

우리 나라 방류 연어의 계군 분석 및 생활장,  
회유경로의 파악

Stock identification and analysis of the feeding  
ground and the migration route of  
the Korea-released chum salmon

2003. 2

한 국 해 양 연 구 원

해 양 수 산 부

## 제 출 문

해양수산부 장관 귀하

본 보고서를 “우리 나라 방류 연어의 계군 분석 및 생활장, 회유경로의 파악” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2003 년 2 월 25 일

주관연구기관명 : 한국해양연구원

총괄연구책임자 : 이 윤 호

연 구 원 : 강 수 경

연 구 원 : 김 동 선

연 구 원 : 김 수 암

연 구 원 : 성 기 백

연 구 원 : 신 형 철

연 구 원 : 안 인 영

연 구 원 : 정 응 식

연 구 원 : 진 덕 희

연 구 원 : 최 윤 실

연 구 원 : 함 승 협

여 백

# 요 약 문

## I. 제 목

우리 나라 방류 연어의 계군 분석 및 생활장, 회유경로의 파악

## II. 연구개발의 목적 및 중요성

수산자원과 관련된 국가간 회의는 과학적 근거와 분석을 바탕으로 진행되고 있다. 각 국가의 대표들은 주로 과학자들로 구성되어 있으며, 각국은 축적된 조사 자료와 분석을 바탕으로 회의에 임하기 때문에 신빙성 있는 과학적 근거가 없이 이해 당사자 회의에 참석할 경우 어떠한 불이익도 감수해야 될 입장이다. 따라서, 이제는 우리 나라도 방류 연어의 생태(계군 파악, 회유경로 및 생활장 파악 등)에 대한 보다 분명한 과학적 자료가 필요한 시점에 와 있다. 본 연구는 이러한 필요성에 충족시키기 위해 분자생물학적 방법론을 이용하여 우리 나라 방류 연어의 유전적 계군을 파악하고 안정동위원소 분석에 의해 그 생활장과 회유경로를 분석할 목적에서 수행되었다.

## III. 연구개발 내용 및 범위

### 1. 우리 나라 방류 연어의 생활장과 회유경로 파악

- 우리 나라의 연어 방류사업에 대한 개관과 연어의 생태 분석
- 동해와 북태평양 각 지역의 환경조건 분석
- 북태평양 연어의 시료 채집
- 연어 이석의 안정동위원소 ( $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ) 분석
- 연어 이석의 미량원소 분석
- 우리 나라 방류 연어의 회유경로 모델 제시

### 2. 유전자 마커의 DNA 염기서열 분석에 의한 연어의 유전적 계군 분석

### 3. 유전적 방법에 의한 연어와 곱사연어의 종 구분

## IV. 연구개발결과

가. 연어 방류사업과 연어 생태 분석

연어(*Oncorhynchus keta*, chum salmon)는 청어목 (Clupeida) 연어과 (Salmonidae) 연어속(*Oncorhynchus* sp.)에 속하는 모천회귀성의 냉수성어류로 북태평양 및 북극해와 이 해양으로 유입되는 하천에 널리 분포한다. 북태평양 해역에 접하고 있는 미국, 캐나다, 일본, 러시아는 이들 연어를 중요한 수산자원으로 취급하여 오래 전부터 이 종에 대한 연구와 인공부화, 치어 생산방류를 대대적으로 실시해 오고 있다. 또 이들 4개 국가는 1993년 2월 16일 북태평양 소하성 어류위원회(North Pacific Anadromous Fish Commission, NPAFC)를 설립하여 북태평양에서 소하성 어류자원 보존을 위한 과학적 정보수집, 분석, 배포 및 자원증강을 위해 공동으로 연구 노력하고 있다.

우리 나라는 1967년 삼척 오십천과 경남 밀양강에 부화장이 건립되고, 1984년 양양 남대천 변에 양양내수면연구소가 건립되면서 본격적인 방류사업이 실시되었다. 이에 따라 연어의 자원증가와 자원유지는 물론 동해안에서 연어 어업도 가능하게 되었다. 매년 치어의 방류 마리 수는 증가하는 추세이고, 연어 치어 방류는 전국적으로 1985년 3,810,000마리에서 최대 방류량을 보인 1998년에는 21,500,000마리로 5.6배 증가하였고, 1985년부터 2002년까지 동해안 18개 하천에 방류한 치어의 총 방류 마리수는 219,488,000마리였다. 현재, 연어는 우리 나라에서 연평균 15만 마리 이상 어획되고 있으며 약 30억 원의 어민 소득원이 되고 있다.

연어 치어는 성장 단계에 따라 2월 중순에서 3월 하순에 걸쳐 3-4회 나누어 방류된다. 방류된 치어는 20~50일간 하천생활을 하고 바다로 내려가 2~5년 동안 성장한다. 산란기가 되면 성어는 방류된 모천으로 소상하여 산란하고 일생을 마친다.

#### 나. 동해 및 북태평양 환경자료 분석

동해와 오토츠크해, 북태평양의 수온 자료를 분석하기 위하여 한국해양자료센터(KODC), 미국해양자료센터(NODC), 일본해양자료센터(JODC), 국제연구 프로그램인 CREAMS의 자료를 취합한 후 정리하였다. 북태평양 해역을 동해, 오토츠크해, 베링해, 서부태평양, 중부태평양, 동부태평양으로 나누고 수심 20-50m의 수온 자료를 평균하였다. 각 해역별로 1994년부터 1998년의 수온자료를 평균한 결과, 일반적으로 베링해와 서부태평양의 수온이 낮았으며, 오토츠크해, 중부태평양, 동부태평양, 동해의 순으로 수온이 높게 나타났다. 엘니뇨현상이 나타났던 1997년과 1998

년 각 지역의 평균수온을 비교한 결과 베링해와 서부태평양이 가장 낮았으며 오호츠크해, 중부태평양, 동부태평양, 동해의 순으로 수온이 높았다.

#### 다. 연어 표본의 입수

북태평양 연안의 연어표본을 1997년부터 입수하기 시작하였다. 체장, 체중, 성별 자료와 이석은 1997년이래 매년 입수하고 있으며, 근육과 간 조직 시료는 1998년(미국, 일본)과 1999년(한국, 미국, 캐나다), 2000년(한국, 일본, 미국), 2001년(한국, 일본, 미국, 캐나다)에 입수하였다.

