 종별 산란시기 분석(KIOST, 2013)

제2절 국외 동향

대부분의 해산어류 알은 형태형질로는 종 구분이 매우 어렵고 형태형질이 독특한 소수의 종만 종 수준으로 동정 가능(Okiyama, 2014). 분자마커를 이용하여 어란을 종 수준으로 분석하려는 시도가 증가하고 있음(Shao et al., 2001; Kawakami et al., 2010). 최근에는 어류의 산란장 탐색이나 해양보호구역 지정을 위해 어란을 종 수준으로 동정(Harada et al., 2015; Lin et al., 2016; Lewis et al., 2016)

제3장 연구 수행 내용 및 결과

제3장 연구 수행 내용 및 결과

제1절 재료 및 방법

어란 시료는 이사부호의 인도-태평양 항로(Fig. 3.1.1)와 한국해양과학기술원 통영해양생물자원기지(34°46'12"N 128°22'59"E)에서 수집한 두 종류이다.

전자의 어란은 이사부호에 장착된 CUFES(Continuous Underway Fish Egg Sampler; 망목, 400um; 수심 3m)로 수집하였다. 후자는 수중 펌프를 이용한 어란 수집기(망목, 400um)로 수심 3m 깊이에서 평균 2주 간격으로 수집하여 분석한 혼합 어란의 NGS 자료(2013-2015)와 어란 표본(2016-2019년)이다.

수집한 어란은 현장에서 해부현미경을 이용하여 동물플랑크톤과 분리하거나, 95%에탄올에 보관하였다. 분리한 어란 동정을 위해 단일 어란이나 혼합 어란에서 gDNA 추출 후 PCR을 실시하였다(Fig. 3.1.2). 분석한 어란은 총 79,764개(이사부호 항로, 4,519개; 통영해양생물자원기지, 75,245개)였다. 이 중에서 멸치알 16,632개는 형태형질로 동정하였다.

혼합 어란 시료는 평균 643개(6-3,725개/시료; 총 어란수 66,206개; positive control, 멸치알)였다. 이들 개별 어란과 혼합 어란 시료의 유전자 추출은 TIANamp Marine Animal DNA Kit (TIANGEN)의 방법에 따라 진행하였다. 개별 어란과 혼합 어란의 PCR 프라이머는 Table. 3.1.1과 같다.

PCR 산물의 염기서열은 단일 표본의 경우 Sanger sequencing(3730xl DNA Analyzer, Applied Biosystems, USA)으로, 혼합 표본은 NGS(Next-Generation Sequencing; MiSeq, Illumina, USA)으로 확보하였다. NGS로 확보한 대량의 혼합어란 COI 염기서열(313bp)을 어류의 COI reference library(Fig. 3.1.3)와 비교하여 종판별의 기초인 OTU (Operational Taxonomic Unit)를 작성하였다. OTU 작성에 Mothur (Schloss et al. 2007)를 이용하였다.

어류의 COI barcode reference library를 NCBI/GenBank에서 추출(2019년 6월)한 200,248건의 COI 염기서열로 만들었다. 프라이머(mlCOIintF와 jgHCO2198) 외측 영역의 염기서열을 제거하였다. 제거 후 염기서열의 길이는 252-368 bp였다. 이들 염기서열에서 동일한 것을 찾아 제거 하고 남은 75,810건을 MAFFT(Katoh and Standley, 2013)로

정렬하였다. 이 모든 과정은 Geneious (Version 11.1.5; Kearse et al., 2012)를 이용하였다.

COI reference library와 비교하여 추출한 OTU를 종으로 결정하기 위해 유사종의 염기서열을 BLAST로 검색하여 추출하였다. 이들 염기서열을 Clustalw (Thompson et al., 1994)로 정렬한 후 Neighbor-Joining tree (Saitou and Nei, 1987)를 작성하였다. 종 결정에 NJ-tree에서 OTU 염기서열의 위치, 어류의 종간 종내 COI 마커의 유전적 차이 (Ward et al., 2005), 성어의 지리분포 등을 참고하였다. 유사도가 98% 미만인 것은 미동정 종으로 결정하였다. 어류의 종명은 Eschmeyer et al. (2020)을 참고하였다. OTU reads의 구성비를 NGS 분석에 사용한 표본에 적용하여 어란의 종별 개체수를 추정하였다.

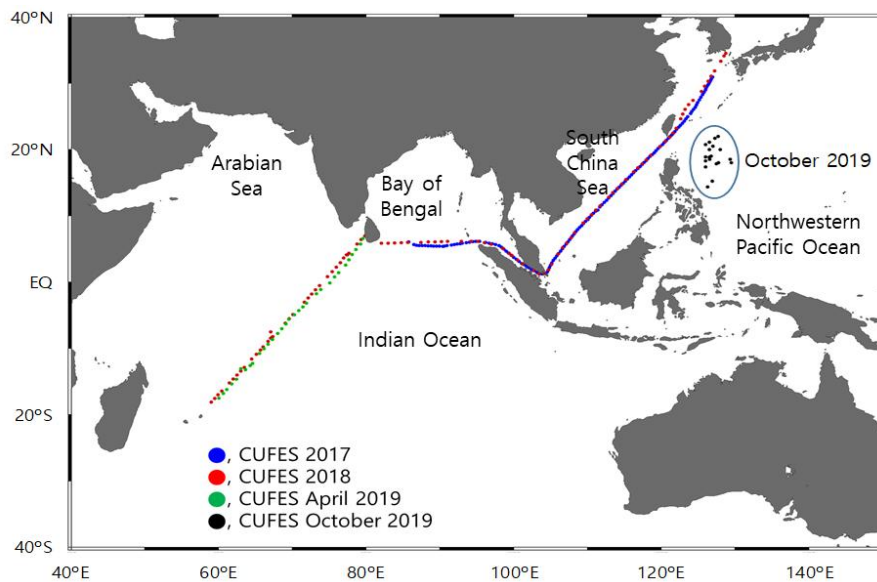


Fig. 3.1.1. Map showing the sampling stations in 2017-2019.

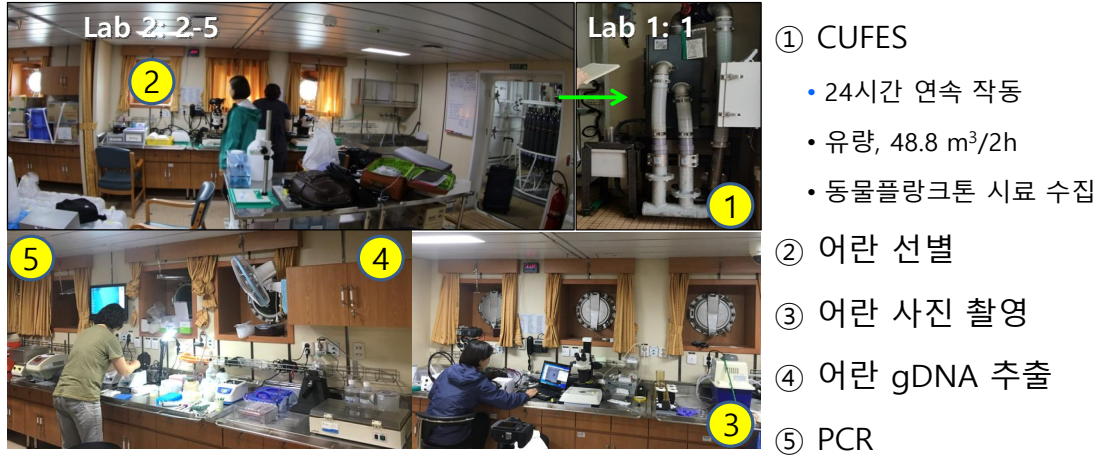


Fig. 3.1.2 Lab of RV/ISABU used for fish egg sampling, gDNA extraction, and PCR.

Table 3.1.1 Primers for amplifying barcode regions of fish eggs

| Region | Sample | Sequence(5'-3') | Reference |
|------------|------------|--|--|
| COI | Single egg | VF2_t1: TGTA AACGACGGCCAGTCAACCAACCACAAAGACATTGGCAC | Ivanova et al. (2007) |
| | | FishF2_t1: TGTA AACGACGGCCAGTCTGACTAATCATAAAGATATCGGCAC | |
| | | FishR2_t1: CAGGAAACAGCTATGACACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA | |
| | | FR1d_t1: CAGGAAACAGCTATGACACCTCAGGGTGTCCGAARAAYCARAA | |
| Mixed eggs | | ILMN pre-adapter(TCGTCGGCAGCGTC)-Sequencing primer (AGATGTGTATAAGAGACAG)- | Klindworth et al. (2013); Geller et al. (2013) |
| | | COI primer(jgHCO2198, TAIACYTCIGGRTGICCRAARAAYCA) | |
| | | ILMN pre-adapter(GTCTCGTGGGCTCGG)-Sequencing primer (AGATGTGTATAAGAGACAG)- | Klindworth et al. (2013); Leray et al. (2013) |
| | | COI primer(mlCOIintF, GGWACWGGWTGAACWGTWTAYCCYCC) | |
| 16S | Single egg | 16Sar-L: CGCCTGTTTATCAAAAACAT | Palumbi (1996) |
| | | 16Sbr-H: CCGGTCTGAACTCAGATCACGT | |

