

고등어 난자치어의 북방한계선 탐색을
위한 분자마커 개발

Investigation of the Northern Boundary of the
Scomber japonicus Eggs and Larvae Using the
Molecular Marker

한국해양연구원

제 출 문

한국해양연구원 원장 귀하

본 보고서를 “고등어 난자치어의 북방한계선 탐색을 위한 분자마커 개발”과제의
보고서로 제출합니다.

2011 년 3 월

연구책임자 : 김 성

참여연구원 : 오지나

보고서 초록

| | | | | | |
|---|--------------------------------|---|---------------------------------|----------|---------------------------------------|
| 과제관리번호 | PE98535 | 해당단계 연구기간 | 2010.04.01.-2011.03.31 | 단계 구분 | 1 / 1 |
| 연구사업명 | 기본사업 | | | | |
| 연구과제명 | 고등어 난자치어의 북방한계선 탐색을 위한 분자마커 개발 | | | | |
| 연구책임자 | 김 성 | 해당단계 참여연구원수 | 총 : 2 명 내부 : 1 명 외부 : 1 명 | 해당단계 연구비 | 정부: 50,000천원 기업: 천원 계: 50,000천원 |
| 연구기관명 및 소속부서명 | 한국해양연구원 해양생물자원연구부 | | 참여기업명 | | |
| 국제공동연구 | 상대국명 : | | 상대국연구기관명 : | | |
| 위 탁 연 구 | 연구기관명 : | | 연구책임자 : | | |
| 요약 | | | | | 보고서 면수 |
| <input type="checkbox"/> 사업목표 - 고등어 난자치어의 북방한계선 탐색을 위한 분자마커 개발 <input type="checkbox"/> 기대효과 - 기후변화에 따른 고등어와 망치고등어의 산란생태 변동 모니터링 - 고등어속 어류의 자원량 평가를 위한 어란의 분포도 작성 <input type="checkbox"/> 사업내용 - 고등어 난자치어 분포자료 수집과 분석 - 고등어와 망치고등어 종판별 분자마커 분석 - 종판별 분자마커를 활용하여 단일개체의 고등어 난자치어 종동정 | | | | | |
| 색 인 어 (각 5개 이상) | 한 글 | 고등어, 난자치어, 산란장, 미토콘드리아 DNA, ND5 | | | |
| | 영 어 | <i>Scomber japonicus</i> , Ichthyoplankton, Spawning Ground, mtDNA, ND5 | | | |

요 약 문

I. 제 목

- 고등어 난자치어의 복방한계선 탐색을 위한 분자마커 개발

II. 연구개발의 목적 및 필요성

- 고등어 난자치어를 활용한 한반도 주변해역의 고등어 산란장 탐색
- 고등어속 어류의 난자치어 종판별 분자 마커 개발

III. 연구개발의 내용 및 범위

- 한반도 주변해역의 고등어속 난자치어 출현정보 수집과 분석
- 고등어속 어류의 유전적 차이 규명
- 분자마커를 활용한 단일 고등어속 어류의 종판별

IV. 연구개발 결과

한반도 주변해역의 고등어 산란장과 보육장 탐색을 위해 1965~2010년의 난자치어의 출현 정보를 수집하여 분석하였다. 고등어의 산란 유무를 분석하기 위해 고등어의 난자치어 출현 빈도가 낮은 황해중동부해역에서 2008년 6월과 2009년 7월과 9월에 수집된 난자치어와 고등어의 산란장과 인접한 남해연안에서 2010년 5~8월에 1주 간격으로 채집된 난자치어 표본의 ND5 분자마커를 분석하였다. 분자마커의 정확성 검증을 위해 한반도와 북서태평양에서 어획된 고등어와 망치고등어 성체의 ND5 염기서열을 분석하였다. 한반도 주변해역에서 고등어의 자치어 출현정보는 많지만 동종의 어류 출현기록은 매우 희박하고, 동일속의 망치고등어의 난자치어 출현정보 역시 거의 없다. 한반도 주변해역에서 고등어의 자치어가 출현한 시기는 3~10월이었다. 고등

어 자치어의 출현빈도가 가장 높은 해역은 제주도의 동부와 대한해협 사이였다. 이 해역에서 5월에 고등어의 자치어가 출현빈도가 가장 높았다. 고등어 자치어의 출현빈도가 매우 낮은 황해중동부해역에서 2008년 6월과 2009년 7월에 이 종의 어란과 자치어가 출현하였다. 고등어 어란의 출현량은 6월이 7월보다 많았다. 남해연안에서는 2010년 5~8월에 고등어 난자치어가 출현하지 않았다. 고등어 자치어의 출현정보를 토대로 한반도 주변해역에서 고등어의 주 산란장은 제주도 동부해역-대한해협이었고, 주 산란시기는 5월이었다. 황해중동부해역도 고등어가 산란장으로 활용하지만 산란시기는 남해보다 1개월 늦은 6월이었다.

V. 연구개발결과의 활용계획

- 난자치어 기반 한반도 주변해역의 어류 산란장 탐색
- 분자마커를 활용한 단일 어란의 종 분석

S U M M A R Y

I. Title

- Investigation of the northern boundary of the *Scomber japonicus* eggs and larvae using the molecular marker

II. Necessities and objectives of the study

- Investigation of spawning ground of *Scomber japonicus* based on the ichthyoplankton off Korean Peninsula
- Finding the molecular marker for identification of *Scomber* eggs and larvae

III. Contents and scopes of the study

- Collection of distribution pattern of *Scomber* eggs and larvae off Korean Peninsula
- Investigation of the genetic difference with and within *Scomber* species
- Identification of *Scomber* single eggs using molecular marker

IV. Results

In order to understand the spawning ground of Pacific mackerel (*Scomber japonicus*) off Korean Peninsula, the geographical distribution patterns of its ichthyoplankton were extracted and analyzed using the data

surveyed from 1965 to 2010 in Korea. Among the geographical information of *S. japonicus* ichthyoplankton, only its larval information was available. The larvae had appeared off Korean Peninsula from March to October. Their main distribution area was between Cheju Island and the Korea Strait (CIKS) in May. To test the possibility for *S. japonicus* spawning, we sampled the ichthyoplankton in late June 2008 and late July and early September 2009 in the mid-east Yellow Sea where was rare on the geographical distribution information of its larva, and in the costal area of the South Sea of Korea weekly from May to August 2010 where is located in nearby spawning ground of *S. japonicus*. *S. japonicus* eggs and larvae were found in the mid-east Yellow Sea in June and July. The correctness of species identification was tested using the partial ND5 mtDNA. Using the geographical distribution report of the ichthyoplankton, the main spawning and nursery ground of *S. japonicus* should be in the CIKS off Korean Peninsula in May. In addition, the mid-east Yellow Sea may be also used as a spawning ground of *S. japonicus*.

V. Application plans of the results of the study

- Investigation of spawning ground based on the ichthyoplankton off Korean Peninsula
- Single eggs identification using molecular marker

C O N T E N T S

| | |
|---|----|
| Summary | 3 |
| Contents | 5 |
| List of Figures | 7 |
| List of Tables | 8 |
| | |
| Chapter I Outline of the study | 9 |
| Section 1 Necessity of the study | 9 |
| Section 2 Objectives and contents of the study | 11 |
| | |
| Chapter II States of technical development in the home and foreign ... | 12 |
| Section 1 Trends of study in Korea | 12 |
| Section 2 Trends of study in foreign countries | 12 |
| Section 3 Current status of study | 13 |
| | |
| Chapter III Results of the study | 14 |
| Section 1 Investigation of the northern boundary of the <i>Scomber</i> <i>japonicus</i> eggs and larvae using the molecular marker | 14 |
| | |
| Chapter IV Application plans of the results of the study | 30 |
| | |
| Chapter V References | 31 |
| | |
| Chapter VI Appendix | 37 |

목 차

| | |
|--|----|
| 요약문 | 1 |
| 목차 | 6 |
| 그림 목차 | 7 |
| 표 목차 | 8 |
| | |
| 제 1 장 서론 | 9 |
| 제 1 절 연구개발의 필요성 | 9 |
| 제 2 절 연구개발의 목표 및 내용 | 11 |
| | |
| 제 2 장 국내외 기술개발 현황 | 12 |
| 제 1 절 국내 연구동향 | 12 |
| 제 2 절 해외 연구동향 | 12 |
| 제 3 절 현재까지의 연구개발 동향 | 13 |
| | |
| 제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과 | 14 |
| 제 1 절 고등어 난자치어의 북방한계선 탐색을 위한 분자마커 개발 | 14 |
| | |
| 제 4 장 연구개발결과의 활용계획 | 30 |
| | |
| 제 5 장 참고문헌 | 31 |
| | |
| 제 6 장 부록 | 37 |

Figure List

Fig. 1. Map is showing the sampling stations (cross) from 1965 to 2010 around the Korean Peninsular from Appendix 1. A (open circles) was a station group surveyed in the mid-east Yellow Sea in June, July and September 2008 and 2009. B (dark circles) was a station group weekly surveyed from May to August 2010. An open square was Tongyoung Marine Living Resources Research and Conservation Center (MRC) of Korea Ocean Research and Development Institute ..
 23

Fig. 2. Photos of *Scomber japonicus* (upper) and *Scomber australasicus* (lower) 24

Fig. 3. Number of sampling stations around Korean Peninsula between 1965 and 2010 except for station group B. Numbers on the bars is the cumulated appearance of *Scomber japonicus* larvae off Korean Peninsula 24

Fig. 4. Map showing the stations collected *Scomber japonicus* eggs (open square) and larvae (dark circles) around the Korean Peninsula from 1965 to 2010 25

Fig. 5. Map showing the seasonal occurrence pattern of *Scomber japonicus* larvae around the Korean Peninsula from 1965 to 2010 26

Fig. 6. Phylogenetic relationships among the haplotype of the ND5 gene in the *Scomber* taxa revealed by the neighbour-joining distance method. Branches with bootstrap values < 70 are collapsed. The numbers on the branches are bootstrap percent values (1,000 replication). SjHap A~F: *S. japonicus* haplotype; SaHap A~P: *S. australasicus* haplotype; ScHap A~D: *S. colias* haplotype; SsHap A~E: *S. scombrus* haplotype 27

Table List

| | |
|---|----|
| Table 1. Number of specimens identified into the species level using ND5 marker | 28 |
| Table 2. Interspecific and intra-specific variations in a 585 nucleotide long region of ND5 gene among the four <i>Scomber</i> taxa. Agreement with the sequence of haplotype A of <i>Scomber japonicus</i> is noted with a dot (·) | 28 |
| Table 3. Interspecific and intra-specific genetic distance in a 585 nucleotide long region of ND5 gene among the four <i>Scomber</i> taxa. Analyses were conducted using the Kimura 2-parameter model (Kimura, 1980) | 29 |
| Table 4. Mean Tamura-Nei genetic distance within and among <i>Scomber</i> species derived from partial ND5 mtDNA sequences data | 29 |