#### 라. 연어 이석의 안정동위원소 분석

연어의 서식 환경에 대한 정보를 얻기 위하여, 이석에서 산소와 탄소 동위원소 함량을 측정하였다. 1997년, 1998년, 1999년에 채집된 연어 이석에서 아시아 연어는 북아메리카 연어보다 높은 산소동위원소와 낮은 탄소동위원소 값을 보였다.  $\delta^{18}\text{O}$ 의 함량은 1997년과 1998년 모두 일본, 한국, 미국, 캐나다의 순으로 나타났다. 1999년 채집된 시료에서도 우리 나라 연어의  $\delta^{18}\text{O}$ 의 함량이 미국과 캐나다 연어보다 많은 것으로 나타났다. 탄소동위원소의 함량 순서는 산소동위원소와 반대로 나타났다 (즉, 캐나다, 미국, 한국, 일본). 일반적으로 아시아산 연어의 탄소동위원소 값이 낮고 북아메리카산이 높게 나타났다.

#### 마. 미량원소 분석

Laser ablation 분석방법을 이용하여 어류 이석의 미량원소를 분석하였다. 염분의 지시자로 알려진 Sr/Ca의 비는 연어의 담수 생활사 시기에는 낮고, 해수 생활 시기에는 높은 값을 보였다. 해수 생활 시기에 Sr과 Zn의 농도는 연륜 형성 시기에 높게 나타났으며, 연륜과 일치하여 진동하였다. 연어가 바다로 이동한 후에는 이석 내 Sr/Ca의 비는 Zn/Ca의 비와 서로 반대로 진동하였으며, 아연의 진동 현상은 어류의 연령이 증가함에 따라 줄어들었다. 캐나다의 표본 중 일부는 Sr/Ca의 비를 토대로 담수, 혼합역, 해수의 환경으로 구분해 낼 수 있었다.

#### 바. 우리 나라 방류 연어의 회유경로 모델

안정동위원소 분석 자료와 해수 온도 자료를 종합하여 볼 때, 우리

나라에서 방류된 연어는 대부분 쏘야해협이나 타타르해협을 통과하여 오호츠크해와 북서태평양으로 나아가고, 오호츠크해, 북서태평양, 베링해에서 생육하다가 다시 쏘야해협과 타타르해협을 통과하여 돌아올 것으로 생각된다.

#### 사. 연어의 유전자 분석과 계군의 구별

미토콘드리아 유전자 COIII-ND3-ND4L의 염기배열은 한국과 일본 연어가 유전적으로 유사한 같은 계군에 속하며, 이 계군이 캐나다, 미국 연어와 구분되는 특징이 있음을 보여주었다. 한국과 일본 연어는 조사된 개체의 약 55%가 동일한 염기배열을 갖고 있는 것으로 나타났으나, 약 45%는 서로 다른 염기배열을 갖는 것으로 드러났다. 특히, 한국 연어 수 개체는 일본 연어와 구분되는 독특한 염기를 공통적으로 갖고 있어 한국 고유의 계군이 존재할 가능성을 보여 주었다. 마이크로새틀라이트 분석에서도 한국과 일본 연어는 유사하였으나, 한국 연어 고유의 대립형질이 관찰되었다. 한편, 각 나라의 연어 집단 사이에 이동율(migration rate)을 비교한 결과 한국에서 방류된 연어가 일본으로 이동하고 있으며, 미국에서 방류한 연어는 캐나다로 이동하고 있음을 보여주었다. 본 연구에서 COIII-ND3-ND4L 염기배열은 각 나라의 연어 집단을 구별하고 계군을 나눌 수 있는 유전자 마커 (genetic marker)로서 적합한 것으로 드러났다.

#### 아. 유전자 분석을 통한 연어와 곱사연어의 구별

형태적으로 구분이 불가능한 유통과정의 연어(*Oncorhynchus keta*)와 곱사연어(*O. gorbusha*)를 구분하기 위하여 microsatellite DNA Ogo5와 Ogo6를 분석하여 비교하였다. 연어의 Ogo5 염기서열 반복구조는 네 가지 allele이 있었으며 곱사연어와 차이가 있었다: allele A, (GT)<sub>2</sub>GCATGC(GT)<sub>2</sub>GCAC(GT)<sub>3</sub>TCGGTTGCTTTT; allele B1, (GT)<sub>2</sub>GTGTTT (GT)<sub>2</sub>GCAT(GT)<sub>6</sub>TTTTTTT; allele B2 (GT)<sub>2</sub>GTGTTT (GT)<sub>2</sub>GCAT(GT)<sub>7</sub>TTTTTTT; allele B3 (GT)<sub>2</sub>GTGTTT(GT)<sub>2</sub>GCAT(GT)<sub>7</sub>TTTTTTT; 곱사연어, (GT)<sub>2</sub>GTGTTT(GT)<sub>2</sub>GCAT(GT)<sub>8</sub>TTTT. Ogo6 역시 연어와 곱사연어 사이에 반복구조의 길이에서 뚜렷한 차이를 보였다: 연어, (CA)<sub>5</sub>AA(CA)<sub>5</sub>CG와 CTCA(CT)<sub>2</sub>GT; 곱사연어, (CA)<sub>5</sub>AA(CA)<sub>6</sub>AA(CA)<sub>5</sub>CG와 CTCA(CT)<sub>3</sub>GT. 또한, Ogo5와 Ogo6 염기서열은 두 종 사이에 서로 다른 염기(single nucleotide polymorphism: SNP)가 각각 3개와 1개 있는 것으로 드러났

다. 이러한 연구결과는 microsatellite DNA Ogo5와 Ogo6가 연어와 곱사연어를 형태적 구분이 불가능한 상태에서도 종 구분할 수 있는 유전자 마커로 사용될 수 있음을 시사한다. 이와 같은 유전학적 접근방법은 연어뿐만 아니라 시장에서 유통되는 다양한 수산물의 종과 원산지를 확인하는데 적용될 수 있다.