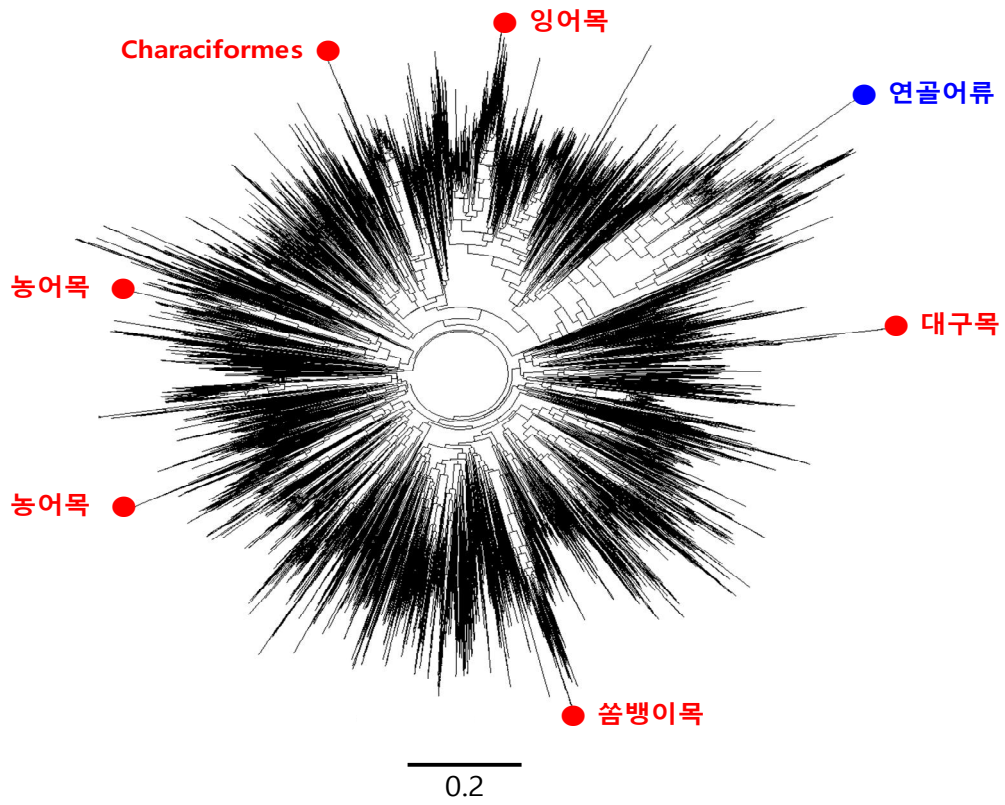


Fig. 3.1.3. FastTree of fish COI barcode reference library.

제2절 인도-태평양 이사부 항로의 어란 종 조성

2017년부터 2019년에 총 4회의 이사부호 항로에서 수집한 어란은 총 4,519개였다. 이 중에서 SS(Sanger sequencing)로 분석한 것은 1,185개, NGS(Next generation sequencing)로 분석한 혼합 어란은 총 2,960개였다. 어란의 SS 실패율은 3.6-34.1%였다 (Table 3.2.1).

Table. 3.2.1 Overview of DNA barcoding of the fish eggs collected by the CUFES on the Indo-Pacific shipping lane of the RV/ISABU

| Sampling time | Sampling stations | Number of eggs | Methods | | Fail of SS(%) |
|---------------|-------------------|----------------|---------|----------|---------------|
| | | | SS eggs | NGS eggs | |
| June 2017 | 142 | 2,349 | 436 | 1,687 | 226 (34.1) |
| April 2018 | 103 | 1,721 | 443 | 1,155 | 124 (21.9) |
| April 2019 | 32 | 339 | 200 | 118 | 21 (9.5) |
| October 2019 | 19 | 110 | 106 | 0 | 4 (3.6) |
| Total | 296 | 4,519 | 1,185 | 2,960 | 375 (24.0) |

SS, Sanger sequencing; NGS, Next generation sequencing

COI 바코드로 분석한 어란은 총 14목에 73과의 195종이다. 종 동정이 불가능한 분류군은 조사 시기별로 1 - 15종이다. 종 다양성이 가장 높은 분류군은 농어목으로 47과에 144종이다(Table 3.2.2).

2017년 항해중인 이사부호 선상에서 촬영한 알 표본 677개의 COI 바코드 분석 결과 어란 91종과 동물플랑크톤 2 종이다. 이들 표본의 형태는 대부분 구형이다 (Fig. 3.2.1). 이 중에서 타원형인 *Stolephorus waitei* 어란(Fig. 3.2.1의 3), 표면이 6각 구조인 *Oxyporhamphus micropterus* 어란(Fig. 3.2.1의 13) 등이 있다. 어란과 난경이 유사한 동물플랑크톤 알도 있다(Fig. 3.2.1의 92-93).

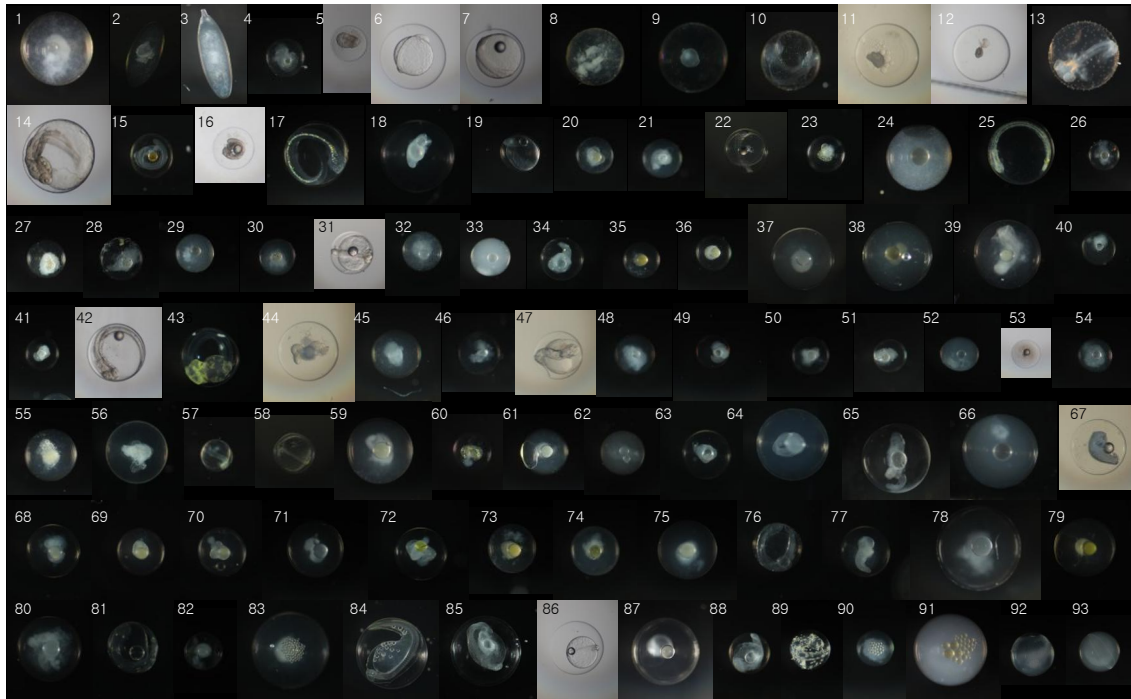


Fig. 3.2.1. Morphological characteristics of fish eggs identified by DNA barcode.

1. *Dussumieria* sp.;
2. *Encrasicholina punctifer*;
3. *Stolephorus waitei*;
4. *Thryssa kammalensis*;
5. *Vinciguerria* sp.;
6. *Chauliodus sloani*;
7. *Photonectes albipennis*;
8. *Synodus hoshinonis*;
9. *Synodus macrops*;
10. *Trachinocephalus myops*;
11. *Lampris guttatus*;
12. *Trachipterus* sp.;
13. *Oxyporhamphus micropterus*;
14. *Prognichthys* sp.;
15. *Antigonia capros*;
16. *Antigonia rubicunda*;
17. *Fistularia petimba*;
18. *Pterygotrigla hemisticta*;
19. *Epinephelus* sp.;
20. *Terapon jarbua*;
21. *Terapon* sp.;
22. Priacanthidae sp.;
23. *Sillago sihama*;
24. *Rachycentron canadum*;
25. *Echeneis naucrates*;
26. *Atropus atropus*;
27. *Atule mate*;
28. *Carangoides armatus*;
29. *Carangoides malabaricus*;
30. *Caranx sexfasciatus*;
31. *Decapterus kurroides*;
32. *Decapterus macarellus*;
33. *Decapterus macrosoma*;
34. *Decapterus maruadsi*;
35. *Megalaspis cordyla*;
36. *Selar crumenophthalmus*;
37. *Seriola dumerili*;
38. *Coryphaena equiselis*;
39. *Coryphaena hippurus*;
40. *Photopectoralis* cf.;
41. *Secutor ruconius*;
42. *Brama dussumieri*;
43. *Brama* sp.;
44. *Pterycombus* sp.;
45. *Lutjanus erythropterus*;
46. *Pristipomoides multidentis*;
47. *Pristipomoides* sp.;
48. *Caesio caeruleaurea*;
49. *Dipterygonotus balteatus*;
50. *Pomadasys* sp.;
51. *Scolopsis vosmeri*;
52. *Parupeneus heptacanthus*;
53. *Upeneus japonicus*;
54. *Upeneus sulphureus*;
55. *Monodactylus argenteus*;
56. *Uranoscopus* sp.;
57. Callionymidae sp.;
58. *Callionymus kaianus*;
59. *Platax teira*;
60. *Sphyaena chrysotaenia*;
61. *Sphyaena* sp.;
62. *Gempylus serpens*;
63. *Nealotus tripes*;
64. *Benthodesmus* sp.;
65. Trichiuridae sp.;
66. *Trichiurus japonicus*;
67. *Acanthocybium solandri*;
68. *Auxis rochei*;
69. *Auxis thazard*;
70. *Euthynnus affinis*;
71. *Gymnosarda unicolor*;
72. *Katsuwonus pelamis*;
73. *Rastrelliger kanagurta*;
74. *Rastrelliger* sp.;
75. *Scomberomorus commerson*;
76. *Thunnus albacares*;
77. *Thunnus tonggol*;
78. *Xiphias gladius*;
79. *Istiophorus platypterus*;
80. *Makaira nigricans*;
81. *Psenopsis anomala*;
82. *Cubiceps* sp.;
83. *Aseraggodes* sp.;
84. Unclassified sp. A;
85. Unclassified sp. B;
86. Unclassified sp. C;
87. Unclassified sp. D;
88. Unclassified sp. E;
89. Unclassified sp. F;
90. Unclassified sp. G;
91. Unclassified sp. H;
92. Zooplankton sp.1 G;
93. Zooplankton sp. 2.