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 필요성

가. 기술적 측면

- 기후변화에 따른 해양생태계의 반응이 한반도 주변해역에서 관측됨
 - 해양생태계의 반응 증거는 동해와 남해에 난류생물의 유입량 증가, 심해어종의 자치어 유입, 생태적 특성이 유사한 종간 생물량 변동 등
 - 생태적 특성이 유사한 종간 생물량 변동은 북서태평양에서 정어리(감소)-멸치(증가)(Takasuka et al., 2007)와 고등어(감소)-망치고등어(변동 없음)(Hiyama et al., 2002; Yukami et al., 2009)에서 보고됨
 - 지질학적으로는 최근 빙하기 이후에 수온상승에 따라 동해로 유입한 중층성 어류의 대 변성(Kim et al., 2008a)
- 발생초기의 생물은 환경변화에 대한 감수성이 매우 큼
 - 이러한 감수성을 이용하여 발생초기의 해양생물의 사망률과 성장률을 환경변화에 대한 영향과 환경독성 지표로 활용함
 - 발생초기 해양생물 사이의 감수성 차이가 생태적 특성이 유사한 종간 경쟁에 지대한 영향을 줄 수 있음(Takasuka et al., 2007)
- 해양생물 중 발생초기의 생태연구가 가장 많이 축적된 것은 난자치어임
 - 난자치어 관련 연구는 분포, 군집 특성, 산란장, 보육장, 사망률과 성장률, 자원량 추정과 예측 등 매우 다양함
 - 난자치어 중에서 많은 연구가 축적된 분류군은 종 동정이 쉽거나 생물량이 많은 멸치, 명태, 대구, 고등어, 앨통이 등
- 난자치어 생태연구의 시작은 종의 동정임
 - 난자치어를 동정하기 위해 가장 널리 쓰이는 기술은 형태형질 분석임
 - 소량의 난자치어 표본을 형태형질로 분석하는 것은 비용이 저렴하고 분석시간이 짧음
 - 하지만 형태형질로 난자치어를 동정할 때 분류의 기준인 성어와 직접 비교가 매우 어려움

- 동정된 난자치어의 정확성을 보장하기 어렵고, 연구자간 분석 결과의 차이 검증 불가능
- 형태형질 분석의 단점을 극복하기 위해 난자치어의 종 동정에 분자마커 기술의 도입이 필요함
 - 분자마커는 어란, 자치어, 유어, 성어 등 발생단계에 따라 변하지 않음
 - 분자마커로 분류의 기준인 성어와 난자치어를 직접 비교할 수 있음
 - 분자마커를 활용한 난자치어의 종 동정 결과는 연구자간 편차가 없음
 - 하지만 난자치어 시료를 처리하는데 많은 시간과 비용이 소요됨
- 난자치어의 생태적 특성을 기후변화에 따른 해양생태계 반응의 지표로 활용하기 위해서는 많은 표본을 저비용으로 짧은 시간에 종 수준으로 분석하는 방법의 개발이 필요함

나. 경제, 산업적 측면

- 기후변화에 따른 해양생태계변화를 진단하고 예측하기 위해 많은 연구가 한반도 주변해역에서도 수행되었지만 가시적인 성과 도출은 매우 어려움
- 적은 비용으로 해양생계변화를 관측하기 위해서는 지표생물의 발굴이 필요함
- 지표생물로 적합한 해양생물의 하나는 해양환경변화에 민감한 발생초기 난자치어임
- 북서태평양에서 기후변화에 따른 지표생물의 적합 후보는 고등어와 망치고등어 난자치어
 - 고등어와 망치고등어는 생태적 특성이 유사하여 경쟁 관계에 있고 분포해역이 열대해역과 온대해역의 경계면임
 - 기후변화에 따른 두 종의 발생초기 적응력의 조그만 차이가 생물량 변동의 큰 차이로 나타날 수 있기 때문임
 - 두 종의 생물량 변동은 상업적 어획자료를 통해 지속적으로 모니터링 되고 있음
- 고등어와 망치고등어 난자치어의 북방한계선 조사는 기후변화에 따른 해양생태계의 변화를 진단하고 예측하는데 큰 기여를 할 수 있음

다. 사회, 문화적 측면

- 해양보호구역 설정에 필요한 난자치어 종판별 정보제공
- 어류의 유전자원 확보
- 한반도 주변해역에 서식하는 어류의 유전적 유사성을 활용한 해양의 생태축 연구에 기여

제 2 절 연구개발의 목표 및 내용

- 고등어 난자치어를 활용한 한반도 주변해역의 고등어 산란장 탐색
- 고등어속 어류의 난자치어 종판별 분자 마커 개발

제 2 장 국내외 기술개발 현황

제 1 절 국내 연구동향

- 분자마커를 활용한 난자치어 종동정과 해양생물의 종판별 DNA 칩 개발
 - 분자마커를 활용한 해양생물 종판별 연구가 한국해양연구원, 국립수산물과학원, 제주대 등에서 수행중임
 - 한국해양연구원의 연구결과
 - . 분자마커를 활용한 해양생물의 종 판별용 DNA 칩 개발(Yoon et al., 2009)
 - . 분자마커를 활용한 여을멸 유생(Kim et al., 2008b)과 앨통이 난자치어(Kim et al., 2008a)의 종 동정
 - . 고등어, 감성돔, 갈치, 만새기, 전어, 꽃돛양태, 가라지 등의 난자치어 단일 개체의 표본을 분자마커를 분석하여 종 수준으로 분석함(한국해양연구원 미발표자료)
 - 국립수산물과학원: 분자마커와 형태형질 정보가 융합된 난자치어 분류기술서 발간 연구 수행 중

제 2 절 국외 연구동향

- 분자마커를 활용한 어류의 종판별 연구는 미국, 일본, 스페인, 호주 등 다양한 국가에서 활발하게 수행됨
 - 형태형질을 활용한 어류 종판별과 집단분석의 한계를 분자마커 기술로 극복이 가능하기 때문임
 - 호주: 754종의 어류를 분자마커로 분석하는 기술 확보(Ward, et al., 2005)
 - 이탈리아: 분자마커를 활용한 고등어류의 집단 분석(Zardoya et al., 2004)
 - 대만: 고등어의 유전자 다양성 연구(Tzeng et al., 2007)
- 분자마커를 활용한 난자치어의 종 동정 연구가 급격하게 증가하고 있음
 - 스페인, 그리스, 포르투갈: 가자미류, 대구류, 고등어류, 전갱이류, 개복치류

- 등의 난자치어 분석(Perez et al., 2005; García-Vázquez et al., 2006)
- 미국: 통돔과 민어과 어란 분석(Bayha et al., 2008), 고등어과 어란 분석(Paine et al., 2008)
- 일본: 금눈돔 어란 분석(Akimoto et al., 2002), 분자마커를 활용한 단일 개체의 어란 종 판별(Aranishi, 2006)
- 고등어류의 산란장과 생물량의 연변동 분석
 - 일본: 고등어와 망치고등어의 산란장 추정(Yukami et al., 2009), 자원량 연변동 연구(Hiyama et al., 2002)

제 3 절 현재까지의 연구개발 동향

- 한반도 주변해역에서 고등어 생태연구 사례
 - 고등어 유어 이석의 일륜 분석을 통한 산란시기 추정(Hwang and Lee, 2005)
 - 한반도 주변해역에 서식하는 고등어의 성장(Hwang et al., 2008)
 - 제주도 주변해역에서 고등어 자치어의 분포(Kim et al., 2004)
- 발생중인 고등어의 난과 자치어의 발생연구(Park et al., 2008)

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 고등어 난자치어의 북방한계선 탐색을 위한 분자마커 개발

가. 서론

북서태평양에 분포하는 고등어속(*Scomber*) 어류는 고등어(*S. japonicus*)와 망치고등어(*S. australasicus*) 두 종이다(Kim et al., 2005a; Yamada et al., 2007; Eschmeyer, 2012). 두 종의 고등어속 어류는 이 해역에서 상업적 이용도가 매우 높다. 이 중 고등어는 동중국해(East China Sea)와 동해(East Sea)에 각각 대한해협계군과 동중국해계군의 존재 가능성이 있다. 특히 고등어의 대한해협계군은 한국과 일본의 선망에서 동중국해계군보다 더 중요하다(Yamada et al., 2007).

동중국해에서 고등어와 망치고등어 성체의 생식소지수 변화로 추정된 두 종의 산란장과 산란시기는 서로 중첩한다. 산란시기는 고등어와 망치고등어가 각각 2~7월과 2~5월이다. 산란장내 표층의 수온은 두 종이 각각 15~22°C와 17~22°C이다. 고등어가 망치고등어보다 산란시기가 더 길고, 산란장 내 표층 수온의 변화 폭이 더 넓다(Yukami et al., 2009). 한반도의 남부 연안에서 수집된 고등어 유어의 이석으로부터 추정된 고등어의 산란기는 5월 중순에서 6월 초순이다(Hwang and Lee, 2005).

한반도 주변해역에서 고등어 자치어는 동해, 황해, 남해에 분포한다(Lim et al., 1970; Hur and Yoo, 1984; Yoo, 1988; Kim et al., 2004; Kim et al., 2005). 이 종의 자치어 출현시기는 조사 해역에 따라 많은 차이가 있다. 해역별 고등어 자치어의 출현 시기는 남해연안 1월과 2월(Kim, 1983), 제주도 연안 9~3월(Go et al., 1991), 제주도 근해 5월 중순에서 6월초(Kim et al., 2004; Kim et al., 2005b), 황해 6월, 8월이다(Kim, 1982; Hur and Yoo, 1984; Yoo, 1988). 동중국해 남부해역에서 이들의 출현시기는 2월말에서 3월초였다(Sassa and Tsukamoto, 2010).

고등어와 망치고등어의 난과 자치어는 형태형질로도 구분이 가능하다(Ozawa, 1984; Shao et al., 2001). 하지만 생태연구를 위해 수집한 두 종의 고등어속 어란과 자치어를 형태형질만으로는 구분하는 것은 어렵다(Kitagawa et al., 1995; Sassa et al., 2008; Sassa and Tsukamoto, 2010). 따라서 고등어와 망치고등어 두 종의 성

체가 분포하고 있는 한반도 주변해역에서(Kim et al., 2005a) 출현이 보고된 고등어 자치어 분포자료에(Kim, 1982; Yoo, 1988; Go et al., 1991; Kim et al., 2004; Kim et al., 2005b) 망치고등어의 정보도 포함되었을 가능성이 매우 높다. 그 가능성은 동중국해의 남부해역의 동일해역에서 이 두 종의 자치어 동시 출현(Sassa and Tsukamoto, 2010)이 이를 뒷받침한다.