## V. 연구개발결과의 활용계획

### 가. 이석의 안정동위원소와 미량원소 분석 방법과 자료

- 한국 연어를 일본, 미국, 캐나다 연어와 구별하는 지시자로 활용.
- 우리 나라 방류 연어의 생활장과 회유경로를 유추하는 과학 자료로 활용.
- 북태평양 연안국들 간의 어업협정을 체결할 때 유용한 과학자료로 활용.
- 다른 수산생물의 연구에 적용

### 나. 연어의 유전자 분석 자료

- 한국, 일본, 미국, 캐나다 연어를 구별하는 유전적 형질 확보, 계군 구분 가능.
- 유전자 분석방법을 다른 수산생물에 적용, 계군 분석 마커로 활용
- 북태평양소하성어류위원회(NPAFC)에서 우리 나라 방류 연어에 대한 권리 주장의 근거로 사용
- 북태평양 연안국들 간의 어업협정을 체결할 때 유용한 과학자료로 활용.
- 특허출원한 시간유전자 분석법을 다른 수산생물 분석에 활용



# 여 백

# S U M M A R Y

## **I . Title**

Stock identification and analysis of the feeding ground and the migration route of the Korea-released chum salmon

## **II . Objectives and Significance**

Traditionally, in fishery science, tagging experiments have been conducted to distinguish fish stocks, and identifying the feeding ground and the migration route, although they were expensive and not always successful for many species. The purposes of this study are to discriminate genetically stocks of the chum salmon in the North Pacific and to investigate its feeding ground and the migration route with analysis of the stable isotope and trace elements in the otolith. This study would provide useful information to the North Pacific rim countries for the proper management and the reasonable utilization of the chum salmon resource.

## **III. Contents and scope**

- A. Analysis of the feeding ground and the migration route of the Korea-released chum salmon
  - 1) The salmon-releasing programs in Korea and the salmon ecology
  - 2) Environmental conditions of the East Sea and the regions of the North Pacific
  - 3) Sample collection from the North Pacific rim countries
  - 4) Analysis of the stable isotope in the salmon otolith
  - 5) Analysis of the trace elements in the salmon otolith
  - 6) A model for the migration route of the Korea-released chum salmon
- B. Genetic identification of the chum salmon stocks: analysis of DNA sequences of genetic markers
- C. Genetic differentiation between the chum salmon and the pink salmon

#### **IV. Result**

##### **A. The salmon-releasing programs in Korea and the salmon ecology**

The chum salmon (*Oncorhynchus keta*) is an anadromous fish distributed all around the North Pacific, belonging to the family Salmonidae, the order Clupeida. Artificial production and release of the juveniles are being made by Korea, Japan, Russia, Canada and the United States. They established North Pacific Anadromous Fish Commission (NPAFC) in 1993 and have worked together for the proper management and the reasonable utilization of the salmon resources. The salmon-releasing programs in Korea launched in 1967 and have continued up to now, having the total number of the released juveniles up to 219,488,000 individuals. The juveniles are released in the late February through the late March. The released juveniles spend 20-50 days in the river, and go down to the sea. After 2-5 years of growth, they return back to the streams in which they were borne and there they die.

##### **B. Environmental conditions of the East Sea and the regions of the North Pacific**

To identify the salmon habitats, the feeding ground and the migration route, the seawater temperature were compared with the stable isotope contents. The temperature data sets were downloaded from the website of the National Oceanographic Data Center (NODC) of the U.S. National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA). The seawater temperature at the 20-50 m depth during May-October of 1994 and 1999 were examined, assuming that the residential depth of the chum salmon in the water column is the sub-surface layer and that major increment of the otolith happens in the May-October period. The North Pacific region was divided into 6 subareas: the East Sea, the Okhotsk Sea, the Bering Sea, the Northwest Pacific, the Central Pacific, and the Northeast Pacific. The mean seawater temperatures were the lowest at the Bering sea and the Northwest Pacific and became higher in the order of the Okhotsk sea, the Central Pacific, the Northeast Pacific, and the East sea.

##### **C. Sample collection from the North Pacific rim countries**

Otoliths have been collected from the salmon of Korea, Japan, the United States, and Canada since 1997. Background information such as fork length, weight, sex was also recorded during the sample collection. Muscle tissue and liver specimens were obtained from the salmon of USA and Japan (1998), of Korea, USA, and Canada (1999), of Korea, Japan, and USA (2000), and of Korea, Japan, USA and Canada (2000).

#### D. Analysis of the stable isotope in the salmon otolith

The stable isotope contents of the otoliths,  $\delta^{18}\text{O}$  and  $\delta^{13}\text{C}$ , discriminate the Asian salmon (Korea and Japan) from the North America salmon (Canada and USA). The contents of the oxygen isotope,  $\delta^{18}\text{O}$ , were highest in the Japan salmon and became lower in the order of the Korea, USA, Canada salmon collected in 1997 and 1998. Assuming the  $\delta^{18}\text{O}$  value is an indicative of the ocean temperature of the salmon habitat, the Asian salmon seem to reside in the lower temperature regions than the North American salmon. These results are consistent with the fact that the western gyre has lower temperature than the eastern gyre in the North Pacific. Carbon stable isotopes showed the opposite pattern; higher values from the North American salmon, and lower values from the Asian salmon.

#### E. Analysis of the trace elements in the salmon otolith

The composition of Ca and some trace elements (Mn, Zn, Sr) in the otolith were measured using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICPMS) at Univ. of Victoria in Canada. Sr/Ca ratios, known as an indicator of salinity, were low at primordial area, increased suddenly at a certain point, and oscillated periodically to the margin corresponding to year-ring. Some examples from the eastern Pacific salmon indicated the estuarine type of Sr/Ca profile when they were young near the coastal areas. Also, the zinc profiles oscillated and corresponded to the annual ring of the otolith. However, the profiles of Sr and Zn were oppositely oscillated after salmon migrate to the saline water, and the zinc uptake declined toward the rim of the otolith. By examining the patterns of profiles, it would be possible to

distinguish salmon stocks and habitat characteristics.