Table. 3.2.2 Species composition of fish eggs in the Indo-Pacific in 2017-2019

| Order | Family | Species |
|-------------------|--------|---------|
| Anguilliformes | 3 | 3 |
| Aulopiformes | 2 | 6 |
| Beloniformes | 2 | 3 |
| Clupeiformes | 3 | 9 |
| Gadiformes | 1 | 1 |
| Lampriformes | 2 | 4 |
| Mugiliformes | 1 | 1 |
| Ophidiiformes | 1 | 1 |
| Perciformes | 47 | 144 |
| Pleuronectiformes | 3 | 7 |
| Scorpaeniformes | 2 | 3 |
| Stomiiformes | 3 | 10 |
| Syngnathiformes | 1 | 1 |
| Tetraodontiformes | 2 | 2 |
| Unidentified spp. | | 1 - 15 |
| Total | 73 | 195 |

조사 시기별로 출현 종 수는 15 - 142종으로 변화폭이 크고 종 구성은 큰 차이가 있다. 4회 조사에서 인도양과 태평양 모두 출현한 어란은 가다랑어 (*Katsuwonus pelamis*) 한 종이다. 3회의 조사에서 출현한 종은 *Taractichthys steindachneri*, *Decapterus macarellus*, *Selar crumenophthalmus*, *Coryphaena equiselis*, *Coryphaena hippurus*, *Gempylus serpens*, *Oxyporhamphus convexus/micropterus*, *Makaira nigricans*, *Cubiceps pauciradiatus/squamiceps*, *Vinciguerria* sp., *Acanthocybium solandri*, *Thunnus* sp. 등의 12종이다. 나머지 종들은 1 - 2회의 조사에서 출현하였다(Table 3.2.3).

Table 3.2.3. Species list of fish eggs identified by DNA barcoding in 2017-2019

| Species | Frequency (%) | | | |
|--|---------------|-----------|------------|--------------|
| | June 2017 | March2018 | April 2019 | October 2019 |
| <i>Acanthocybium solandri</i> | 0.7 | 2.9 | 3.1 | |
| <i>Amarsipus carlsbergi</i> | | 1.0 | 3.1 | |
| <i>Antigonia capros</i> | 0.7 | 1.0 | | |
| <i>Antigonia rubicunda</i> | 0.7 | 1.0 | | |
| <i>Aseraggodes kaianus</i> | 0.7 | | | |
| <i>Atropus atropos</i> | 1.4 | | | |
| <i>Atule mate</i> | 0.7 | | | |
| <i>Auxis rochei</i> | 13.4 | 2.9 | | |
| <i>Auxis thazard</i> | 2.1 | | | |
| <i>Benthodesmus tenuis</i> | 0.7 | 1.9 | | |
| <i>Bleekeria</i> sp. | 0.7 | 1.0 | | |
| <i>Brama dussumieri</i> | 7.7 | 6.8 | | |
| <i>Brama japonica</i> | | | | 5.3 |
| <i>Brama orcini</i> | | 1.0 | | |
| <i>Brama</i> sp. | 3.5 | 4.9 | | |
| <i>Caesio caeruleaurea</i> | 0.7 | 1.9 | | |
| <i>Caesio xanthonota</i> | | 2.9 | | |
| <i>Callanthias japonicus</i> | | 1.9 | | |
| <i>Callionymus kaianus</i> | 1.4 | 1.9 | | |
| <i>Caprodon</i> sp. | | 1.0 | | |
| <i>Carangidae unidentifed</i> sp. | 0.7 | | | |
| <i>Carangoides malabaricus</i> | 0.7 | 1.0 | | |
| <i>Caranx sexfasciatus</i> | 0.7 | | | |
| <i>Centrogenys vaigiensis</i> | | 1.0 | | |
| <i>Chauliodus sloani</i> | 1.4 | 1.0 | | |
| <i>Chauliodus</i> sp. | 2.8 | 1.9 | | |
| <i>Cheilopogon</i> sp. | 0.7 | 5.8 | | |
| <i>Chelmon rostratus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Cleisthenes pinetorum</i> | | 1.9 | | |
| <i>Coelorinchus multispinulosus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Cookeolus japonicus/</i> | | | | |
| <i>Heteropriacanthus cruentatus</i> | 1.4 | | | |
| <i>Coryphaena equiselis</i> | 4.9 | 6.8 | 6.3 | |
| <i>Coryphaena hippurus</i> | 2.8 | 2.9 | 3.1 | |
| <i>Cubiceps baxteri/capensis</i> | | 1.9 | | |
| <i>Cubiceps pauciradiatus/squamiceps</i> | 18.3 | 15.5 | 21.9 | |
| <i>Decapterus kurroides/tabl</i> | | 1.0 | | |
| <i>Decapterus macarellus</i> | 1.4 | | 3.1 | 10.5 |
| <i>Decapterus macrosoma</i> | 1.4 | 2.9 | | |
| <i>Decapterus maruadsi/russelli</i> | 4.2 | 8.7 | | |
| <i>Decapterus tabl</i> | 0.7 | | | |
| <i>Desmodema polystictum</i> | | | 3.1 | |
| <i>Dexistes rikuzenius</i> | | 1.0 | | |
| <i>Dinematichthys ilucoeteoides</i> | | 1.9 | | |
| <i>Diodon hystrix</i> | | 1.0 | 3.1 | |
| <i>Diplophos</i> sp. | 0.7 | | | |
| <i>Diplophos taenia</i> | | 1.0 | | |
| <i>Dipterygonotus balteatus</i> | 0.7 | 1.9 | | |
| <i>Drepane punctata</i> | | 1.9 | | |

Table 3.2.3. Continued

| Species | Frequency (%) | | | |
|---|---------------|-----------|------------|--------------|
| | June 2017 | March2018 | April 2019 | October 2019 |
| <i>Dussumieria acuta</i> | 0.7 | | | |
| <i>Dysalotus sp.</i> | | | | 5.3 |
| <i>Echelus uropterus</i> | 2.1 | | | |
| <i>Echeneis naucrates</i> | 0.7 | | | |
| <i>Echiostoma barbatum</i> | | | 6.3 | 5.3 |
| <i>Elagatis bipinnulata</i> | | 1.0 | | |
| <i>Encrasicholina punctifer</i> | 0.7 | | | |
| <i>Engraulis japonicus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Eopsetta grigorjewi</i> | | 1.9 | | |
| <i>Ephippus orbis</i> | | 1.0 | | |
| <i>Epinephelus areolatus</i> | 2.1 | 4.9 | | |
| <i>Epinephelus heniochus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Epinephelus sp.</i> | | 1.0 | | |
| <i>Etelis carbunculus</i> | | | 3.1 | |
| <i>Etelis radiosus</i> | 0.7 | | | |
| <i>Etrumeus teres</i> | | 1.0 | | |
| <i>Euthynnus affinis</i> | 4.9 | 8.7 | | |
| <i>Fistularia petimba</i> | 0.7 | 1.0 | | |
| <i>Gempylus serpens</i> | 4.9 | 30.1 | 37.5 | |
| <i>Gigantura indica</i> | | 1.0 | | |
| <i>Glyptocephalus kitaharae</i> | | 1.0 | | |
| <i>Gnathophis heterognathos</i> | 4.2 | | | |
| <i>Grammistes sexlineatus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Gymnocranius elongatus/Monotaxis sp.</i> | | 1.9 | | |
| <i>Gymnosarda unicolor</i> | 0.7 | | | |
| <i>Hoplichthys langsdorfii</i> | | 1.0 | | |
| <i>Istiompax indica</i> | | 1.0 | | |
| <i>Istiophorus platypterus</i> | 2.8 | | | |
| <i>Kali indica</i> | | | 3.1 | |
| <i>Kali sp.</i> | | | 3.1 | |
| <i>Katsuwonus pelamis</i> | 9.9 | 37.9 | 56.3 | 15.8 |
| <i>Lampris sp.</i> | 0.7 | | | |
| <i>Leiognathus equulus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Leiognathus ruconius</i> | 7 | 4.9 | | |
| <i>Lepidotrigla kishinouyi</i> | | 1.9 | | |
| <i>Lepidotrigla sp.</i> | | 1.0 | | |
| <i>Lutjanus erythropterus</i> | 0.7 | | | |
| <i>Lutjanus johnii</i> | 0.7 | | | |
| <i>Lutjanus lutjanus</i> | | 1.9 | | |
| <i>Lutjanus russellii</i> | | 1.0 | | |
| <i>Makaira nigricans</i> | 2.1 | 4.9 | 6.3 | |
| <i>Makaira sp.</i> | | | 15.6 | |
| <i>Malacosteus niger</i> | | 1.9 | 18.8 | |
| <i>Malakichthys elegans</i> | | 1.0 | | |
| <i>Megalaspis cordyla</i> | 3.5 | 1.0 | | |
| <i>Minimugil cascasia</i> | | 1.0 | | |
| <i>Monodactylus argenteus</i> | 0.7 | | | |
| <i>Naso mcdadei</i> | | 1.0 | | |
| <i>Nealotus tripes</i> | 1.4 | 14.6 | | |