한반도 주변해역에서 고등어는 물론 망치고등어의 산란장은 알려져 있지만 어란과 자치어의 출현 정보를 이용한 산란장의 정확성이 검증되지 않은 실정이다. 이에 본 연구에서 고등어 난자치어 출현정보를 이용하여 고등어의 산란장을 분석하였다. 이를 위해 한반도 주변해역의 고등어 난자치어 출현정보를 수집하여 분포도 작성과 자료의 오류 가능성을 조사하였다. 또한 고등어의 어장이 일시적으로 형성되는 황해중동부해역에서 고등어의 산란 가능성을 확인하기 위해 난자치어 표본을 수집하여 분자마커로 고등어 어란과 자치어의 출현 유무를 분석하였다.

나. 재료 및 방법

고등어 산란장 분석에 사용된 난자치어 자료는 1965~2010년에 한반도 주변해역과 동중국해에서 조사된 31건(Appendix I)의 문헌 정보와 황해중동부해역에서 2008년 6월, 2009년 7월, 9월의 정점군 A(6개 정점)의 3회 조사와 2010년 5~8월에 1주일 간격으로 4개의 정점에서 12회 조사한 정점군 B의 표본 분석 결과이다. 자료 분석에 사용된 정점의 수는 황해중동부해역의 A 정점군과 남해의 B 정점군을 포함하여 총 1,457개였다(Fig. 1).

고등어 난자치어 출현 정보(Appendix I) 내 오류 가능성을 조사하였다. 종 동정의 오류 분석에 사용된 자료는 한반도 주변해역과 동중국해에서 고등어의 추정 산란시기(Hwang and Lee, 2005; Hwang et al., 2008; Yukami et al., 2009; Sassa and Tsukamoto, 2010)와 고등어 난자치어의 형태기록(Okiyama, 1988; Shao et al., 2001) 등 이다.

황해중동부해역에서 수집된 난자치어 표본(Fig. 1; Table 1)에서 고등어속 난자치어와 형태형질(Okiyama, 1988; Shao et al., 2001)이 유사한 것을 골라냈다. 이들 난자치어 표본을 동정하기 위해 미토콘드리아의 ND5 단편의 염기서열을 분석하였다. 종 판별 기준인 ND5 염기서열 정보를 NCBI/DB와 고등어 성체에서 확보하였다. 고

등어 성체 표본을 시장과 한국해양과학기술원의 통영해양생물자원연구·보존센터에서 수집하였다(Table 1). 고등어와 망치고등어 성체 표본(Fig. 2)의 종 동정을 위해 Kim et al.(2005a)과 Nakabo(2002) 등의 문헌을 참고하였다.

ND5 유전자 단편의 염기서열을 분석하기 위해 난자치어 각각의 단일 표본에서 gDNA를 추출하였다. 난자치어 gDNA 추출에 10% Chelex (Bio Rad, USA)와 proteinase K (Qiagen, USA) 혼합 시약을 사용하였다. 시약과 표본 혼합물을 55°C에서 20분간 반응 시킨 후 99°C에서 10분간 가열하였다. 반응물을 5분간 원심분리한 후 상등액을 PCR 주형으로 사용하였다. 유전자 증폭에 사용한 프라이머는 ND5 516F (5'-GGCCCTACAAGCTGTTGTAT-3')와 ND5 1161R (5'-TCGGAAGCCTCGCACTAACA-3')였다. 프라이머는 고등어속 어류의 ND5 염기서열을 참고하여 제작하였다. PCR 조건은 초기 변성 94°C 5분, 40회의 변성 94°C 30초, annealing 55°C 30초, 신장반응 72°C 1분 그리고 부가 신장반응 72°C 10분 이었다. 고등어와 망치고등어 성체의 gDNA를 genomic DNA mini kit(RBC, USA)로 가슴지느러미(5 × 5 mm)(Table 2)에서 추출하였다. 추출된 gDNA를 이용하여 ND5 유전자를 PCR로 증폭하였다. PCR 조건은 난자치어 실험과 동일하였다.

난자치어와 성체의 PCR 증폭산물의 염기서열을 제조사의 프로토콜에 따라 3730xl 염기서열 분석장치(Applied Biosystems Inc.)로 분석하였다. 염기서열 자료를 BioEdit V7.1.3(Hall, 1999)으로 정렬하였다. 이들 염기자료를 NCBI/GenBank에 기록된 고등어(*S. japonicus*), 망치고등어(*S. australasicus*), *S. scombrus*, *S. colias*의 염기서열자료(*S. japonicus* 4개, AB241451~3, AB488405; *S. australasicus* 7개, AB241444, AB241445, AB241447~50, AB488407; *S. scombrus* 10개, AB120717~85, DQ028059; *S. colias* 11개, AB242186~91, AB242193~6, AB488406)와 비교하였다.

고등어속 4종의 ND5 염기서열의 haplotype 자료를 MEGA 5 (Tamura et al., 2011)를 이용하여 neighbour-joining distance 방법으로 분자계통도를 작성하였다. Neighbour-joining distance 분석에 Kimura-2-parameter 염기치환 모델을 사용했다(Kimura, 1980). 각각의 branch의 robustness 계산을 위해 1,000반복 bootstrapping을 계산하였다.

다. 결과

고등어(*Scomber japonicus*) 자치어는 총 1,457개의 난자치어 조사 정점의 4.4%인 64개 정점에서 출현하였다. 난자치어 월별 누적 조사 정점의 수는 최소 17개에서 최대 253개였다(Fig. 3). 조사 정점의 수가 가장 많은 시기는 5월이었고, 가장 적은 시기는 10월과 12월이었다. 조사 정점의 수는 5월 이후가 4월 이전보다 두 배 정도 많았다. 고등어 자치어가 출현한 3~10월의 월별 누적 출현 정점의 수는 1~25개였다. 누적 조사 정점 수 대비 고등어 자치어의 출현비율이 가장 높은 시기는 7월로, 이 종의 자치어가 출현한 정점의 수는 7월 누적 조사정점의 12.5%인 19개였다. 다음은 5월로 5월 누적 조사 정점의 9.9%인 25개 정점에서 고등어 자치어가 발견되었다. 3월에는 고등어 자치어가 3월 누적 조사 정점의 8.8%인 7개 정점에서 채집되었다. 그 이외의 조사 시기에는 고등어 자치어의 누적 출현정점의 수는 4개 이하였다.

고등어(*Scomber japonicus*) 어란은 황해 중동부 해역의 A 정점군에서만 발견되었다(Fig. 4). 그 이외의 해역에서는 출현기록이 없었다. 이에 반하여 자치어는 남해, 동해, 대한해협, 황해는 물론 동중국해까지 광범위한 해역에서 출현하였다. 고등어 자치어의 출현빈도가 높은 곳은 제주도와 대한해협 주변해역이었다. 동중국해는 조사 정점수 대비 출현한 정점의 수가 비교적 많았다. 고등어 자치어가 출현한 해역은 대부분 쿠로시오 난류수의 영향을 받는 동중국해와 그 지류인 대마난류수의 영향을 받는 제주도 주변해역과 대한해협이었다(Isobe, 1999; Guo et al., 2006; Seung, 2012). 이에 반하여 황해와 동해에는 고등어 자치어가 출현한 정점의 수가 매우 적었다(Fig. 4).

한반도 주변해역에서 고등어 자치어는 3~10월에 출현하였다(Fig. 5). 이 종의 자치어 분포 해역은 시간에 따라 변하였다. 3월에 고등어 자치어가 출현한 해역은 제주도 동남부 해역이었다. 4월의 분포 해역은 3월의 분포 경향과 유사하였다. 5월에는 분포 범위가 동해까지 확장되었다. 6월에는 제주도 동남부해역에 국지적으로 출현하였다. 7월에는 제주도 동부, 대한해협, 동해, 황해 등 가장 광범위한 해역에서 출현하였다. 9월 이후에는 동해 남부해역에서만 출현하였다.

고등어(*Scomber japonicus*) 21마리와 망치고등어(*S. australasicus*) 19마리의 성어로 분석한 ND5 미토콘드리아 유전자 염기서열의 길이는 585bp였다. 이 염기서열을 NCBI GenBank에서 수집한 고등어속 4 종의 32개 ND5 염기서열정보와 비교하였

다(Table 2). 이들 72개의 ND5 염기서열에서 발견된 haplotype의 수는 총 31개였다. 이 중에서 haplotype의 종류가 가장 많은 것은 망치고등어로 16개였다. 다른 종들의 haplotype은 고등어 6개, *S. scombrus* 5개, *S. colias* 4개였다.

고등어속 4종의 ND5 염기서열에서 발견된 염기의 전이와 치환은 모두 88개였다(Table 2). 고등어의 우점 haplotype A를 기준으로 염기전이 T↔C와 A↔G가 각각 42개와 26개였다. 염기치환 A↔C, A↔T, G↔C가 각각 8개, 3개, 3개였다. 염기의 전이와 치환은 A↔T↔C, A↔G↔T, A↔T↔G↔C가 각각 3개, 2개, 1개였다. 이러한 염기 전이와 치환 중에서 고등어와 망치고등어에서 발견된 종특이적 SNP(single nucleotide polymorphism)는 총 6개였다.

고등어속 4종의 ND5 염기서열에서 발견된 31개 haplotype의 종내, 종간 유전적 차이를 분석하였다(Table 3, 4). 이들 4 종의 종내 유전적 차이는 0.002~0.009(평균 0.002~0.004)였다. 종별 종내 유전적 차이는 고등어 0.002~0.005(평균 0.002), 망치고등어 0.002~0.007(평균 0.003), *S. colias* 0.002~0.009(평균 0.004), *S. scombrus* 0.002~0.003(평균 0.002)였다. 이 중에서 종내 평균 유전적 차이가 가장 큰 종은 *S. colias*였고, 고등어와 *S. scombrus*가 가장 적었다. 종간 유전적 차이는 0.012~0.139(평균 0.010~0.092)였다. 종간 최소 유전적 차이는 고등어와 망치고등어에서 발견되었다. 두 종간 유전적 차이는 0.012~0.017(평균 0.010)였다. 이 값은 종내 최대 유전적 차이를 보인 *S. colias*의 0.002~0.009(평균 0.002) 보다 컸다. 다른 종간 유전적 차이는 고등어와 *S. colias* 0.024~0.033(평균 0.020), 고등어와 *S. scombrus* 0.131~0.139(평균 0.092), 망치고등어와 *S. colias* 0.023~0.032(평균 0.018), 망치고등어와 *S. scombrus* 0.127~0.137(평균 0.089), *S. colias*와 *S. scombrus* 0.114~0.125(평균 0.081)였다. 고등어속 4종의 ND5 염기서열은 종간 유전적 변이가 종내 유전적 변이보다 충분히 커 고등어속 종 동정이 가능한 분자마커였다.