#### F. A model for the migration route of the Korea-released chum salmon

Comparison between the contents of the oxygen stable isotope,  $\delta^{18}\text{O}$ , and the seawater temperature indicates that the feeding ground of the Korea-released chum salmon would be the Okhotsk Sea, the Northwest Pacific, and the Bering Sea. Therefore, the migration route for the Korea chum salmon could be inferred as the East Sea - the Tartar strait/the Soya strait - the Okhotsk Sea - the Northwest Pacific - the Bering Sea.

#### G. Genetic identification of the chum salmon stocks: analysis of DNA sequences of genetic markers

As an attempt to build some genetic criteria identifying each stock of chum salmon, sequences of a microsatellite DNA Ogo5 and the COIII-ND3-ND4L region of the mitochondrial DNA from the chum salmon of Korea, Japan, and the United States were analyzed. Ogo5 has four different alleles: allele A, B-1, B-2, and B-3. Allele B-3 is found only in 3 out of 12 Korea salmon. The Japan salmon have the other 3 alleles and the America salmon have only two alleles, A and B-1. Heterozygosity index (Ho/He) distinguishes the Korea (1.61) and Japan salmon (1.63) from the America ones (1.09). Seventeen different haplotypes are found in the COIII-ND3-ND4L region from 60 individuals, 20 from each stock. The gene genealogy of the haplotypes revealed by TCS program shows that the Korea and Japan salmon are genetically closely linked, but that they are clearly distinguished from the America ones. Ten and eleven individuals of the Korea and Japan salmon have an identical haplotype. Nine individuals of the Korea salmon (45%) are separable from the Japan salmon by their own specific nucleotides. This result presents usefulness of the COIII-ND3-ND4L region as a genetic marker for identification of the chum salmon stocks.

Sequence analysis of the COIII-ND3-ND4L region was extended for more individuals and also for the Canadian chum salmon. The Canada salmon are genetically close to the USA samples, but have distinct characteristics. An analysis of

migration rate between the salmon populations by use of MIGRATE (a computer software) shows that there are significantly higher migrations from Korea to Japan and from USA to Canada populations.

#### H. Genetic differentiation between the chum salmon and the pink salmon

Although the live chum salmon (*Oncorhynchus keta*) is discernable from the pink salmon (*O. gorbuscha*), processed salmon meat in the market place is hard to be distinguished from one species to the other. In order to resolve this situation, the microsatellite DNA sequences of Ogo5 and Ogo6 were compared between the chum salmon and the pink salmon. Four alleles of Ogo5 were identified in the chum salmon, which have distinct SNPs(Single Nucleotide Polymorphisms) and different numbers of repeat of (GT)<sub>n</sub> from the pink salmon: allele A, (GT)<sub>2</sub>GCATGC(GT)<sub>2</sub>GCAC(GT)<sub>3</sub>TCGGTTGCTTTT; allele B1, (GT)<sub>2</sub>GTGT TT(GT)<sub>2</sub>GCAT(GT)<sub>6</sub>TTTTTT; allele B2 (GT)<sub>2</sub>GTGTTT(GT)<sub>2</sub>GCAT(GT)<sub>7</sub>TTTTTT; allele B3 (GT)<sub>2</sub>GTGTTT(GT)<sub>2</sub>GCAT(GT)<sub>7</sub>TTTTTT; the pink salmon, (GT)<sub>2</sub>GT GTTT(GT)<sub>2</sub>GCAT(GT)<sub>8</sub>TTTT. Ogo6 of the chum salmon also has a distinct SNP and different numbers of repeats of (CT)<sub>n</sub> from that of the pink salmon: the chum salmon, (CA)<sub>5</sub>AA(CA)<sub>5</sub>CG and CTCA(CT)<sub>2</sub>GT; the pink salmon, (CA)<sub>5</sub>AA(CA)<sub>6</sub>AA(CA)<sub>5</sub>CG and CTCA(CT)<sub>3</sub>GT. These results suggest that the microsatellite DNA Ogo5 and Ogo6 would be good means of discrimination for the salmon meat in the market. Use of genetic markers as shown in this study could be applied to many different kinds of fish products for the identification of the species and their origins.

### V. Application

- A. The results and the analysis method of the stable isotope and the trace elements would be useful
- 1) in identifying the salmon populations of Korea, Japan, Canada, and USA
  - 2) in inferring the feeding ground and the migration route of the Korea-released chum salmons
  - 3) when salmon fishing contract is made among neighboring countries

- 4) when other fishery species is investigated for the similar purpose
- B. The results and the analysis method of genetic characteristics of the chum salmon would be useful
- 1) in separating the Korea-released chum salmon from the other populations in the North Pacific
  - 2) in applying such method to other fishery species
  - 3) in maintaining the right of Korea for the chum salmon resource in NPAFC
  - 4) when salmon fishing contract is made among neighboring countries

# CONTENTS

Summary (in Korean) .....	3
Summary (in English) .....	9
Contents (in English) .....	15
Contents (in Korean) .....	19

---

<b>Chapter 1. Introduction of the research .....</b>	<b>21</b>
--	-----------

<b>Section 1. Justification for the research .....</b>	<b>23</b>
--	-----------

<b>Section 2. Aims of the research .....</b>	<b>28</b>
--	-----------

1. Final aims .....	28
---------------------	----

2. Research goals for each year (1999-2001) .....	28
---	----

<b>Chapter 2. Current status of the technology and research in the related field .....</b>	<b>29</b>
--	-----------

1. Domestic status .....	31
--------------------------	----

2. Foreign status .....	31
-------------------------	----

<b>Chapter 3. Research contents and results .....</b>	<b>33</b>
---	-----------

<b>Section 1. The salmon-releasing programs in Korea and the salmon ecology .....</b>	<b>35</b>
---	-----------