Table 3.2.3. Continued

| Species | Frequency (%) | | | |
|---|---------------|-----------|------------|--------------|
| | June 2017 | March2018 | April 2019 | October 2019 |
| <i>Nemipterus aurora</i> | | 1.0 | | |
| <i>Nemipterus bathybius</i> | | 1.0 | | |
| <i>Nemipterus furcosus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Nemipterus tambuloides/japonicus</i> | | 3.9 | | |
| <i>Nemipterus thosaporni</i> | | 1.0 | | |
| <i>Neopinnula</i> sp. | 2.1 | | | |
| <i>Nesiarchus nasutus</i> | | | | 10.5 |
| <i>Nesiarchus</i> sp. | | 2.9 | | |
| <i>Oxyporhamphus convexus/micropterus</i> | 6.3 | 4.9 | | 5.3 |
| <i>Pagrus major</i> | | 1.0 | | |
| <i>Parachaetodon ocellatus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Paralichthys olivaceus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Paramonacanthus pusillus</i> | | 1.9 | | |
| <i>Parapercis xanthozona</i> | | 1.0 | | |
| <i>Parupeneus heptacanthus</i> | 0.7 | | | |
| <i>Parupeneus</i> sp. | | | | 5.3 |
| <i>Pempheris schwenkii</i> | | 1.0 | | |
| <i>Pentapodus setosus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Pentaprion longimanus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Photonectes albipennis</i> | 0.7 | | | |
| <i>Photonectes margarita</i> | | 1.0 | | |
| <i>Photopectoralis bindus</i> | | 1.9 | | |
| <i>Photopectoralis cf. aureus</i> | 1.4 | 1.0 | | |
| <i>Platax teira</i> | 1.4 | | | |
| <i>Platycephalidae</i> sp. | | 1.0 | | |
| <i>Pleuronichthys cornutus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Polydactylus sextarius</i> | 0.7 | | | |
| <i>Pomadasys</i> sp. | 0.7 | | | |
| <i>Priacanthus macracanthus</i> | | 3.9 | | |
| <i>Priacanthus tayenus</i> | | 1.9 | | |
| <i>Pristipomoides argyrogrammicus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Pristipomoides multidentis</i> | 0.7 | | | |
| <i>Pristipomoides sieboldii</i> | 0.7 | | | |
| <i>Prognichthys sealei</i> | 1.4 | 1.0 | | |
| <i>Psenes arafurensis</i> | | 1.0 | | |
| <i>Psenes cyanophrys/arafurensis</i> | 0.7 | | 12.5 | |
| <i>Psenes pellucidus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Psenes</i> sp. | | 1.0 | | |
| <i>Psenopsis anomala</i> | 1.4 | | | |
| <i>Pterocaesio pisang</i> | | 1.0 | | |
| <i>Pterocaesio</i> sp. | | 1.0 | | |
| <i>Pterycombus petersii</i> | 0.7 | | | 10.5 |
| <i>Pterygotrigla hemisticta</i> | 0.7 | | | |
| <i>Rachycentron canadum</i> | 2.1 | | | |
| <i>Rastrelliger brachysoma/kanagurta</i> | 4.9 | 2.9 | | |
| <i>Remora</i> sp. | | | 3.1 | 5.3 |
| <i>Ruvettus pretiosus</i> | | 1.0 | 6.3 | |
| <i>Sardinella fijiensis</i> | | 1.0 | | |
| <i>Sardinella jussieu</i> | | 1.0 | | |

Table 3.2.3. Continued

| Species | Frequency (%) | | | |
|------------------------------------|---------------|-----------|------------|--------------|
| | June 2017 | March2018 | April 2019 | October 2019 |
| <i>Saurida</i> sp. | | 1.0 | | |
| <i>Scolopsis monogramma</i> | | 1.0 | | |
| <i>Scolopsis taenioptera</i> | | 1.0 | | |
| <i>Scolopsis vosmeri</i> | 1.4 | 1.9 | | |
| <i>Scomber australasicus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Scomberoides commersonianus</i> | 1.4 | 1.0 | | |
| <i>Scomberomorus commerson</i> | 0.7 | 1.9 | | |
| <i>Scombrolabrax heterolepis</i> | | 1.0 | | |
| <i>Selar boops</i> | | 1.0 | | |
| <i>Selar crumenophthalmus</i> | 0.7 | 15.5 | 3.1 | |
| <i>Seriola dumerili</i> | 0.7 | | | |
| <i>Seriola quinqueradiata</i> | | 1.0 | | |
| <i>Sillago ingenuua</i> | 0.7 | | | |
| <i>Sillago sihama</i> | 0.7 | 1.0 | | |
| <i>Sorsogona tuberculata</i> | | 1.0 | | |
| <i>Sphyaena chrysotaenia</i> | 0.7 | | | |
| <i>Sphyaena japonica</i> | 0.7 | | | |
| <i>Sphyaena jello</i> | 0.7 | 1.9 | | |
| <i>Sphyaena</i> sp. | 1.4 | 1.9 | | |
| <i>Stolephorus waitei</i> | 0.7 | | | |
| <i>Strophidon sathete</i> | | 1.0 | | |
| <i>Synagrops japonicus</i> | | | | 21.1 |
| <i>Synodus hoshinonis</i> | 0.7 | | | |
| <i>Synodus jaculum</i> | | | 3.1 | |
| <i>Synodus macrops</i> | 0.7 | | | |
| <i>Taractichthys steindachneri</i> | 0.7 | 1.0 | | 5.3 |
| <i>Terapon jarbua</i> | 0.7 | 1.0 | | |
| <i>Terapon theraps</i> | 2.1 | | | |
| <i>Tetragonurus cuvieri</i> | | 1.0 | | |
| <i>Tetrapturus angustirostris</i> | | | | 5.3 |
| <i>Thryssa dussumieri</i> | 0.7 | 1.0 | | |
| <i>Thryssa kammalensis</i> | 0.7 | | | |
| <i>Thunnus alalunga</i> | | 1.0 | 3.1 | |
| <i>Thunnus</i> sp. | 9.2 | 12.6 | 25 | |
| <i>Trachinocephalus myops</i> | 4.9 | 3.9 | | |
| <i>Trachipterus jacksonensis</i> | 0.7 | | | |
| <i>Trachurus japonicus</i> | 3.5 | 1.9 | | |
| <i>Trichiurus brevis</i> | 1.4 | | | |
| <i>Trichiurus japonicus</i> | | 1.0 | | |
| <i>Trichiurus</i> sp. | 4.2 | | | |
| <i>Upeneus japonicus</i> | 2.1 | | | |
| <i>Upeneus sulphureus</i> | 1.4 | | | |
| <i>Uranoscopus chinensis</i> | | 1.0 | | |
| <i>Uranoscopus oligolepis</i> | | 1.0 | | |
| <i>Uranoscopus</i> sp. | 0.7 | | | |
| <i>Vinciguerrria nimbaria</i> | | | 9.4 | 89.5 |
| <i>Vinciguerrria</i> sp. | 14.8 | 10.7 | 15.6 | |
| <i>Xiphias gladius</i> | 1.4 | | 3.1 | |
| <i>Zu cristatus</i> | | | 3.1 | |

Table 3.2.3. Continued

| Species | Frequency (%) | | | |
|----------------------------|---------------|-----------|------------|--------------|
| | June 2017 | March2018 | April 2019 | October 2019 |
| Unidentified sp. Apr_19_1 | | | 6.3 | |
| Unidentified sp. Apr_19_2 | | | 3.1 | |
| Unidentified sp. Apr_19_3 | | | 3.1 | |
| Unidentified sp. Apr_19_4 | | | 15.6 | |
| Unidentified sp. Apr_19_5 | | | 3.1 | |
| Unidentified sp. Apr_19_6 | | | 6.3 | |
| Unidentified sp. Apr_19_7 | | | 6.3 | |
| Unidentified sp. Apr_19_8 | | | 6.3 | |
| Unidentified sp. Apr_19_9 | | | 12.5 | |
| Unidentified sp. Apr_19_10 | | | 21.9 | |
| Unidentified sp. Apr_19_11 | | | 9.4 | |
| Unidentified sp. Apr_19_12 | | | 3.1 | |
| Unidentified sp. Apr_19_13 | | | 3.1 | |
| Unidentified sp. Apr_19_14 | | | 15.6 | |
| Unidentified sp. Jun_17_1 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_2 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_3 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_4 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_5 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_6 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_7 | 4.2 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_8 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_9 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_10 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_11 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_12 | 7.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_13 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_14 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Jun_17_15 | 0.7 | | | |
| Unidentified sp. Mar_18_1 | | 1.0 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_2 | | 1.0 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_3 | | 2.9 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_4 | | 1.0 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_5 | | 1.0 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_6 | | 1.0 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_7 | | 1.9 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_8 | | 1.0 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_9 | | 1.0 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_10 | | 1.9 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_11 | | 2.9 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_12 | | 1.9 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_13 | | 1.0 | | |
| Unidentified sp. Mar_18_14 | | 11.7 | | |
| Unidentified sp. Oct_19_1 | | | | 5.3 |
| No. of species | 113 | 142 | 42 | 15 |
| No. of stations | 142 | 103 | 32 | 19 |

2017년 6월 한국 - 스리랑카 이동항로에서 142점의 표본을 수집하였다. 어란이 포함된 표본은 113점이다. 이들 표본에서 어란의 출현량은 2 - 774 eggs/100m³이다. 어란의 출현량이 가장 많은 곳은 말라카 해협, 벵갈만 남부해역, 북서태평양이다. 남중국해는 어란의 출현량이 매우 적다(Fig. 3.2.2). 표본별 어란의 종수는 1 - 14종이다. 어란의 출현종수가 많은 해역은 북서태평양, 벵갈만 남부에서 말라카 해협이다(Fig. 3.2.3).