황해 중동부 해역에서 수집된 고등어속 어란 12개, 자치어 3마리에서 분석한 ND5 미토콘드리아 유전자 염기서열의 길이는 585bp였다. 분석된 ND5 염기서열 중 어란 11개와 자치어 3마리는 고등어의 haplotype A와 일치하였고, 어란 1개는 haplotype B와 일치하였다. 이 결과를 토대로 고등어속 난자치어를 고등어로 동정하였다(Table 2). 이에 반하여 한반도의 남해 연안에서 2010년 5~8월에 고등어속 난자치어는 전혀 출현하지 않았다.

고등어 난자치어를 포함하여 고등어속 4종의 haplotype을 이용하여 분자계통도를

작성하였다(Fig. 6). 고등어속 4종의 분자계통도에서 각각의 분지는 bootstrap 값이 96% 이상으로 서로 뚜렷하게 구분이 되었다. 종간 유전적 다양성 차이가 가장 작은 고등어와 망치고등어 사이의 분지도 길이가 가장 짧았다. 반면 종간 유전적 차이가 가장 큰 *S. scombrus*는 다른 분류군과 분지도 길이가 가장 길었다(Table 2).

라. 고찰

어란의 분포는 어류의 산란장과 산란시기 규명에 필요한 핵심 정보를 제공한다(Fox et al., 2008; Kawakami et al., 2010). 하지만 어란을 형태형질만으로 종 수준으로 분석하는 것은 매우 어렵기 때문에(Okiyama, 1988; Sezaki et al., 2001; Shao et al., 2002) 산란장 분석에 사용 가능한 종은 매우 제한적이다. 그 대안으로 고등어의 경우 산란생태 연구에 어란보다 형태형질로 종 동정이 유리한 자치어의 분포(Sassa and Tsukamoto, 2010), 유어의 이석 분석(Hwang and Lee, 2005), 성체의 분포와 생식소지수 변화(Yukami et al., 2009) 등이 활용된다. 본 연구는 한반도 주변해역의 고등어 산란장 분석을 위해 고등어 자치어 출현 정보를 수집하여 분석하였다(Fig. 4). 고등어 자치어의 누적 분포 밀도가 높은 해역은 제주도 주변해역과 대한해협 사이였다. 이 해역은 고등어의 어획자료와 생식소지수를 이용하여 추정된 산란장과 일치하였다(NFRDI, 2005; Yukami et al., 2009). 뿐만 아니라 고등어 자치어의 출현빈도가 높은 5월과 7월(Fig. 5)은 조사해역과 인접한 남해연안에서 수집된 고등어 유어의 이석 분석으로 확인된 고등어의 주 산란시기인 5월(Hwang et al., 2008) 이후였다. 이들 자치어와 유어는 한반도 남부해역의 고등어 산란장에서 산란된 어란이 부화했을 가능성이 매우 높다.

한반도 주변해역에서 고등어의 주 산란시기 이외에도 이 종의 난자치어가 출현하였다(Fig. 4, 5). 한반도 남부해역에서 고등어 주 산란장에서 산란시기로 추정된 5월(Hwang and Lee, 2005; NFRDI, 2005; Hwang et al., 2008; Yukami et al., 2009) 이전인 3월과 4월에 고등어의 자치어가 제주도 주변해역에 출현하였다(Fig. 5). 뿐만 아니라 제주도 연안에서는 9~3월에 걸쳐 장기간 이 종의 자치어가 출현하였다(Go et al., 1991). 제주도 주변해역에서 3월과 4월에 출현한 고등어 자치어는 산란시기가 빠른 동중국해 남부해역에서 부화된 것들이 쿠로시오난류와 대마난류(Isobe, 1999; Guo et al., 2006; Yukami et al., 2009; Sassa and

Tsukamoto, 2010)에 의해 제주도 주변해역으로 수송되었을 가능성이 높다. 하지만 제주도 연안에서 9~3월에 출현한 자치어(Go et al., 1991)는 종 동정의 오류일 가능성이 높다. 한반도 남해연안에서 조사된 고등어 유어의 이석으로부터 밝혀진 이 종의 주 산란시기(Hwang and Lee, 2005)는 물론 동중국해 남부해역에서 자치어의 출현시기(Sassa and Tsukamoto, 2010), 성어의 생식소 지수를 이용한 산란시기(Yukami et al., 2009)를 벗어나기 때문이다. 한반도 남해연안의 창선해협에서 1~2월에 출현이 보고된 고등어의 자치어는 크기가 9.9 mm TL이다. 이 표본의 체형과 흑색소포 등의 기록(Kim, 1983)은 고등어 보다는 Cottidae와 더 유사하다. 따라서 한반도 주변해역과 동중국해에서 고등어 산란시기(Hwang and Lee, 2005; Hwang et al., 2008; Yukami et al., 2009)와 고등어 자치어의 형태 기록(Kim, 1983) 등을 고려할 때 2월 이전의 고등어 자치어 출현기록은 종 분석의 오류로 판단된다.

고등어의 산란장으로 알려진 한반도 남부해역에 위치한 제주도-대한해협 이외의 해역인 동해에서는 5월, 7월, 9월에 이 종의 자치어가 출현하였다. 하지만 산란장과 인접 해역인 남해 연안의 정점군 B에서는 이 종의 난자치어가 5~8월에 전혀 출현하지 않았다. 이에 반하여 황해 중동부 해역과 정점군 A에서 6월과 7월에 고등어 자치어가 출현하였다(Kim, 1982; Fig. 5). 동해에서 고등어의 어장은 9월 이후에 형성된다. 이에 반하여 황해는 이보다 더 빠른 7월부터 형성되며 동해보다 어장의 면적과 어획량이 더 많다(Hwang, et al., 2001; NFRDI, 2005). 고등어의 어장이 형성되지 않은 시기에 동해에서 5월과 7월에 발견된 고등어 자치어의 종 동정이 정확하다면 이들은 제주도-대한해협의 고등어 산란장에서 부화된 자치어들이 한반도의 남부에서 동부해역을 따라 흐르는 대마난류와 한국동한난류(Isobe, 1997)에 의해 수송되었을 가능성이 높다. 황해에서도 황해난류(Yellow Sea Warm Current)에 의한 고등어 자치어의 수송을 생각해 볼 수 있다. 그러나 이 난류는 대마난류처럼 지속적인 흐름이 아니기 때문에(Teague and Jacobs, 2000; Lie et al., 2001) 제주도 주변해역의 고등어 산란장에서 부화된 자치어가 황해로 수송되었을 가능성은 매우 낮다. 따라서 황해에서 출현한 고등어 자치어는 동해에서 동종의 자치어 출현양상과 달리 황해로 유입한 고등어의 성체가 산란한 어란이 부화되었을 가능성이 높다. 그 가능성은 황해의 중동부해역에서 수집된 어란 중 6월과 7월 조사에서 ND5 마커로 확인된 고등어 어란의 존재가 이를 뒷받침한다(Table

2; Fig. 5).

고등어의 산란장과 보육장 규명을 위해서는 수집된 자료의 정확성 검증은 매우 중요하다. 고등어 자치어의 출현정보 중 산란시기 이전의 자료는 물론 형태형질 기록에서 종 동정의 오류 가능성이 발견되었기 때문이다(Kim, 1983; Go et al., 1991). 뿐만 아니라 한반도 주변해역과 동중국해에 분포하는 고등어와 망치고등어 두 종의 산란장과 산란시기가 서로 중첩되기 때문이다(Yukami et al., 2009). 2000년을 기점으로 한반도와 동중국해에서 그 이전에는 망치고등어보다 고등어의 어획량이 약 4~5배 정도 많았다. 하지만 그 이후에는 고등어의 자원량이 큰 폭으로 감소하여 고등어의 자원량이 망치고등어와 유사해졌다(Yukami et al., 2009). 고등어속 난자치어의 종 분류는 어렵지만(Kitagawa et al., 1995; Sezaki et al., 2001; Cheng et al., 2011) 고등어와 망치고등어의 자원량 구성비를 고려한다면 2000년 이전에 조사된 고등어의 자치어 출현정보는 대부분 고등어일 가능성이 매우 높다(Lim et al., 1970). 2000년 이후에는 고등어와 망치고등어 두 종이 혼재 비율이 비슷할 가능성도 있다. 두 종의 혼재 가능성은 동중국해에서 두 종의 자치어가 동일해역에서 동시 출현(Sassa and Tsukamoto, 2010)과 동중국해와 한반도 주변해역에서 산란장과 산란시기의 중첩(Yukami et al., 2009)이 이를 뒷받침한다.

분자마커는 형태형질로 종 분석이 어려운 표본은 물론 난자치어를 종 수준으로 분석할 수 있는 강력한 수단이다(Shao et al., 2002; Kim et al., 2008; Kawakami et al., 2010; Sassa and Tsukamoto, 2010). 분자마커의 유용성은 어류의 산란장 규명에 필요한 직접적인 증거인 어란의 종 분석에서 그 가치가 확인된다(Fox et al., 2008; Kawakami et al., 2010). 광범위한 해산어류의 종 분석에 사용되는 분자마커 중의 하나가 미토콘드리아 DNA의 COI 유전자이다. 하지만 분류군에 따라서는 종간 유전적 차이가 크지 않다(Ward et al., 2005). 따라서 유사 분류군의 종 분석에 사용할 분자마커는 종내 변이보다 종간 변이가 충분히 커야한다. 현재 고등어속에는 고등어, 망치고등어, *S. colias*, *S. scombrus* 4 종의 유효성이 분자마커를 이용한 계통분석을 통해 입증되었다(Infante et al., 2007; Cheng et al., 2011). 고등어속 어종 분석에 사용 가능한 분자마커는 미토콘드리아 DNA의 COI, Cytb, ND5, Control region, 핵 DNA의 5S 등이 있다. 이 중에서 ND5는 약 600bp 단편으로도 종 분석에 충분한 해상도를 제공하였다(Infante

et al., 2007; Cheng et al., 2011). 따라서 ND5 마커는 고등어속 난자치어를 종으로 구분할 수 있는 적합한 분자마커였다.