1. Introduction .....	35
-----------------------	----

2. Materials and methods .....	35
--------------------------------	----

3. Results .....	40
------------------	----



4. Discussion .....	52
<b>Section 2. Environmental conditions of the East Sea and the regions of the North Pacific .....</b>	<b>55</b>
<b>Section 3. Sample collection from the North Pacific rim countries .....</b>	<b>59</b>
1. Collected samples .....	59
2. The relationship between the body length and the body weight .....	61
<b>Section 4. Analysis of the stable isotope in the salmon otolith ...</b>	<b>65</b>
<b>Section 5. Analysis of the trace elements .....</b>	<b>71</b>
<b>Section 6. A model for the migration route of the Korea-released chum salmon .....</b>	<b>75</b>
<b>Section 7. Genetic identification of the chum salmon stocks .....</b>	<b>79</b>
1. Introduction .....	79
2. Materials and methods .....	80
3. Results and discussion .....	82
<b>Section 8. Genetic differentiation between the chum salmon and the pink salmon .....</b>	<b>95</b>
1. Introduction .....	95
2. Materials and methods .....	97
3. Results .....	99
4. Discussion .....	101

Chapter 4. Achievement and Contribution to the related field .....	115
Chapter 5. Application of the research results .....	119
Chapter 6. Scientific information collected during the research ....	123
Chapter 7. References .....	127
Appendix .....	137

여 백

# 목 차

요 약 문(국문) .....	3
요 약 문(영문) .....	9
목 차(영문) .....	15
목 차(국문) .....	19

---

제 1 장 연구개발과제의 개요 .....	21
------------------------	----

제 1 절 연구의 필요성 .....	23
---------------------	----

제 2 절 연구의 목표 .....	28
--------------------	----

1. 연구의 최종 목표 .....	28
--------------------	----

2. 연차별 연구 목표 .....	28
--------------------	----

제 2 장 국내외 기술개발 현황 .....	29
-------------------------	----

1. 국내 현황 .....	31
----------------	----

2. 국외 현황 .....	31
----------------	----

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과 .....	33
----------------------------	----

제 1 절 우리나라 언어 방류 사업과 언어 생태 분석 .....	35
-------------------------------------	----

1. 서론 .....	35
-------------	----

2. 재료 및 방법 .....	35
------------------	----

3. 결과 .....	40
-------------	----

4. 고찰 .....	52
-------------	----

제 2 절 동해 및 북태평양 환경자료 분석 .....	55
-------------------------------	----

제 3 절 연어 표본의 입수 .....	59
1. 표본 입수 .....	59
2. 연어 표본의 체장, 체중 관계 .....	61
제 4 절 연어 이석의 안정동위원소 분석 .....	65
제 5 절 미량 원소 분석 .....	71
제 6 절 우리 나라 방류 연어의 회유경로 모델 .....	75
제 7 절 연어의 유전자 분석과 계군의 구별 .....	79
1. 서론 .....	79
2. 재료 및 방법 .....	80
3. 결과 및 고찰 .....	82
제 8 절 유전자 분석을 통한 연어와 곱사연어의 구별 .....	95
1. 서론 .....	95
2. 재료 및 방법 .....	97
3. 결과 .....	99
4. 토의 .....	101
제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도 .....	115
제 5 장 연구개발결과의 활용계획 .....	119
제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보 .....	123
제 7 장 참고문헌 .....	127
Appendix .....	137

## 제 1 장 연구개발과제의 개요

여 백

## 제 1 절 연구의 필요성

수산자원학에서 수산자원의 관리와 활용의 기본 단위는 계군(stock)이다. 계군이란 한정된 지리적 영역에서 생식과 성장을 공유하는 어족 집단으로 동일한 생물학적 특성치를 가짐으로 계군의 규명(stock identification)은 수산자원 관리의 기본 과제로 되고 있다. 선진국에서는 계군 파악을 우선적으로 실시하여 수년동안 자료를 축적해 왔으며 이를 바탕으로 수산자원을 관리해 오고 있으나 국내에서는 이에 대한 개념조차 아직 설정되지 않은 실정이다. 특히, 최근 일본과 중국 등 주변국과의 어업협정 체결 과정에서 수산자원량 파악과 어획량 설정 등과 같은 현안 문제에 있어 계군에 대한 과학적 자료의 중요성이 더욱 부각되어졌다. 앞으로 국가간 수산자원의 배타적 관리 방식이 국제적인 흐름으로 자리를 잡아갈 것으로 예상되고 있어, 우리 나라는 주변 해역에 서식하는 수산자원의 계군과, 산란장, 회유 경로에 대한 과학적 자료를 축적해야 할 것이다.

연어는 그 한 예로서, 북태평양 연안국 모두가 관심을 갖고 있는 수산 생물종으로 각국은 연어 방류사업을 통하여 자국의 연어 자원을 관리해 오고 있다(Myoung and Park, 1992). 우리 나라는 1980년대부터 매년 연어 방류사업을 지속적으로 수행하고 있다. 그러나, 연어 자원 관리의 측면에서 매우 중요한 문제인 우리 나라에서 방류되고 다시 회유하여 돌아오는 연어의 계군이 일본이나 러시아, 미국 등 북태평양 연안국으로 회유하는 연어군과 어떠한 차이가 있는가에 대한 과학적 근거가 아직 확립되지 않은 실정이다. 또한, 우리 나 방류된 연어가 어느 기간 동안, 어디에서 성장하고(생활장), 어떠한 경로를 거쳐(회유 경로) 산란장인 하천으로 회유하는지 등도 밝혀져 있지 않아 연어 방류사업의 과학적 자료가 매우 부족하다. Fig. I-1.1에서 보듯이 연어 자원은 북태평양 연안 국가들의 배타적 경제수역(EEZ)과 공유 해역에 걸쳐 분포하므로, 앞으로 연어 자원에 대하여 국가간 이해가 상충될 경우가 발생할 수 있으며, 우리 나라는 이에 대비하여 우리 나라 방류 연어임을 입증할 과학적 근거 자료가 절대적으로 필요할 것이다. 우리 나 방류된 연어의 생활장과 회유경로에 대하여 다음의 네 가지 가능성이 제기된다. 그 각각은 ① 동해 북부에 머물러 성장하다가 되돌아오는 경우, ② 오호츠크해로 이동하여 성장하다가 되돌아오는 경우, ③ 북태평양으로 이동하여 성장하다가 되돌아오는 경우, ④ 위 세 경우의 혼합형이다 (Fig. I-1.1).