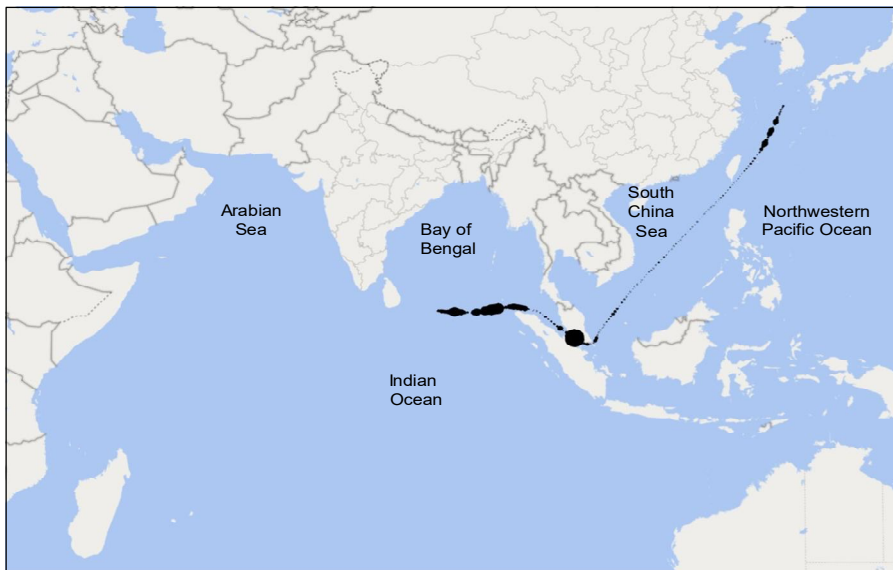


Fig. 3.2.2. Relative abundance of fish eggs in June 2017.



Fig. 3.2.3. Relative number of species of fish eggs in June 2017.

2018년 3월 한국-스리랑카-모리셔스 이동항로에서 103점의 표본을 수집하였다. 어란이 포함된 표본은 총 93점이다. 이들 표본에서 어란의 출현량 2 - 774 eggs/100m³이다. 어란의 출현량이 가장 많은 곳은 말라카 해협, 스리랑카 근해, 남서인도양 이다(Fig. 3.2.4). 표본별 어란의 출현 종 수는 1 - 16종이었다. 어란의 출현종수가 많은 해역은 말라카 해협과 주변해이다(Fig. 3.2.5).

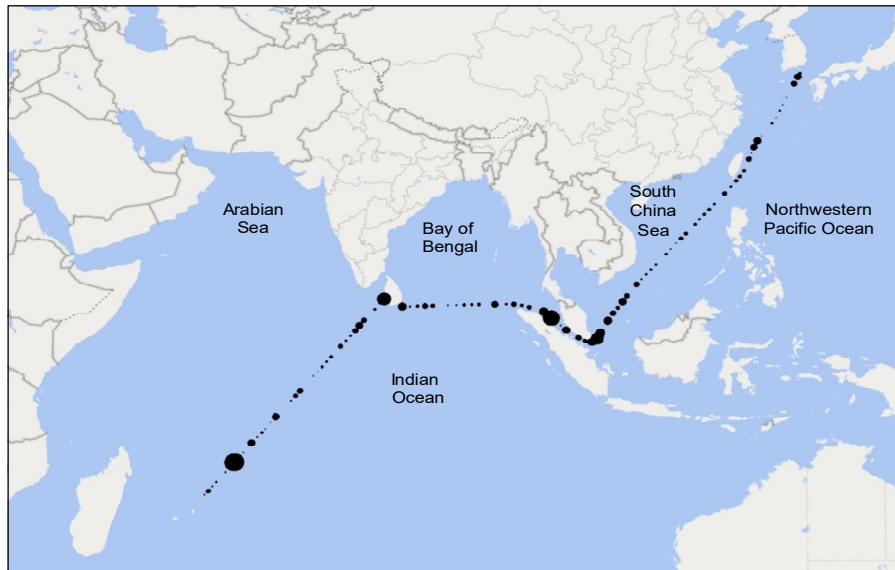


Fig. 3.2.4. Relative abundance of fish eggs in March 2018.



Fig. 3.2.5. Relative number of species of fish eggs in March 2018.

2019년에는 스리랑카-모리셔스에 이르는 인도양 이동항로에서 32점, 북서태평양 이동항로에서 19점 등 총 51점의 표본을 수집하였다. 인도양 이동항로 표본 30점에서 어란이 출현하였다. 표본별 어란의 출현 밀도는 1 - 47 eggs/100m³, 출현종수는 1-9 종이다. 태평양 이동항로 표본의 17점에서 어란이 출현하였다. 표본별 어란의 출현 밀도는 1-19 eggs/100m³, 출현종수는 1 - 5종이다(Fig. 3.2.6-7).



Fig. 3.2.6. Relative abundance of fish eggs in the Indian Ocean in March 2019 and the Northwestern Pacific Ocean in October 2019.



Fig. 3.2.7. Relative number of species of fish eggs in the Indian Ocean in March 2019 and the Northwestern Pacific Ocean in October 2019.

제3절 어류의 종별 산란 모니터링을 위한 어란 메타바코딩

통영의 표층 수온은 계절변화에 따라 겨울이 낮고 여름이 높다. 가장 낮은 겨울철 수온은 9.7°C, 가장 높은 여름철 수온은 27.1°C로 그 변화폭은 최대 17.4°C이다. 여름철 최고 수온은 2019년의 24.7°C를 기점으로 2016 - 2018년(22.9-23.8°C)이 2013 - 2014년(25.5 - 27.1°C) 보다 상대적으로 높다. 수온이 낮은 겨울철은 2017년과 2018년 2월에 다른 해보다 1°C 정도 높은 11°C이다(Fig. 3.3.1).

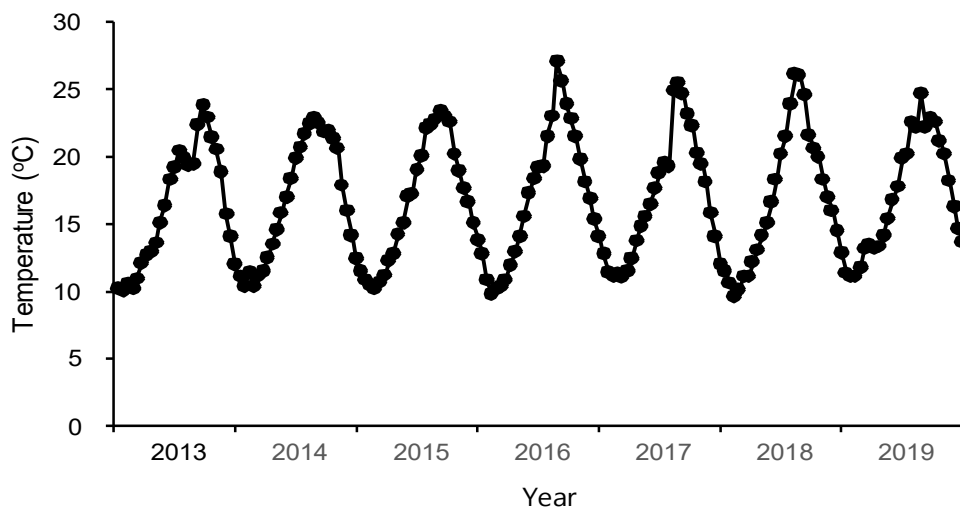


Fig. 3.3.1. Annual variation of surface seawater temperature at the Tongyoung 2013 to 2019.

2013년 3월부터 2019년 12월까지 2주 간격으로 7년간 채집한 어란의 출현량은 여름철에 많고 겨울철은 적었다. 이러한 계절 변화는 7년간 유사하였다(Fig. 3.3.2).

형태형질과 분자마커로 동정한 어란은 총 8목 43과 73종(미동정종 1종 포함)이다. 종 다양성이 가장 높은 분류군은 농어목으로 24과에 37종이다. 다음은 가자미목과 쏨뱅이목으로 각각 14종과 10종이다(Table 3.3.1).