본 연구에서 분석한 ND5 mtDNA의 585bp 길이의 염기서열은 고등어, 망치고등어, *S. colias*, *S. scombrus* 4 종을 충분히 종 수준으로 구별할 수 있는 해상력을 가지고 있다(Table 2). 이들 어종의 종 판별에 필요한 종간 평균 유전적 변이의 최소값 0.010은 종내 최대 평균 유전적 변이 값 0.004보다 두 배 이상 크기 때문이다(Table 3). 뿐만 아니라 본 연구 대상 어종인 북서태평양에 분포하는 고등어와 망치고등어 두 종을 구분할 수 있는 종 특이적 SNP는 총 585개의 염기서열에서 총 6개 발견되었다(Table 2). 이와 같은 ND5의 종 특이적 SNP의 수는 766bp 길이의 5S 유전자 염기서열에서 발견된 4개(Infante et al., 2007)보다 많았다. ND5 haplotype을 이용한 K2P 염기치환모델을 활용한 neighbour-joining distance 분석에서 이들 4 종은 bootstrap value 값이 96% 이상으로 뚜렷하게 구분되었다(Fig. 6). 따라서 ND5 분자마커는 황해중동부해역에서 수집된 어란과 자치어(Table 1; Fig. 4)에서 고등어 어란과 자치어의 존재를 확인하는데 충분한 해상도를 제공하였다(Table 2, 3; Fig. 6).

한반도 주변해역에서 수집된 고등어 성체 표본에서 확인된 ND5 haplotype은 총 3개였다. 이 중 우점 haplotype은 A와 B로 그 비율은 47.6%로 동일하였다(Table 2). 이에 반하여 황해중동부해역에서 수집된 고등어 난자치어의 haplotype A와 B의 비율은 각각 93.3%와 0.7%였다(Table 2). 황해중동부해역에서 수집된 난자치어 haplotype의 비율이 성어의 것과 큰 차이를 보이는 것은 고등어가 산란해역에 따라 유전적 차이가 있는 집단의 존재 가능성을 시사한다.

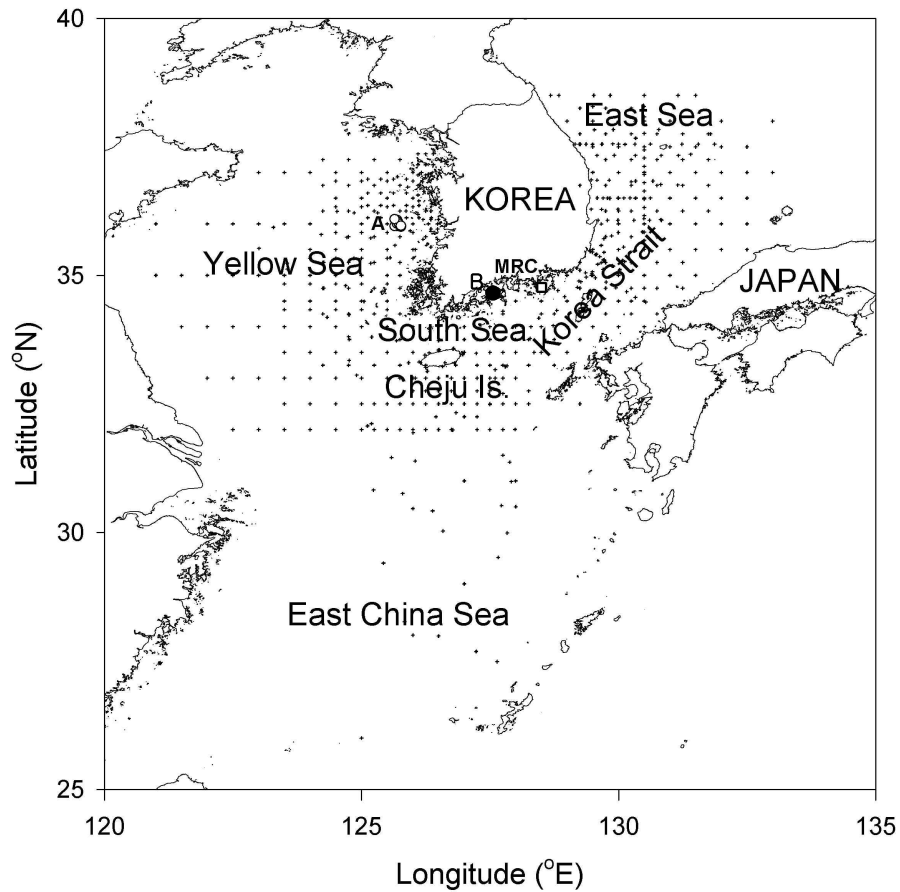


Fig. 1. Map is showing the sampling stations (cross) from 1965 to 2010 around the Korean Peninsular from Appendix 1. A (open circles) was a station group surveyed in the mid-east Yellow Sea in June, July and September 2008 and 2009. B (dark circles) was a station group weekly surveyed from May to August 2010. An open square was Tongyoung Marine Living Resources Research and Conservation Center (MRC) of Korea Ocean Research and Development Institute.



Fig. 2. Photos of *Scomber japonicus* (upper) and *Scomber australasicus* (lower).

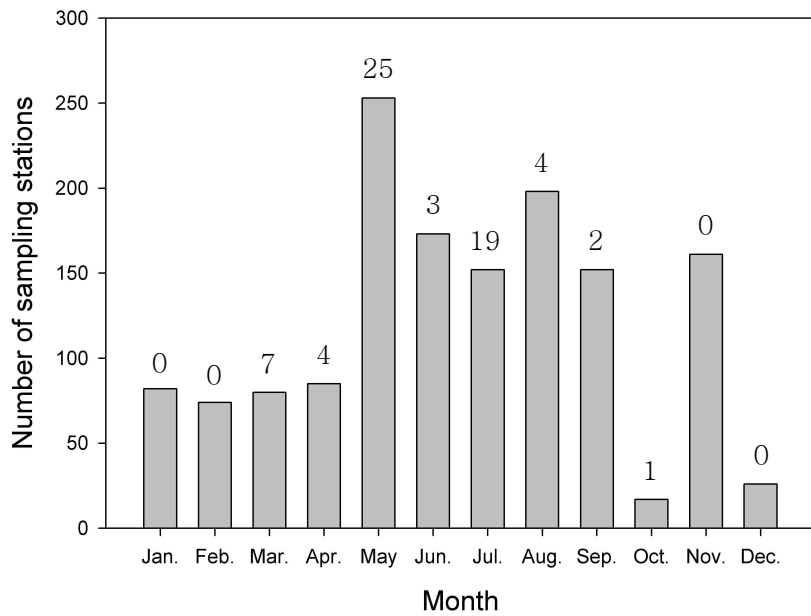


Fig. 3. Number of sampling stations around Korean Peninsula between 1965 and 2010 except for station group B. Numbers on the bars is the cumulated appearance of *Scomber japonicus* larvae off Korean Peninsula.

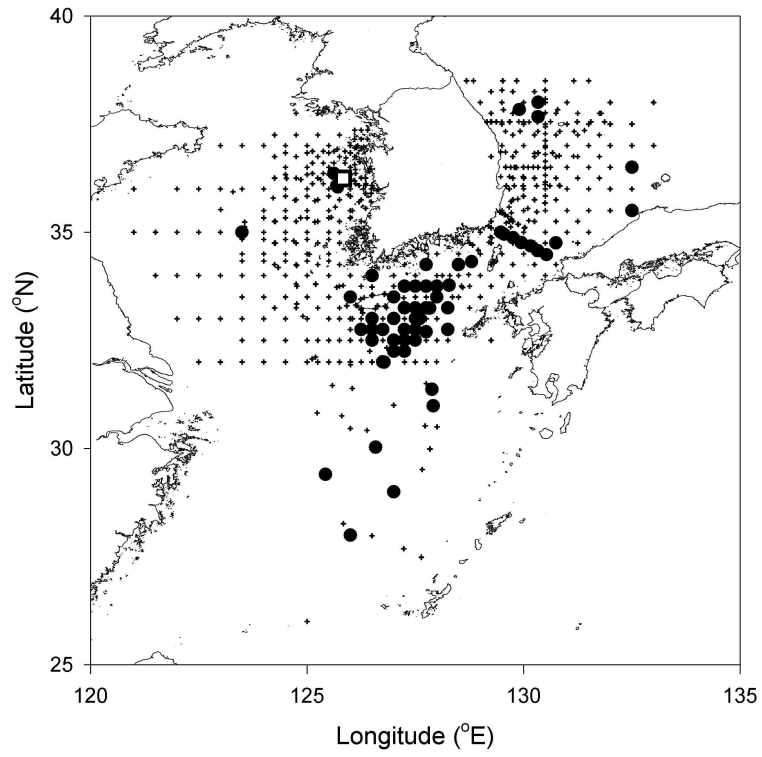


Fig. 4. Map showing the stations collected *Scomber japonicus* eggs (open square) and larvae (dark circles) around the Korean Peninsula from 1965 to 2010.