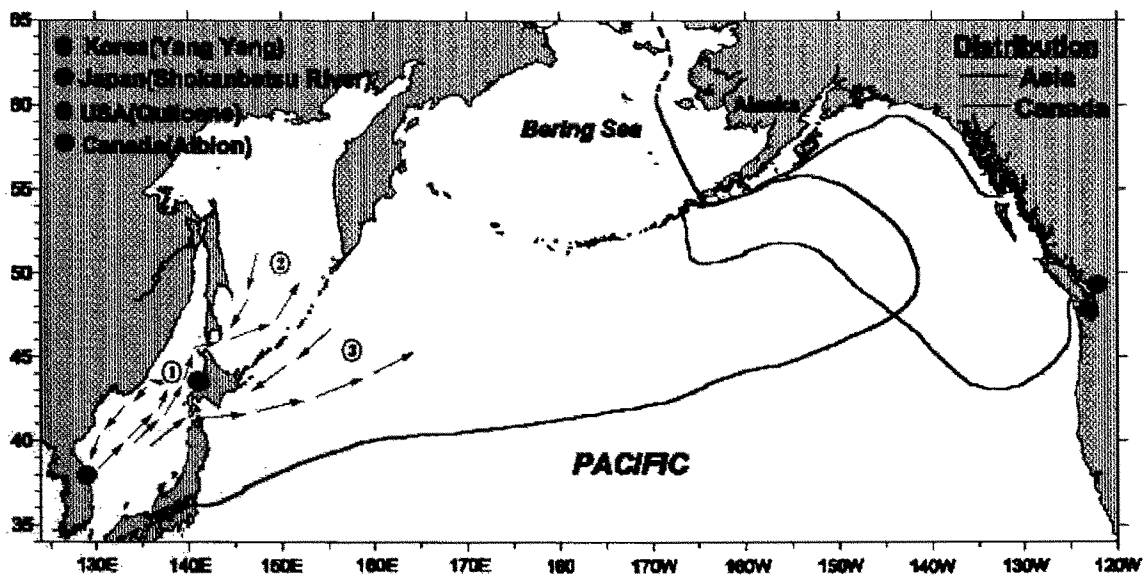


Fig. I-1.1. The salmon sampling sites and the possible route of salmon migration: ①, the East Sea; ②, the Okhotsk Sea; ③, the North Pacific

연어의 해양 생활사가 위의 네 가지 경우의 어디에 해당하느냐에 따라 서로 다른 연어 관리 정책이 수립되어야 할 것이며, 주변국과 연어 자원에 대한 협정을 체결할 때도 서로 다른 조건을 제시해야 할 것이다. 만일, 우리 나라 방류 연어의 생활사가 주로 동해 북부에 머물러 성장하다가 되돌아오는 경우에 해당된다면 동해를 연어의 목장으로 생각하고 이에 적합한 연어 방류 정책을 시도할 수 있을 것이다.

본 연구팀에서 연어의 이석(otolith, 耳石)에 들어있는 안정동위원소( $^{18}\text{O}$ ,  $^{13}\text{C}$ )에 대하여 기초조사를 수행해 본 결과 우리 나라 연어 계군은 일본, 미국, 캐나다의 연어와 구별되는 안정동위원소 구성을 보여주었다 (Fig. I-1.2). 즉, 우리 나라에서 방류된 연어의 생활장이 북태평양 주변국에서 방류한 연어의 생활장과 다를 가능성이 있다는 것이다. 이는 연어의 소유권 문제와 관리 및 이용 면에서 과학적 근거를 제공해 준다.

수산자원과 관련된 국가간 회의는 과학적 근거와 분석을 바탕으로 진행되고 있다. 각 국가의 대표들은 주로 과학자들로 구성되어 있으며 각국은 축적된 조사 자료와 분석을 바탕으로 회의에 임하기 때문에 신빙성 있는 과학적 근거가 없이 이해 당사자 회의에 참석할 경우 어떠한 불이익도 감수해야 될 입장이다. 따라서, 이제 우리 나라도 방류 연어의 생태(계군 파악, 회유경로 및 생활장 파악 등)에 대한 보다 분명한 과학적 자료가 필요한 시점이다. 본 연구의 필요성을 다시 요약하면 다음과 같다.

## 1. 과학, 기술적 측면

- 1980년대부터 지속적으로 방류해 온 우리 나라 연어의 계군을 북태평양 주변국에서 방류된 연어와 구별할 수 있는 과학적 지표를 확립할 필요성
- 우리 나 방류된 연어의 생활장과 회유경로 등이 북태평양 주변국에서 방류된 연어와 어떻게 다른가에 대한 자료의 필요성

## 2. 경제, 산업적 측면

- 우리 나라 방류 연어의 생활장과 회유경로를 파악하여 연어 방류사업의 경제성을 평가할 필요성
- 우리 나라에서 방류된 연어의 생활장을 규명하면 동해 전체의 연어 목장화

등 보다 경제적인 연어자원 관리 계획을 수립할 수 있음

주변국과 연어 자원에 대한 이해가 상충될 경우, 우리 나라 연어의 계군에 대한 지표, 생활장과 회유경로 등에 대한 과학적 자료에 근거하여 국익을 꾀할 수 있음

본 연구에 적용된 연구기법을 기타 국내 주요 수산어종에 적용하여 국내 수산자원 관리 체계의 기초를 확립할 필요성

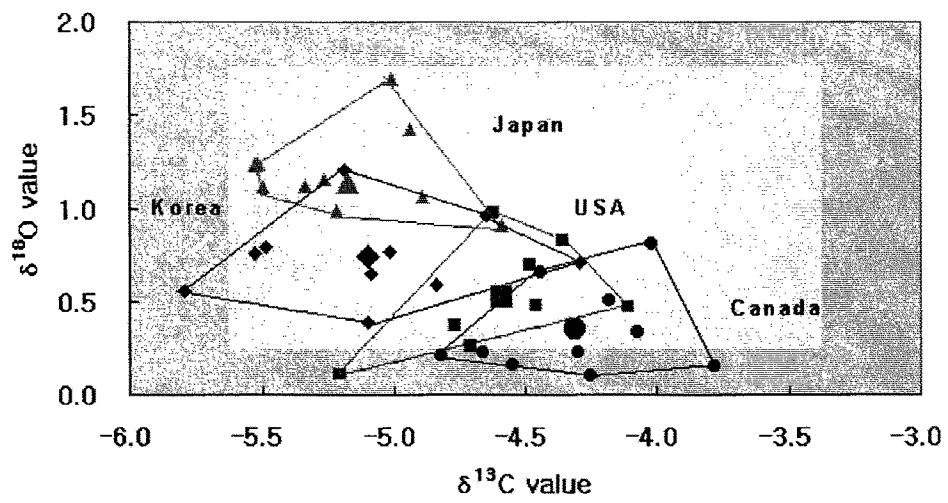


Fig. I-1.2. The values of stable radioisotopes  $\delta^{18}\text{O}$  and  $\delta^{13}\text{C}$  from the chum salmon otoliths (1997 samples)