73종의 종별 평균 출현량과 출현빈도 분석결과 출현 빈도가 가장 높은 종은 *Engraulis japonicus*이다. 이종의 출현 빈도는 54.2%, 평균 출현량은 1,119.4 eggs/1000m³였다. 다음으로 출현빈도가 높은 종은 *Parapercis multifasciata/sexfasciata*, *Pagrus major*, *Pseudorhombus pentophthalmus*, *Cynoglossus interruptus*, *Callionymus beniteguri/valenciennei* 등이다. 이들의 출현빈도는 36.7 -

41.8%, 평균 출현량은 60.5 - 355.9 eggs/1000m³이다. 이들 5종 이외에 출현빈도가 10% 이상인 17종의 평균출현량은 2.1 - 427.3 eggs/1000m³이다(Table 3.3.2).

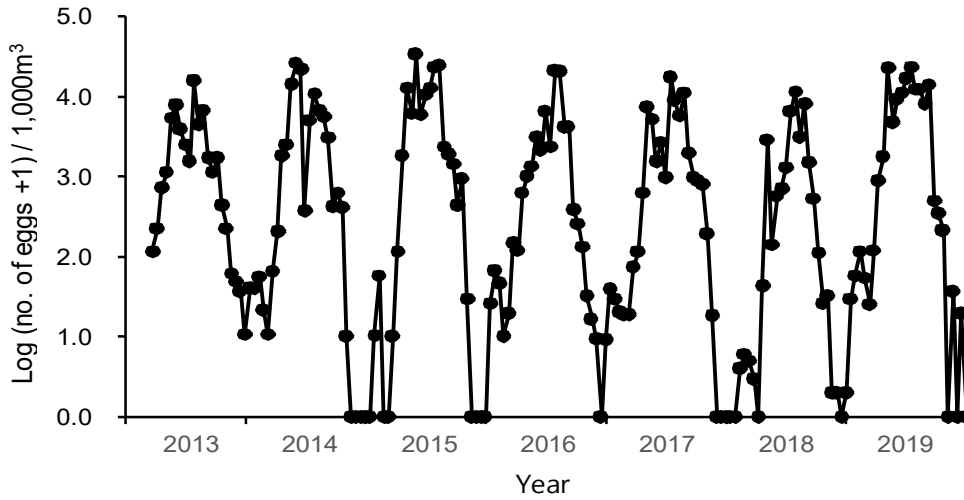


Fig. 3.3.2. Annual variation of fish egg abundance at the Tongyoung in 2013-2019.

Table. 3.3.1. Species composition of fish eggs at the Tongyoung in 2013-2019

| Order | Family | Species |
|-------------------|--------|---------|
| Clupeiformes | 3 | 6 |
| Gadiformes | 1 | 1 |
| Ophidiiformes | 1 | 1 |
| Perciformes | 24 | 37 |
| Pleuronectiformes | 4 | 14 |
| Scorpaeniformes | 8 | 10 |
| Stomiiformes | 1 | 1 |
| Tetraodontiformes | 1 | 2 |
| Unidentified sp. | | 1 |
| Total | 43 | 73 |

Table. 3.3.2. Abundance and occurrence frequency of fish eggs at the Tongyoung in 2013-2019

| Species | Frequency (%) | Abundance (no. of eggs/1000m ³) | Species | Frequency (%) | Abundance (no. of eggs/1000m ³) |
|---|---------------|---|--|---------------|---|
| <i>Engraulis japonicus</i> | 54.2 | 1,119.4 | <i>Cubiceps pauciradiatus</i> | 2.3 | 0.1 |
| <i>Parapercis multifasciata/sexfasciata</i> | 41.8 | 355.9 | <i>Chromis notata</i> | 1.7 | 1.6 |
| <i>Pagrus major</i> | 40.7 | 429.1 | <i>Dexistes rikuzenius</i> | 1.7 | * |
| <i>Pseudorhombus pentophthalmus</i> | 39.0 | 288.1 | <i>Equulites rivulatus</i> | 1.7 | 1.0 |
| <i>Cynoglossus interruptus</i> | 37.9 | 131.9 | <i>Lateolabrax japonicus/maculatus</i> | 1.7 | 0.1 |
| <i>Callionymus beniteguri/valenciennei</i> | 36.7 | 60.5 | <i>Scorpaena miostoma/onaria</i> | 1.7 | 0.5 |
| <i>Sillago japonica/sihama</i> | 29.9 | 114.6 | <i>Auxis rochei</i> | 1.1 | 0.7 |
| <i>Parajulis poecilepterus</i> | 29.4 | 48.8 | <i>Cynoglossus robustus</i> | 1.1 | 0.4 |
| <i>Lepidotrigla</i> sp. | 27.1 | 9.0 | <i>Pleuronichthys cornutus</i> | 1.1 | 0.1 |
| <i>Pseudolabrus sieboldi</i> | 27.1 | 9.7 | <i>Sardinops melanosticta</i> | 1.1 | 0.8 |
| Unidentified sp. | 26.0 | 21.7 | <i>Sphyraena pinguis</i> | 1.1 | 1.8 |
| <i>Pennahia argentata</i> | 25.4 | 427.3 | <i>Uranoscopus japonicus</i> | 1.1 | 4.5 |
| <i>Pteragogus flagellifer</i> | 22.6 | 93.6 | <i>Vinciguerria</i> sp. | 1.1 | * |
| <i>Konosirus punctatus</i> | 19.2 | 27.3 | <i>Acropoma japonicum</i> | 0.6 | 0.1 |
| <i>Paralichthys olivaceus</i> | 18.1 | 7.6 | <i>Auxis</i> sp. | 0.6 | * |
| <i>Callionymus curvicornis/lunatus</i> | 16.9 | 11.0 | <i>Champsodon snyderi</i> | 0.6 | 0.1 |
| <i>Acanthopagrus schlegelii</i> | 15.3 | 1.9 | <i>Clupea pallasii</i> | 0.6 | 0.1 |
| <i>Platycephalus indicus</i> | 15.3 | 5.6 | <i>Cynoglossus</i> sp. | 0.6 | * |
| <i>Parablennius yatabei</i> | 14.1 | 13.6 | <i>Dipterygonotus balteatus</i> | 0.6 | * |
| <i>Thamnaconus modestus</i> | 13.6 | 49.7 | <i>Eopsetta grigorjewi</i> | 0.6 | 0.1 |
| <i>Halichoeres tenuispinis</i> | 11.3 | 2.1 | <i>Erisphex pottii</i> | 0.6 | 0.5 |
| <i>Oplegnathus fasciatus</i> | 10.7 | 18.1 | <i>Etrumeus micropus</i> | 0.6 | 4.3 |
| <i>Paracentropogon rubripinnis</i> | 10.7 | 2.8 | <i>Hoplichthys langsdorfii</i> | 0.6 | 0.1 |
| <i>Glyptocephalus kitaharae</i> | 9.0 | 2.4 | <i>Neobythites sivicola</i> | 0.6 | 0.2 |
| <i>Zebrias japonicus</i> | 9.0 | 21.5 | <i>Nuchequula nuchalis</i> | 0.6 | 0.1 |
| <i>Hapalogenys nigripinnis</i> | 8.5 | 4.2 | <i>Onigocia spinosa</i> | 0.6 | 0.1 |
| <i>Inimicus japonicus</i> | 7.9 | 35.8 | <i>Oplegnathus</i> sp. | 0.6 | 0.1 |
| <i>Trachurus japonicus</i> | 7.9 | 43.0 | <i>Paraplagusia japonica</i> | 0.6 | 0.2 |
| <i>Epinephelus akaara</i> | 6.2 | 2.7 | <i>Pseudolabrus eoethinus</i> | 0.6 | 0.1 |
| <i>Cynoglossus joyneri</i> | 4.5 | 1.9 | <i>Scorpaenodes evides</i> | 0.6 | * |
| <i>Platichthys bicoloratus</i> | 4.0 | 0.5 | <i>Sebastes</i> sp. | 0.6 | 0.1 |
| <i>Scomber japonicus</i> | 4.0 | 1.3 | <i>Stephanolepis cirrhifer</i> | 0.6 | * |
| <i>Hyporthodus septemfasciatus</i> | 3.4 | 33.4 | <i>Thryssa kammalensis</i> | 0.6 | 2.1 |
| <i>Microstomus achne</i> | 3.4 | 0.4 | <i>Thunnus</i> sp. | 0.6 | * |
| <i>Semicossyphus reticulatus</i> | 3.4 | 1.4 | <i>Trichiurus japonicus</i> | 0.6 | 0.1 |
| <i>Decapterus maruadsi</i> | 2.8 | 0.2 | <i>Upeneus japonicus</i> | 0.6 | * |
| <i>Branchiostegus japonicus</i> | 2.3 | 0.3 | Total | | 3418.3 |

*, < 0.1

73종의 종별 어란 출현시기를 분석한 결과 출현종수가 많은 시기는 여름이고 낮은 시기는 겨울이다. 이러한 출현 종수의 계절 변화폭은 조사 시기에 따라 차이는 있지만 계절변동 양상은 7년 모두 유사하였다(Fig. 3.2.3).