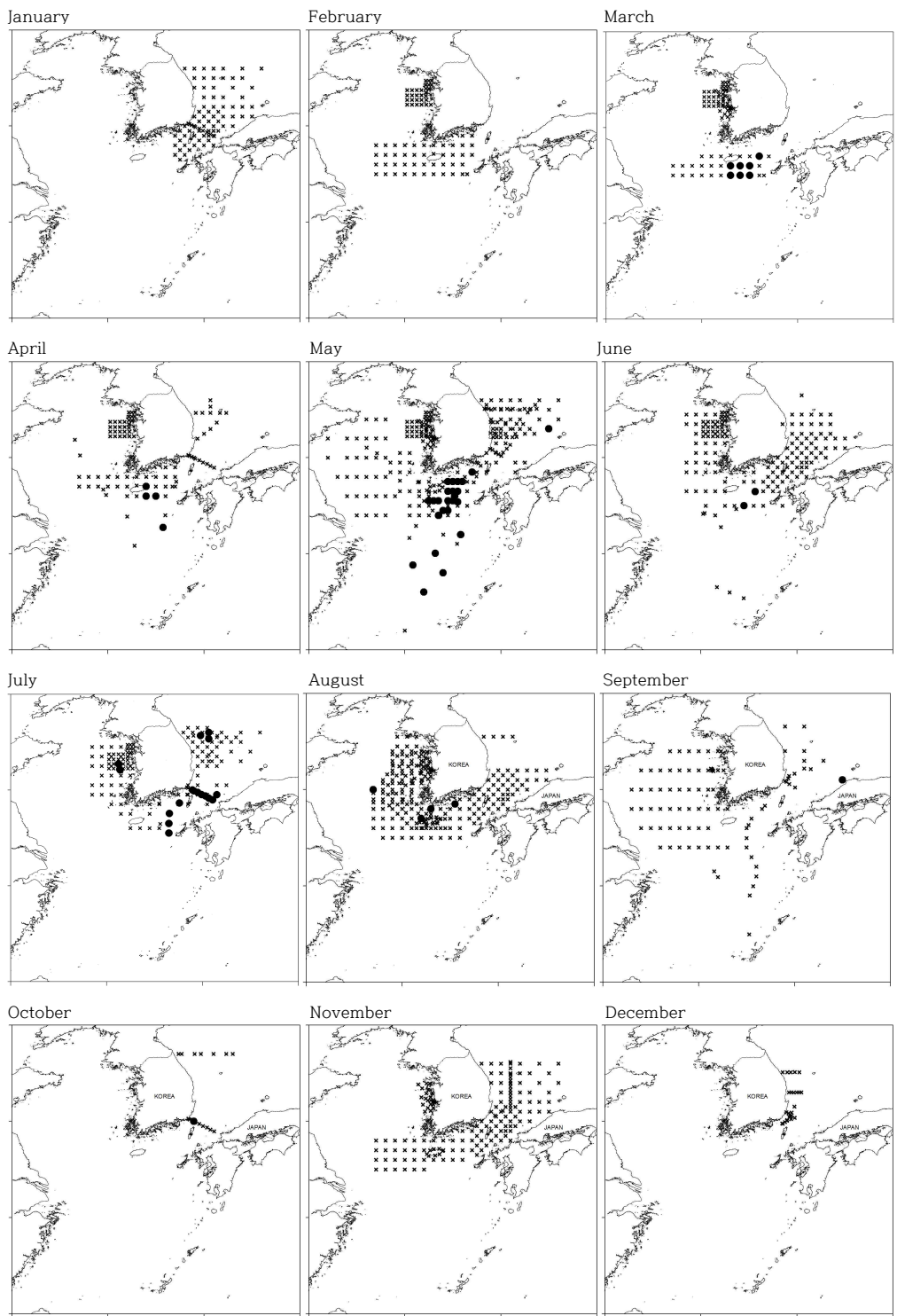


Fig. 5. Map showing the seasonal occurrence pattern of *Scomber japonicus* larvae around the Korean Peninsula from 1965 to 2010.

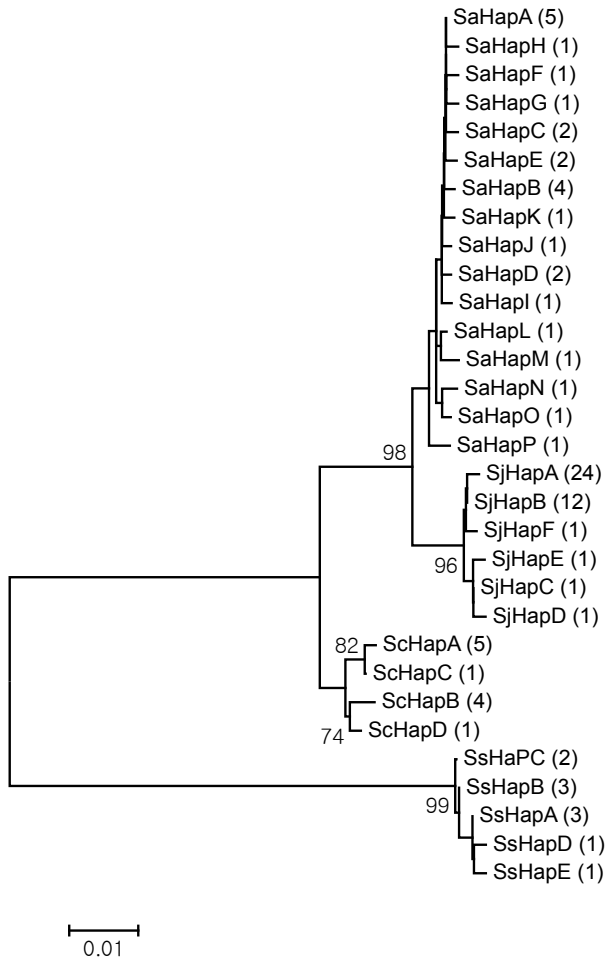


Fig. 6. Phylogenetic relationships among the haplotype of the ND5 gene in the *Scomber* taxa revealed by the neighbour-joining distance method. Branches with bootstrap values < 70 are collapsed. The numbers on the branches are bootstrap percent values (1,000 replication). SjHap A~F: *S. japonicus* haplotype; SaHap A~P: *S. australasicus* haplotype; ScHap A~D: *S. colias* haplotype; SsHap A~E: *S. scombrus* haplotype.

Table 1. Number of specimens identified into the species level using ND5 marker

| Specimen | Sampling site | Sampling time | Number of specimen |
|------------------------------|--|-------------------------------|---------------------------------|
| <i>Scomber japonicus</i> | Mid-east Yellow Sea | June 24 2008 | 9 [@] , 1 [#] |
| | Tongyeong Marine Living Resources Research and Conservation Center | October 2009 | 3 [*] |
| | Markets in the Korea | January, April and July 2010 | 18 [*] |
| <i>Scomber australasicus</i> | Markets in the Korea | January, April, and July 2010 | 19 [*] |

[@], egg; [#], larva; ^{*}, adult

Table 2. Interspecific and intra-specific variations in a 585 nucleotide long region of ND5 gene among the four *Scomber* taxa. Agreement with the sequence of haplotype A of *Scomber japonicus* is noted with a dot (·)

| Species | Haplotype | Variable position / nucleotide | n | Frequency |
|-------------------------|---|--|--|-----------|
| <i>S. japonicus</i> | A | CCACTAAGGGTTTTCATAAACAGTCCTTCTGGCGATACGGTCAACCAATTAATACFCACCTTAGTCCATTCGCTTTCTGGTACTTTCGAC | 11 ^f , 3 ^l , 10 ^a | 0.667 |
| | B |A..... | 1 ^f , 10 ^a , 1 ^g | 0.306 |
| | C |A..... | 1 ^g | |
| | D |AA..... | 1 ^g | |
| | E |A..... | 1 ^g | |
| | F |C..... | 1 ^a | 0.028 |
| <i>S. australasicus</i> | A | ..T.....A..G..T..T.....C..A.....C.. | 4 ^a , 1 ^g | 0.211 |
| | B | ..T.....CA..G..T..T..C.....C..A.....C.. | 3 ^a , 1 ^g | 0.158 |
| | C | ..T.....A..G..T..T..C.....C..A.....C.. | 1 ^a , 1 ^g | 0.053 |
| | D | ..T.....A..G..T..T.....A.....C..A.....C.. | 2 ^g | |
| | E | ..T.....A..G..T..T.....A.....C..A.....C.. | 2 ^a | 0.077 |
| | F | ..T.....A..A..G..T..T.....C..A.....C.. | 1 ^a | 0.053 |
| | G | ..T.....A..G..T..T.....G.....C..A.....C.. | 1 ^a | 0.053 |
| | H | ..T.....A..G..T..T.....A.....C..A.....C.. | 1 ^a | 0.053 |
| | I | ..T.....A..G..T..T.....C.....C..A.....C.. | 1 ^g | |
| | J | ..T.....A..G..T..T.....T.....C..A.....C.. | 1 ^g | |
| | K | ..T.....A..G..T..G..T.....C..A.....C.. | 1 ^a | 0.053 |
| | L | ..T.....A..G..T..T.....T.....C..A.....C.. | 1 ^a | 0.053 |
| | M | ..T.....A..G..T..T.....G.....C..A.....C.. | 1 ^a | 0.053 |
| | N | ..T.....A..G..T..TA.....C..A.....C.. | 1 ^a | 0.053 |
| O | ..T.....A..G..T..T.....C.....C..A.....C.. | 1 ^a | 0.053 | |
| P | ..T.....A..G..T..T.....A.....C..A.....C.. | 1 ^a | 0.053 | |
| <i>S. colias</i> | A | ..T.....G.....GC.....A..T..C.....CCC..C.....G..A.....C.....G..C.....C..... | 5 ^g | |
| | B | ..T.....G.....GC.....G..A..T..C.....CC..C.....T.....G..A.....C.....C.....A.....C..... | 4 ^g | |
| | C | ..T.....G.....GC.....A..T..C.....CC..C.....G..A.....C.....G..C.....A.....C..... | 1 ^g | |
| | D | ..T.....G.....GC.....A..T..C.....C.....C.....G..A.....C.....C.....C..... | 1 ^g | |
| <i>S. scombrus</i> | A | TTGTAC.A.ACAG.T.CCC.GAATT.ACAAT.CCTTAACTGGT.CCC.CC.TCA.GAAGACTTGCCCT.TACCTCA.C.TCCCCTGT | 3 ^g | |
| | B | TTGTAC.A.ACAG.T.CCC.GAATT.ACAAT.CCTTAACTGGT.CCC.CC.TCA.GAAGACTT.CCT.TACCTCA.C.TCCCCTGT | 3 ^g | |
| | C | TTGTAC.A.ACAG.T.CCC.GAATT.ACAAT.CCTTAACTGGT.CCC.CC.TCA.GAAGACTTGCCCT.TACCTCA.C.TCCCCTC.T | 2 ^g | |
| | D | TTGTAC.A.ACAG.T.CCC.GAATT.ACAAT.CCTTAACTGGT.CCC.CCGTCA.GAAGACTTGCCCT.TACCTCA.C.TCCCCTGT | 1 ^g | |
| | E | TTGTAC.A.ACAG.T.CCC.GAATT.ACAAT.CCTTAACTGGT.CCC.CC.TCA.GAAGACTTGCCCT.TACCTCA.CGTCCCTCGT | 1 ^g | |

^f, Haplotype observed from the eggs; ^l, Haplotype observed from the larvae; ^a, Haplotype observed from the adults; ^g, Haplotype from NCBI GenBank