## 제 2 절 연구의 목표

### 1. 연구의 최종 목표

- 유전자 염기서열을 생체 지표로 하여 우리 나라 방류 연어의 계군 분석
- 우리 나라 연어 이석의 안정동위원소를 분석하여 우리 나라에서 방류한 연어의 생활장 및 회유경로를 파악
- 본 연구를 기반으로 우리 나라 주요 수산어종의 계군을 분석할 수 있는 첨단 기술 확보

### 2. 연차별 연구 목표

구 분	목 표	내용 및 범위
1차 년도 (1999년)	북태평양 전지역 (한국, 일본, 미국, 캐나다)의 연어 개체군 사이의 계군 차이를 안정동위원소( $^{18}\text{O}$ , $^{13}\text{C}$ )를 이용하여 밝힘.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 어장환경 분석(해양 표층수온, 해류 변화 등)</li> <li>- 이석 중에 함유되어 있는 안정동위원소 (<math>^{18}\text{O}</math>, <math>^{13}\text{C}</math>)를 분석</li> <li>- 연어 DNA 유전자 추출 방법의 표준화, 분석 대상 유전자 (ND3)의 분석 방법 개발</li> <li>- 우리 나라, 일본, 미국 계군의 차이를 분석</li> </ul>
2차 년도 (2000년)	북태평양 전지역 (한국, 일본, 미국, 캐나다)의 연어 개체군 사이의 계군 차이를 DNA 구조분석을 통하여 밝힘.	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 동해 및 북태평양 환경 자료 분석 (계속)</li> <li>- 연어의 표본 입수(한국, 일본, 미국, 캐나다, 러시아)</li> <li>- 연어의 생활사와 생태 분석</li> <li>- 이석의 안정동위원소 분석 (계속)</li> <li>- ND3, 마이크로새틀라이트 DNA 염기서열 분석</li> </ul>
3차 년도 (2001년)	유전자 생체 지표 확립 생활장과 회유경로 파악 연어 방류 정책안 제시	<ul style="list-style-type: none"> <li>- 우리 나라 연어 계군의 유전적 특징 제시</li> <li>- 우리 나라 방류 연어의 생활장, 회유경로에 대한 종합적 분석.</li> <li>- 합리적인 연어 자원 관리 방침을 제시함.</li> <li>- 본 연구를 우리 나라의 다른 수산어종의 계군분석에 적용할 첨단기술 방법론 제시.</li> </ul>

## 제 2 장 국내외 기술개발 현황

# 여 백

## 1. 국내 현황

국립수산진흥원은 1984년 양양내수면연구소가 건립된 이후 연어의 인공산란, 수정, 치어의 방류 등을 매년 실시해 오고 있다. 한국해양연구소의 명정구, 박철원 박사(1992)는 우리 나라 연어의 형태학적 연구를 수행한 바 있다. 그 외 한국산 연어의 유전적 표지를 개발하기 위한 생화학적 연구 (Hong et al., 1994), 집단유전학에 대한 연구 (Seong, 1999), 미토콘드리아 리보솜 RNA를 이용한 연어과의 계통진화에 대한 연구 (Lee et al., 2000) 등이 수행되었다.

그러나, 아직 우리 나라 연어를 북태평양 주변국의 연어와 구분할 수 있는 유전적 표지가 확립되지 않았으며 집단간의 유전적 관계 역시 명확히 설정되지 않았다. 최근 본 연구를 통하여 COIII-ND3-ND4L의 단일염기 다형성 패턴에 근거하여 한국과 일본 연어가 유전적으로 가까운 집단이며, 미국 연어는 상대적으로 먼 유전적 집단을 시사하는 연구가 이루어졌다 (Choi, 2002; Choi et al., 2003). 또한, 위 유전자 마커는 우리 나라 연어의 일부분이 일본 연어와도 구분됨을 보여주었다 (Chung et al., 2003). 연어 이석의 안정동위원소를 분석하는 방법 역시 국내에서는 본 연구에서 처음으로 시도되었다.

## 2. 국외 현황

일본, 미국, 캐나다, 러시아는 1993년 2월 16일 북태평양 소하성 어류위원회 (North Pacific Anadromous Fish Commission, NPAFC)를 설립하고, 북태평양 연어자원의 보존과 효율적인 이용을 위하여 과학적인 자료를 축적하고, 정보를 교환하고 있다. NPAFC 자료에 의하면 1997년 연어의 치어 방류량은 총 4,918.7백만 마리로서 미국, 1,703.1백만 마리; 일본, 2,096.3백만 마리; 러시아, 618.7백만 마리; 캐나다 481.6백만 마리; 한국, 19.0백만 마리 등이다. 연어 계군에 대한 분석과 이를 구분할 수 있는 표지가 연어 치어를 생산, 방류하는 북태평양 각 국의 권리를 보장하고, 연어 자원을 효율적으로 관리하는데 필요하다고 생각되어 이에 대한 많은 연구가 수행되고 있다. 처음에는 효소단백질의 대립형질을 이용하는 동위효소분석법이 적용되었고 (O'Connell et al., 1996), 마이크로새틀라이트 DNA의 염기배열이 계군 분석에 유용한 표지임이 알려지면서 (Wright and Bentzen, 1994; Jarne and Lagoda, 1996) 이를 이용하는 방법들이 대서양 연어 (McConnell et al., 1995), sockeye 연어 (Nelson et al., 1998), 송어 (Beacham et al., 2000) 등을 대상으로 시도되었다. 한편, 미토콘드리아 유전자는



염기배열의 변화가 핵 내 유전자보다 약 10배나 빠르고 (Brown et al., 1979) 모든 진핵 생물에 상동유전자가 존재하는 장점이 있어 종과 계군을 구분하고 그들간의 상관관계를 분석하는데 좋은 지시자가 되는 것으로 알려져 있다 (Avice, 1994). 미토콘드리아 유전자는 연어과 어류의 종간 상관관계를 밝히는데 이용되어 왔으며 (Domanico and Phillips, 1995; Kitano et al., 1997; Domanico et al., 1997), sockeye 연어의 계군을 밝히는데도 이용되었다 (Allendorf and Seeb, 2000). Sunnucks (2000)는 미토콘드리아 유전자의 하나인 ND3가 변이 속도가 빨라 종간의 상관관계 분석뿐만 아니라 계군 분석과 생물지리학적 연구에 적합한 지시자임을 제시하였다.