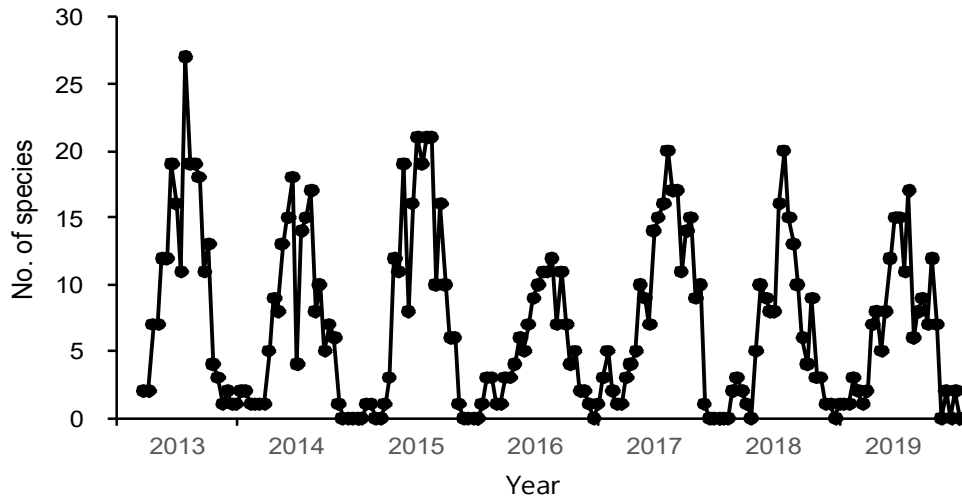


Fig. 3.3.3. Annual variation of fish egg species at the Tongyoung 2013 to 2019.

73종의 어란 중 출현빈도가 7회 이상인 32종의 출현 시기를 PCA로 분석하였다. 분석결과 PC1 축을 중심으로 음의 방향에는 수온이 낮은 시기에 산란한 겨울 산란군과 양의 방향에는 수온이 높은 시기에 산란하는 여름 산란군으로 크게 양분되었다. 이들 어란은 다시 PC2 축을 중심으로 양의 방향에는 수온 상승기에 산란하는 봄 산란군과 음의 방향에는 수온 하강기에 산란하는 가을 산란군이 위치하였다(Fig. 3.2.4).

32종의 어란 출현 시기 PCA 분석 결과를 토대로 종별 출현시기에 대한 확률밀도함수를 겨울 산란군부터 시계방향으로 배열하였다. 산란 기간은 겨울 산란군이 봄, 여름, 가을 산란군보다 상대적으로 짧다. 종간 산란시기 중첩도는 겨울 산란군이 봄, 여름, 가을 산란군보다 높았다(Fig. 3.2.5).

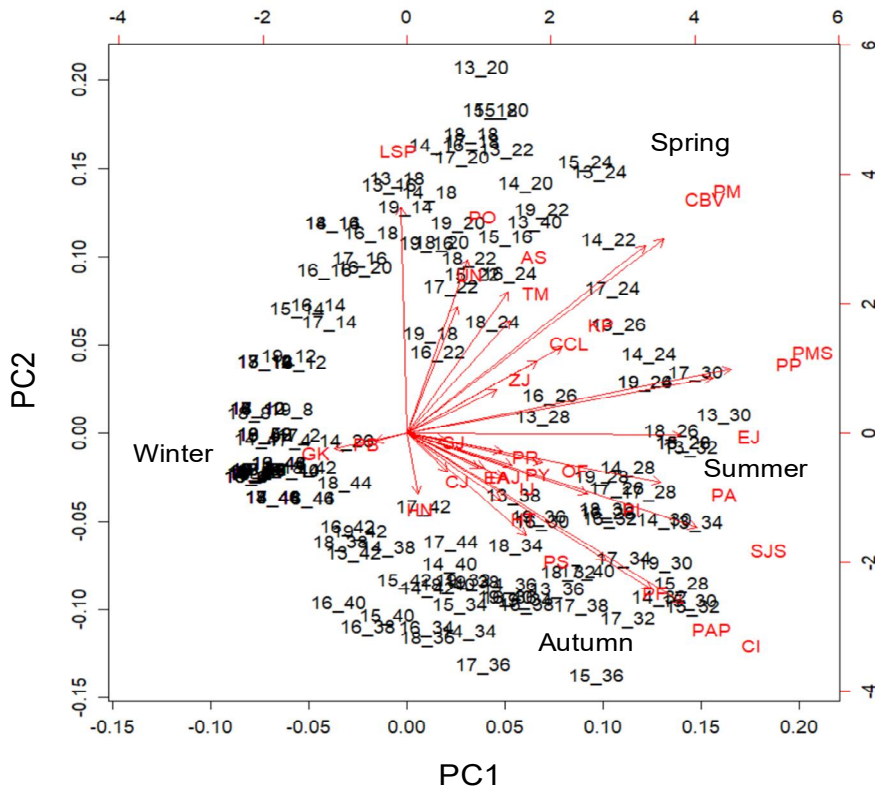


Fig. 3.3.4. Principal component analysis (PCA) on the spawning time of the 32 species.

PB, *Platichthys bicoloratus*; GK, *Glyptocephalus kitaharae*; LSP, *Lepidotrigla* sp.; PO, *Paralichthys olivaceus*; UN, Unidentified sp.; AS, *Acanthopagrus schlegelii*; TM, *Thamnaconus modestus*; CBV, *Callionymus beniteguri/valenciennei*; PM, *Pagrus major*; CCL, *Callionymus curvicornis/lunatus*; KP, *Konosirus punctatus*; ZJ, *Zebrias japonicus*; PMS, *Parapercis multifasciata/sexfasciata*; PS, *Pseudolabrus sieboldi*; EJ, *Engraulis japonicus*; SJ, *Scomber japonicus*; PR, *Paracentropogon rubripinnis*; PA, *Pennahia argentata*; OF, *Oplegnathus fasciatus*; PY, *Parablennius yatabei*; SJS, *Sillago japonica/sihama*; PI, *Platycephalus indicus*; TAJ, *Trachurus japonicus*; IJ, *Inimicus japonicus*; EA, *Epinephelus akaara*; CI, *Cynoglossus interruptus*; PAP, *Parajulis poecilepterus*; PF, *Pteragogus flagellifer*; HT, *Halichoeres tenuispinis*; PP, *Pseudorhombus pentophthalmus*; CJ, *Cynoglossus joyneri*; HN, *Hapalogenys nigripinnis*.

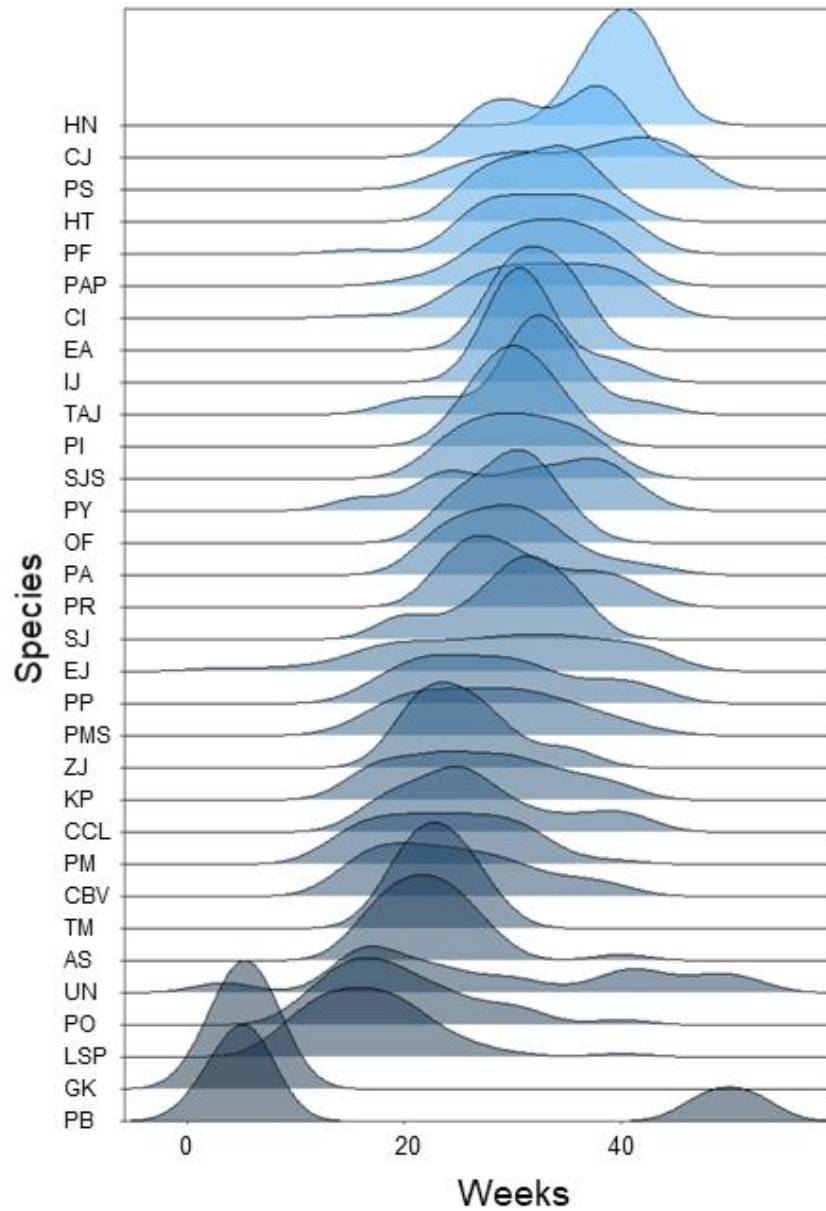


Fig. 3.3.5. Probability density function on the spawning pattern of the 32 species (See the abbreviation of species name in the Fig 3.3.4).