Table 3. Interspecific and intra-specific genetic distance in a 585 nucleotide long region of ND5 gene among the four *Scomber* taxa. Analyses were conducted using the Kimura 2-parameter model (Kimura, 1980)

| Haplotype (N) | Genetic distance (X 1,000) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------|----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---|---|---|--|
| SjHapA (24) | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SjHapB (12) | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SjHapC (1) | 3 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SjHapD (1) | 5 | 3 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SjHapE (1) | 5 | 3 | 2 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SjHapF (1) | 3 | 2 | 3 | 5 | 5 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapA (5) | 14 | 12 | 14 | 16 | 16 | 14 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapB (4) | 16 | 14 | 16 | 17 | 17 | 16 | 2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapC (2) | 16 | 14 | 16 | 17 | 17 | 16 | 2 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapD (2) | 16 | 14 | 16 | 17 | 17 | 16 | 2 | 3 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapE (2) | 16 | 14 | 16 | 17 | 14 | 16 | 2 | 3 | 3 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapF (1) | 16 | 14 | 16 | 17 | 17 | 16 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapG (1) | 16 | 14 | 16 | 17 | 17 | 16 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapH (1) | 16 | 14 | 16 | 17 | 17 | 16 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapI (1) | 16 | 14 | 16 | 17 | 17 | 16 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapJ (1) | 16 | 14 | 16 | 17 | 17 | 16 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapK (1) | 16 | 14 | 16 | 17 | 17 | 14 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapL (1) | 16 | 14 | 16 | 17 | 17 | 16 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapM (1) | 16 | 14 | 16 | 17 | 17 | 16 | 5 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | | | | | | | | | | | | | |
| SaHapN (1) | 14 | 12 | 14 | 16 | 16 | 14 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | | | | | | | | | | | | |
| SaHapO (1) | 14 | 12 | 14 | 16 | 16 | 14 | 3 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | | | | | | | | | | | |
| SaHapP (1) | 16 | 14 | 12 | 14 | 14 | 16 | 5 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 7 | 5 | | | | | | | | | | |
| ScHapA (5) | 32 | 30 | 32 | 33 | 33 | 32 | 26 | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 | 28 | 26 | 28 | 28 | 28 | 28 | 32 | 30 | 26 | 32 | | | | | | | | |
| ScHapB (4) | 30 | 28 | 30 | 32 | 32 | 30 | 24 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 24 | 26 | 26 | 26 | 26 | 30 | 28 | 28 | 30 | 9 | | | | | | |
| ScHapC (1) | 30 | 28 | 30 | 32 | 32 | 30 | 24 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 26 | 24 | 26 | 26 | 26 | 26 | 30 | 28 | 24 | 30 | 2 | 7 | | | | | |
| ScHapD (1) | 24 | 26 | 28 | 30 | 30 | 28 | 23 | 24 | 24 | 24 | 24 | 24 | 24 | 24 | 23 | 24 | 24 | 24 | 24 | 28 | 26 | 26 | 28 | 7 | 5 | 5 | | | | | |
| SsHapA (3) | 137 | 135 | 133 | 135 | 135 | 135 | 131 | 131 | 133 | 129 | 133 | 133 | 133 | 133 | 131 | 129 | 131 | 129 | 129 | 135 | 131 | 129 | 117 | 123 | 117 | 120 | | | | | |
| SsHapB (3) | 135 | 133 | 131 | 133 | 133 | 133 | 129 | 129 | 131 | 127 | 131 | 131 | 131 | 131 | 131 | 129 | 127 | 129 | 127 | 127 | 133 | 129 | 127 | 115 | 120 | 114 | 118 | 2 | | | |
| SsHapC (2) | 135 | 133 | 131 | 133 | 133 | 133 | 129 | 129 | 131 | 127 | 131 | 131 | 131 | 131 | 131 | 129 | 127 | 129 | 127 | 127 | 133 | 129 | 127 | 115 | 120 | 114 | 118 | 2 | 3 | | |
| SsHapD (1) | 139 | 137 | 135 | 137 | 137 | 137 | 133 | 133 | 135 | 131 | 135 | 135 | 135 | 135 | 133 | 131 | 133 | 131 | 131 | 137 | 133 | 131 | 119 | 125 | 119 | 123 | 2 | 3 | 3 | | |
| SsHapE (1) | 139 | 137 | 135 | 137 | 137 | 137 | 133 | 133 | 135 | 131 | 135 | 135 | 135 | 135 | 133 | 131 | 133 | 131 | 131 | 137 | 133 | 131 | 119 | 125 | 119 | 123 | 2 | 3 | 3 | 3 | |

N, Number of haplotype

Table 4. Mean Tamura-Nei genetic distance within and among *Scomber* species derived from partial ND5 mt DNA sequences data

| | <i>S. japonicus</i> | <i>S. australasicus</i> | <i>S. colias</i> | <i>S. scombrus</i> |
|-------------------------|---------------------|-------------------------|------------------|--------------------|
| <i>S. japonicus</i> | 0.002 | | | |
| <i>S. australasicus</i> | 0.010 | 0.003 | | |
| <i>S. colias</i> | 0.020 | 0.018 | 0.004 | |
| <i>S. scombrus</i> | 0.092 | 0.089 | 0.081 | 0.002 |

제 4 장 연구개발결과의 활용계획

- 난자치어 기반 한반도 주변해역의 어류 산란장 탐색
- 분자마커를 활용한 단일 어란의 종분석

제 5 장 참고문헌

- Akimoto, S, S Kinoshita, K Sezaki, I Mitani, and S Watabe, 2002. Identification of alfonso and related fish species belonging to the genus *Beryx* with mitochondrial 16S rRNA gene and its application on their pelagic eggs. *Fisheries Science*, 68, 1242-1249.
- Aranishi, F, 2006. Single fish egg DNA extraction for PCR amplification. *Conservation Genetics*, 7, 153-15
- Bayha, KM, WM Graham, FJ Hernandez Jr., 2008. Multiplex assay to identify eggs of three fish species from the northern Gulf of Mexico, using locked nucleic acid Taqman real-time PCR probes. *Aquatic Biology*, 4, 65-73.
- Cheng, J, T Gao, Z Miao, and T Yanagimoto, 2011. Molecular phylogeny and evolution of Scomber (Teleostei: Scombridae) based on mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 29, 297-310.
- Eschmeyer, WN (ed.) 2012. Catalog of fishes electronic version (22 May 2012). <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>
- Fox, CJ, M Taylor, M Dickey-Collas, P Fossum, G Kraus, N Rohlf, P Munk, CJG van Damme, LJ Bolle, DL Maxwell, and PJ Wright, 2008. Mapping the spawning grounds of North Sea cod (*Gadus morhua*) by direct and indirect means. *Proceeding of the Royal Society Biological Science*, 275, 1543-1548.
- García-Vázquez, E, P Álvarez, P Lopes, N Karaiskou, J Pérez, A Teia, JL Martínez, L Gomes, and C Triantaphyllidis, 2006. PCR-SSCP of the 16S rRNA gene, a simple methodology for species identification of fish eggs and larvae. *Scientia Marina*, 70, 13-21.
- Go, YB, GM Go, and JM Kim, 1991. Occurrence of fish larvae at Hamduck coastal area, northern part of Cheju Island. *Korean Journal of*

- Ichthyology, 3, 24-35.
- Guo, X, Y Miyazawa, and T Yamagata, 2006. The Kuroshio onshore intrusion along the shelf break of the East China Sea: The origin of the Tsushima Warm Current. *Journal of Physical Oceanography*, 36, 2205-2231.
- Hall, TA, 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41, 95-98.
- Hiyama, Y, M Yida, and S Ohshimo, 2002. Stock size fluctuations in chub mackerel (*Scomber japonicus*) in the East China Sea and the Japan/East Sea. *Fisheries Oceanography*, 11, 347-352.
- Hur, SB and JM Yoo, 1984. Distribution of fish eggs and larvae in the western waters of Korea. *Bulletin of the Korean Fisheries Society*, 17, 536-542.
- Hwang, SD, SY Kim, and TW Lee, 2008. Age, growth, and maturity of chub mackerel off Korea. *North American Journal of Fisheries Management*, 28, 1414-1425.
- Hwang, SD and TW Lee, 2005. Spawning dates and early growth of chub mackerel *Scomber japonicus* as indicated by otolith microstructure of juveniles in the inshore nursery ground. *Fisheries Science*, 71, 1185-1187.
- Hwang, SD, CI Baik, JH Park, and KH Choi, 2001. Seasonal and annual variations of catch by large purse seine off Korea. *Journal of the Korean Society of Oceanography*, 6, 164-179.
- Infante, C, E Blanco, E Zuasti, A Crespo, and M Manchado, 2007. Phylogenetic differentiation between Atlantic *Scomber colias* and Pacific *Scomber japonicus* based on nuclear DNA sequences. *Genetica*, 130, 1-8.
- Isobe, A, 1997. The determinant of the volume transport distribution of the Tsushima Warm Current around the Tsushima/Korea Straits.

- Continental Shelf Research, 17, 319-336.
- Isobe, A, 1999. On the origin of the Tsushima Warm Current and its seasonality. Continental Shelf Research, 19, 117-133.
- Kawakami, T, J Aoyama, and K Tsukamoto, 2010. Morphology of pelagic fish eggs identified using mitochondrial DNA and their distribution in waters west of the Mariana Islands. Environmental Biology of Fishes, 87, 221-235.
- Kim, BJ, S Kim, HS Seo, and J Oh, 2008b. Identification of *Albula* sp. (Albulidae: Albuliformes) leptocephalus collected from the southern coastal waters of Korea using cytochrome b DNA sequences. Ocean Science Journal, 43, 101-106.
- Kim, IS, Y Choi, CL Lee, YJ Lee, BJ Kim, and JH Kim, 2005a. Illustrated book of Korean fishes. Kyohak Publishing Co., 615 p.
- Kim, JK, CB, Kang, G Ahn, D Oki, YU Kim. 2005b. Distribution of fish larvae and juveniles in the East China Sea and the Yellow Sea in spring during 1994-1997. Journal of Korean Fisheries Society, 38, 29-38.
- Kim, JY, 1982. A study on the distribution of fish larvae in the western water of Korea in spring. Bulletin of Fisheries Research Development Agency, 30, 65-71.
- Kim, JY, YJ Lim, SG Choi, HK Cha, EL Kim, J Oh, TW Lee, 2004. Distribution of major commercial fish larvae in the southern sea and off Jeju Island of Korean in spring. Korean Journal of Ichthyology, 16, 141-148.
- Kim, S, CG Kim, J Oh, BJ Kim, HS Seo, WS Kim, and YH Lee, 2008a. Genetic similarity between the South Atlantic and the western North Pacific *Maurolicus* (Stomiiformes: Actinopterygii) taxa, *M. walvisensis* Parin and Kobylansky and *M. japonicus* Ishikawa: evidence for synonymy? Journal of Fish Biology, 72, 1202-1214.
- Kim, YU, 1983. Fish larvae of Changson channel in Namhae, Korea. Bulletin of the Korean Fisheries Society, 16, 163-180.