3.3.4. 토의

많은 종류의 해양 경골어류 산란전략은 대량의 부유성 어란 방출이다. 이들 어란은 해류와 조석에 의해 확산하지만 전생활사 중에서 친어와 가장 가까이에 분포한다. 이와 같은 특징으로 어란은 산란장과 산란시기를 가장 정확하게 말해주는 지표이다.

현재 산란생태 연구를 위한 어란 지표 활용도는 매우 낮다. 형태형질을 이용하여 어란을 종 수준으로 동정하는 것이 까다롭기 때문이다. 한반도 주변해역에서 이용 가능한 종은 산란시기와 해역별 특성을 고려하면 멸치와 엘통이 등 소수에 불과하다.

최근 분자마커를 이용하여 단일 어란 표본도 종 수준의 동정이 가능하다. 관련 연구는 증가하고 있다. 이와 같은 방법으로 많은 수의 어란 표본을 동정하려면 많은 시간과 비용을 필요로 한다. 연구 대상종의 어란을 선정하는 것도 어렵다.

이에 대한 대안은 NGS에 기반을 둔 대량의 혼합 어란 메타바코딩 분석이다. 메타바코딩을 이용하면 혼합 표본의 종 동정이 가능하기 때문이다. 이와 같은 기술은 식물플랑크톤, 동물플랑크톤, 자치어 등의 다양한 분류군의 혼합 표본의 종 동정에 사용하고 있다.

인도-태평양의 이사부호 항로와 한반도 동남부의 통영해상생물자원기지에서 수집한 어란을 형태형질과 분자마커를 이용하여 동정하였다. 형태형질로 동정한 종은 어란은 멸치 한 종이다.

한반도 주변해역에 서식하는 멸치과 어류 중 멸치와 같이 타원형 어란을 산란하는 종은 이종 뿐이다. 멸치과의 *Encrasicholina* 속 어류도 멸치와 같은 타원형 알을 산란한다. 이들은 동중국해 이남의 열대 및 아열대 해역에 분포한다. 우리나라 주변해역에서 출현할 가능성이 낮다. 우리나라 주변해역에서 이와 같은 타원형의 알을 산란하는 종은 과랑비늘돔이다. 이 종의 알은 멸치와 달리 하나의 유구가 있다(Shao et al., 2001; Okiyama, 2014). 두 종의 어란을 유구의 유무로 뚜렷하게 구분이 가능하다. 멸치 알을 포함한 NGS 분석에서 멸치 이외에는 타원형 어란을 산란하는 *Encrasicholina* 속의 종과 과랑비늘돔은 없었다(Table 3.3.2). 따라서 형태형질을 이용한 멸치 알의 종 동정은 정확한 것으로 판단한다.

멸치 알 이외의 어란 동정 방법은 Sanger sequencing과 NGS 기반의 메타바코딩

이다. 두 방법으로 많은 종들의 어란을 종이나 속 수준으로 동정이 가능하였다. 동정된 분류군은 인도-태평양 이사부 향로에 195종, 통영해양생물자원기지 72종 등 총 252종이었다.

종수준의 동정이 불가능한 어란은 두 경우이다. 동일종에 대한 DNA 바코드 염기서열 정보가 없을 때는 미동정으로 분류하였다. 종간 유전적 차이가 적은 경우이다. 이러한 종들은 분해능 높은 다른 종류의 분자마커로 재분석 하거나 바코드 정보가 축적되면 종 수준의 동정이 가능할 것이다.

분자마커와 형태형질 두 방법으로 인도-태평양 어란과 통영해양생물자원기지에서 수집한 대량의 어란 중 동정은 성공적이다. 인도-태평양 어란 종별 분포 정보는 어류의 종별 산란생태 연구를 위한 기초정보로서 가치가 있다. 통영해양생물자원기지 어란의 종별 7년의 모니터링 결과는 어류의 종별 산란생태 연구와 자원보호를 위한 금어기 설정에 유용할 것이다.

제4장 연구개발결과의 활용계획 및 파급효과

제4장 연구개발결과의 활용계획 및 파급효과

제1절 연구개발 결과의 활용계획

대량의 혼합 어란 메타바코딩

대량의 심해와 중층 어류의 산란장 탐색

상업적 가치가 높은 다량어류의 산란장 탐색

한반도 주변해 어류의 종별 산란생태 모니터링

어류 COI reference library

외래 유입종 모니터링

eDNA를 이용한 어류 탐색

제2절 연구개발 결과의 파급효과

기술적 측면

DNA 바코딩으로 형태형질로 동정이 어려운 어란의 종 동정

메타바코딩으로 대량의 어란 종 동정

비침입적 어류 종 탐지

경제 산업적 측면

어란 종 동정 비용 절감

어류의 종별 산란생태 정보에 근거한 어류자원 관리방안 수립에 기여

제5장 참고문헌

제5장 참고문헌

- Choi HY, Oh J, Kim S. (2018). Genetic identification of eggs from four species of Ophichthidae and Congridae (Anguilliformes) in the northern East China Sea. PLoS ONE, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0195382>.
- Fricke R, Eschmeyer WN, van der Laan R. (eds) (2020). ESCHMEYER'S CATALOG OF FISHES: GENERA, SPECIES, REFERENCES.(<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>). Electronic version accessed 28 February 2020.
- Han SH, Kim MJ, Song CB. (2015). Molecular identification and distribution pattern of fish eggs collected around Jeju Island. Korean Journal of Ichthyology, 27(4): 284-292.
- Harada AE, Lindgren EA, Hermsmeier MC, Rogowski PA, Terrill E, Burton RS (2015). Monitoring spawning activity in a southern California marine protected area using molecular identification of fish eggs. PLoS ONE 10(8): e0134647. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0134647>.
- Ivanova NV, Zemlak TS, Hanner RH, Hebert PDN. (2007). Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. Molecular Ecology Notes, 7: 544-548.
- Katoh K, Standley DM. (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. Molecular Biology Evolution, 30(4):772-80. doi: 10.1093/molbev/mst010.
- Kawakami T, Aoyama J, Tsukamoto K. (2010). Morphology of pelagic fish eggs identified using mitochondrial DNA and their distribution in waters west of the Mariana Islands. Environ Biol Fish 87, 221-235. <https://doi.org/10.1007/s10641-010-9592-2>.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S. et al., (2012). Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the

- organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12): 1647-1649, doi: 10.1093/bioinformatics/bts199.
- KIOST. (2013). Development of ubiquitous management technologies for marine useful/harmful organisms. KIOST report, BSPE98753-10240-3, 377pp.
- Klindworth A, Pruesse E, Schweer T, Peplies J, Quast C, Horn M, Glöckner FO. (2013). Evaluation of general 16S ribosomal RNA gene PCR primers for classical and next-generation sequencing-based diversity studies. *Nucleic Acids Research*, 41(1):e1. doi: 10.1093/nar/gks808.
- Lee HW, Lee SJ, Yang JH, Lee JB, Cha HK, Kim JK. (2014). Occurrence of Eggs and Larvae of Blackfin Flounder *Glyptocephalus stelleri* (Pleuronectidae, Pisces) off Wangdol-cho, East Sea. *Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 47(5), 654-658.
- Lee SJ, Kim JK. (2014). Identification of *Trichiurus* (Pisces: Trichiuridae) Eggs and Larvae from Korea, with a Taxonomic Note. *Fisheries and Aquatic Science*, 17, 137-143.
- Leray M, Yang JY, Meyer CP. et al. (2013). A new versatile primer set targeting a short fragment of the mitochondrial COI region for metabarcoding metazoan diversity: application for characterizing coral reef fish gut contents. *Frontiers in Zoology* 10, 34. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-10-34>.
- Lewis LA, Richardson DE, Zakharov EV, Hanner R. (2016). Integrating DNA barcoding of fish eggs into ichthyoplankton monitoring programs. *Fishery Bulletin*, 114:153-165.
- Lin HY, Chiu MY, Shih YM, Lee MA, Shao KT. (2016). Species composition and assemblages of ichthyoplankton during summer in the East China Sea. *Continental Shelf Research*, 126, 1 September, 64-78.
- Oh J, Kim S. (2015). Morphological and molecular characterization of separated pelagic eggs from *Lophius litulon* (Lophiiformes; Lophiidae). *Journal of Fish Biology*, 86: 1887-1891.
- Okiyama M. (2014). *An Atlas of the Early Stage Fishes in Japan*. I, II. Tokai University Press, Tokyo, pp. 1639.
- Palumbi SR. (1996) Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. In:

- Molecular Systematics (eds Hillis DM, Moritz C, Mable BK), pp. 205-247. Sinauer & Associates Inc., Sunderland, Massachusetts.
- Saitou N, Nei M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biological Evolution*, 4(4):406-25.
- Schloss PD, Westcott SL, Ryabin T, Hall JR. (2009). Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 75(23):7537-41, DOI: 10.1128/AEM.01541-09.
- Shao KT, Chen KC, Wu JH. (2002). Identification of marine fish eggs in Taiwan using light microscopy, scanning electric microscopy and mtDNA sequencing. *Marine and Freshwater Research* 53(2) 355 - 365.
- Thompson JD, Higgins DG, 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 Research*, 11:22(22):4673-80.
- Tsukamoto K, Chow S, Otake T. et al. (2011). Oceanic spawning ecology of freshwater eels in the western North Pacific. *Nature Communication* 2, 179. <https://doi.org/10.1038/ncomms1174>.
- Ward RD, Zemplak TS, Innes BH, Last PR. (2005). DNA Barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of The Royal Society B Biological Sciences*, 360(1462):1847-57.