- Kimura, M, 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Journal of Molecular Evolution*, 16,111-120.
- Kitagawa, Y, Y Nishikawa, T Kubota, and M Okiyama, 1995. Distribution of ichthyoplanktons in the Japan Sea during summer, 1984, with special reference to scombroid fishes. *Bulletin of the Japanese Society for Fisheries Oceanography*, 59, 107-114.
- Lie, HJ, CH Cho, JH Lee, and S Lee, 2001. Does the Yellow Sea warm current really exit as a persistent mean flow? *Journal of Geophysical Research*, 106, 22199-22210.
- Lim, JY, MK Jo, and MJ Lee, 1970. The occurrence and distribution of the fish eggs and larvae in the Korean adjacent sea. *Reports of Fisheries and Resources*, 8, 7-29.
- Nakabo, T (de.), 2002. *Fished and Japan with pictorial keys to the species*, english edition. Tokai University Press, 1749 p.
- NFRDI (National Fisheries Research and Development Institute), 2005. *Ecology and fishing grounds for some major fish in Korean waters*. National Fisheries Research and Development Institute, Busan, Korea, 383 p.
- Okiyama M (ed.), 1988. *An atlas of the early stage fishes in Japan*. Tokai University Press, 1154 p.
- Ozawa, T, 1984. The postlarvae of spotted mackerel *Scomber australasicus* Cuvier (Pisces, Scombridae). *Bulletin of the Japanese Society of the Scientific Fisheries*, 50, 1317-1321.
- Paine, MA, JR McDowell, and JE Graves, 2008. Specific identification using COI sequence analysis of scombrid larvae collected off the Kona coast of Hawaii Island. *Ichthyological Research*, 55, 7-16.
- Park, CK, IH Yeon, NH Choi, SJ Heo, KH Han, and WK Lee, 2008. Egg Development and Morphology of Larva and Juvenile of the Chub Mackerel, *Scomber japonicus*. *Development and Reproduction*, 12,

207-213.

- Perez, J, P Álvarez, JL Martínez, and E García-Vázquez, 2005. Genetic identification of hake and megrim eggs in formaldehyde-fixed plankton samples. *ICES Journal of Marine Science*, 62, 908-914.
- Sassa, C and Y Tsukamoto, 2010. Distribution and growth of *Scomber japonicus* and *S. australasicus* larvae in the southern East China Sea in response to oceanographic conditions. *Marine Ecology Progress Series*, 419, 185-199.
- Sassa, C, Y Tsukamoto, and Y Konishi, 2008. Diet composition and feeding habits of *Trachurus japonicus* and *Scomber* spp. larvae in the shelf break region of the East China Sea. *Bulletin of Marine Science*, 82, 137-153.
- Seung, YH, 2012. Effect of Taiwan Strait Current on the onshore intrusion of Kuroshio: A geostrophic adjustment model. *Ocean Science Journal*, 47, 41-50.
- Sezaki, K, Y Kuboshima, I Mitani, A Fukui, and S Watabe, 2001. Identification of chub and spotted mackerel with mitochondrial cytochrome b gene and its application to respective pelagic eggs fixed with formalin. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 67, 17-22.
- Shao, KT, JS Yang, KC Chen, and YS Lee, 2001. An identification guide of marine fish eggs from Taiwan. Institute of Zoology, Academia Sinica and Taiwan Power Company, 179 p.
- Shao, KT, KC Chen, and JH Wu, 2002. Identification of marine fish eggs in Taiwan using light microscopy, scanning electric microscopy and mtDNA sequencing. *Marine and Freshwater Research*, 53, 355-365.
- Takasuka, A, Y Oozeki, and I Aoki, 2007. Optimal growth temperature hypothesis: Why do anchovy flourish and sardine collapse or vice versa under the same ocean regime? *Canadian Journal of Fisheries Aquatic Sciences*, 64, 768-776.
- Tamura, K, D Peterson, N Peterson, G Stecher, M Nei, and S Kumar, 2011.

- MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28, 2731-2739.
- Teague, WJ and GA Jacobs, 2000. Current observations on the development of the Yellow Sea warm current. *Journal of Geophysical Research*, 105, 3401-3411.
- Tzeng, TD, HL Haung, D Wang, and SY Yeh, 2007. Genetic Diversity and Population Expansion of the Common Mackerel (*Scomber japonicus*) off Taiwan. *Journal of the Fisheries Society of Taiwan*, 34, 237-245.
- Ward, RD, TS Zemplak, BH Innes, PR Last, and ODN Hebert, 2005. DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society Biological Science*, 360, 1847-1857.
- Yamada, U, M Tokimura, H Horikawa, and T Nakabo, 2007. Fishes and fisheries of the East China and Yellow Seas. Tokai University Press, 1262 p.
- Yoo, JM, 1988. Distribution of fish larvae in the southern Yellow Sea during the summer. *Ocean Research*, 10, 9-15.
- Yoon, HK, D Jeong, IH Chung, JW Jung, MJ Oh, S Kim, YH Lee, CG Kim, and SY Hwang, 2009. Rapid species identification of elasmobranch fish (skates and rays) using oligonucleotide microarray. *Biochip Journal*, 3, 87-96.
- Yukami, R, S Ohshimo, M Yoda, and Y Hiyama, 2009. Estimation of the spawning grounds of chub mackerel *Scomber japonicus* and spotted mackerel *Scomber australasicus* in the East China Sea based on catch statistics and biometric data. *Fisheries Science*, 75, 167-174.
- Zardoya, R, R Castilho, C Grande, L Favre-Krey, S Caetano, S Marcato, G Krey, and T Patarnello, 2004. Differential population structuring of two closely related fish species, the mackerel (*Scomber scombrus*) and the chub mackerel (*Scomber japonicus*), in the Mediterranean Sea. *Molecular Ecology*, 13, 1785-1798.

제 6 장 부록

Appendix I. List of references of ichthyoplankton data collected off Korean Peninsula

1. Hur, SB and JM Yoo, 1984. Distribution of fish eggs and larvae in the western waters of Korea. *Bulletin Korean Fisheries Society*, 17, 536-542.
2. Kim, JK, CB Kang, G Ahn, D Oki, and YU Kim, 2005. Distribution of fish larvae and juveniles in the East China Sea and the Yellow Sea in spring during 1994-1997. *Journal of Korean Fisheries Society*, 38, 29-38.
3. Kim, JY, YJ Lim, SG Choi, HK Cha, EL Kim, J Oh, and TW Lee, 2004. Distribution of major commercial fish larvae in the southern sea and off Jeju Island of Korean in spring. *Korean Journal of Ichthyology*, 16, 141-148.
4. Kim, S, 1999. Distribution of the fish larvae in relation to the water masses in the Korea Strait. Inha University Ph.D. Thesis, 128 pp.
5. KORDI, 1995. A study on the oceanographic atlas in the adjacent seas to Korea: Southwest of the East Sea (first year). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPN 00262-806-1, 336 pp.
6. KORDI, 1997. A study on the oceanographic atlas in the adjacent seas to Korea: Southwest of the East Sea (second and third year). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPN 00316-963-1, 601 pp.
7. KORDI, 1998. A study on the oceanographic atlas in the adjacent seas to Korea: Southwest of the East Sea (fourth year). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPE 97600-00-1041-1, 320 pp.
8. KORDI, 1998. Transport and biogeochemical process in the Cheju Strait. Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPE 98706-00-1139-4, 647 pp.
9. KORDI, 2000. Marine ecosystem responses to climate variability in the East Sea and tectonic evolution. Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPE 00783-00-1306-1, 435 pp.
10. KORDI, 2001. Multidisciplinary investigation of the western Pacific (1). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPE 00786-00-1298-5, 152 pp.
11. KORDI, 2002. Marine ecosystem responses to climate variability in the East Sea. Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPE 817-00-1396-1, 330 pp.
12. KORDI, 2002. Multidisciplinary investigation of the western Pacific (1). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPE 818-00-1404-7, 396 pp.
13. KORDI, 2003. Multidisciplinary investigation of the western Pacific (1). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPE 824-00-1494-7, 415 pp.
14. KORDI, 2003. Marine ecosystem responses to climate variability in the East Sea. Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPE 825-00-1495-3, 498 pp.
15. KORDI, 2003. Multidisciplinary investigation of the western Pacific (1). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPE 824-00-1494-7, 415 pp.

16. KORDI, 2004. Changes in fisheries resources in relation to variability of marine environments in the region of the Tsushima warm current. Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPE 86300-1626-3, 112 pp.
17. KORDI, 2006. Northwestern Pacific Ocean study on environment and interaction between deep ocean and marginal seas (POSEIDON). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report, BSPP00720-2139-7, 581 pp.
18. KORDI, 2007. Northwestern Pacific Ocean study on environment and interaction between deep ocean and marginal seas (POSEIDON). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report, BSPP00720-2139-7, 581 pp.
19. KORDI, 2008. Northwestern Pacific Ocean study on environment and interaction between deep ocean and marginal seas (POSEIDON). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report, BSPP00720-2139-7, 581 pp.
20. KORDI, 2009. Northwestern Pacific Ocean study on environment and interaction between deep ocean and marginal seas (POSEIDON). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report, BSPP00720-2139-7, 581 pp.
21. KORDI, 2010. Northwestern Pacific Ocean study on environment and interaction between deep ocean and marginal seas (POSEIDON). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report, BSPP00720-2139-7, 581 pp.
22. KORDI, 2011. Northwestern Pacific Ocean study on environment and interaction between deep ocean and marginal seas (POSEIDON). Korea Ocean Research and Development Institute, Research Report, BSPP00720-2139-7, 581 pp.
23. Kwater, 2009. Environmental effects evaluation on the marine sand mining in the EEZ of the Yellow Sea of Korea. Korea Water Resources Corporation, Research Report, 641 pp.
24. Lee, EK, 1966. Vertical distribution of ichthyoplanktons in the Korea Strait. Inha University M.S. Thesis, 100 pp.
25. Lee, YC, 1993. The exploitation research of marine resources on the Yellow Sea. Inha University, Research Report, 827 pp.
26. Lim, JY, MK Jo, and MJ Lee, 1970. The occurrence and distribution of the fish eggs and larvae in the Korean adjacent sea. Reports of Fisheries and Resources, 8, 7-29.
27. MLTM, 2007. National investigation of marine ecosystem. Ministry of Land, Transport and Maritime Affairs, Research report, 861 pp.
28. MOMAF, 1999. Investigation on Yellow Sea large marine ecosystem. Korean Ocean Research and Development Institute, Research Report BSPM 99039-00-1220-3, 419 pp.
29. Yoo, JM, 1988. Distribution of fish larvae in the southern Yellow Sea during the summer. Ocean Research, 10, 9-15.
30. Yoo, JM, 1991. Distribution of fish larvae in the South Sea of Korea. Pusan Nation Fisheries University, Ph.D. Thesis, 238 pp.
31. Yoo, JM, JM Kim, YU Kim, and SS Cha, 1990. Distribution of the fish larvae in the adjacent waters of Cheju Island in summer. Ocean Research, 12, 73-85.