연어 이석(otolith)의 안정동위원소를 분석하여 연어의 생활장과 생태를 파악하려는 연구는 호주에서 활발히 진행되었다(Kalish, 1991). 한편, 일본에서는 micro data logger를 사용하여 연어의 수직 이동을 모니터링하는 연구가 시도되고 있다 (Tanaka et al., 2000).

세계적으로 수산자원이 점차 고갈되면서 세계 각국은 연어 자원에 대한 주권을 더욱 강조할 것이며, 연어자원의 관리를 목적으로 자국산 연어에 대한 계군 확립, 생활장과 회유경로에 대한 과학적 조사가 더욱 활발해 질 것이다. 이러한 연구의 방법론으로 유전자의 염기서열을 생체지표로 이용하는 분자생물학적 방법이 보편화 되고 있으며, 이석의 안정동위원소 분석을 통한 생활장 환경 파악 방법이 보다 구체화 될 것이다. 위와 같은 연구 방법은 연어 자원에 대한 연구뿐만 아니라 다른 수산 자원에 대한 연구에도 광범위하게 적용되어 있다.

### 제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

여 백

# 제 1 절 우리 나라 연어 방류사업과 연어 생태 분석

## 1. 서론

한국에 회귀해 오는 연어에 대해서는 1913년 함경남도 고원에 연어 부화장이 생긴 이후부터 인위적인 관리가 시작되었다. 이후 1967년 삼척 오십천과 경남 밀양강에 부화장이 건립되고, 1984년 양양 남대천 변에 양양내수면연구소가 건립되면서 본격적인 방류사업이 실시됨에 따라 연어의 자원증강과 자원유지는 물론 동해안의 연어 어업도 가능하게 되었다.

현재는 사육기술의 발전과 시설의 확충으로 1970년에 410마리이던 어미 포획량이 1998년에는 36,954마리로, 치어 방류량은 60만 마리에서 2,150만 마리로 크게 증가하였다. 한국 동해안으로 회귀해 오는 연어류는 연어 (chum salmon)와 시마연어 (cherry salmon) 두 종류가 있는데, 거의 대부분이 chum salmon이며, 치어생산 방류사업도 chum salmon을 대상으로 동해안 18개 하천에서 행해지고 있다. 1990년부터는 정치망에서의 연어 어업이 가능하게 되어 연평균 12만 마리 이상을 어획하고 있다.

본 연구는 우리 나라 동해안에 회귀해 오는 연어의 생물학적 특성을 알아보기 위하여 1984년부터 2002년까지 우리 나라 동해안의 18개 연어 포획 하천의 연도별 연어 포획과 치어 방류량 실적을 알아보고, 포획 하천 중에서 연어 포획량과 치어 방류량이 우리 나라 전체의 50%이상을 차지하는 강원도 양양 남대천의 연어 주 포획시기와 포획량, 암·수별 가랑이체장과 연령조성, 연령과 암·수에 따른 평균 가랑이체장과 평균 체중의 연도별 변화, 성비 및 회귀율에 대해 분석한 결과를 보고하고자 한다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 어미 포획 및 어체 측정

본 연구에 사용한 인공채란용 어미는 1984년부터 2001년까지의 9월 중순에서 12월 중순까지 강원도 양양 남대천 하구로부터 1.5 km 떨어진 포획장 (Fig. III-1.1)에서 산란 차 소상하는 연어를 하천을 이중으로 차단한 망 (어전)으로 포획한 것이다.

포획된 어미는 암·수로 나누어 채란 직전에 나무 몽둥이로 즉사시킨 후, 어체의 가량이 체장은 0.1 cm 단위로, 체중은 0.1 g 단위로 측정하였다. 동해안 일대 연안에 서의 연어어업은 1990년부터 정치망에 국한되어 허가되었는데, 이전에는 연어가 포획 금지 어종으로 되어 있어 고정 어구인 정치망에서 연어가 어획되어도 정식 위판을 하지 못하고 불법으로 유통되다 보니 정확한 연어통계량 파악이 어려워 연어치어 생산방류 효과를 알 수 없었고, 어업인 소득에 기여하지 못해 정치망에 한해서 허가가 되어 어획을 하고 있다.

## 나. 연령사정

연령을 판독하기 위한 연령형질로서 비늘을 이용하였으며, 채취부위는 등지느러미의 후단에서 배지느러미의 선단을 잇는 선과 측선이 교차하는 부위에서 측선 2-3열 위의 비늘을 10장 이상 채란하였다 (Fig. III-1.2). 채취한 비늘은 5% KOH용액에 12시간 내지 24시간동안 넣었다가 꺼내 표면의 점액과 오물을 물로 깨끗이 씻은 후 물기를 제거하고 난 뒤 2장의 slide glass 사이에 1마리당 5장의 비늘을 넣어 테이프로 양끝을 붙여 보존하였다. 측정기준선은 비늘의 피복부와 노출부 사이의 경계와 제 1연륜이 교차하는 2개의 점 A와 B를 연결하고, 그 중점 C와 비늘의 초점 (F)을 잇는 직선을 비늘 피복부의 외연까지 연장선을 그어 설정하였다. 비늘의 관찰은 만능투영기 (Nikon, V-12A)를 사용하여 투과광 (20×)으로 확대하여 관찰하였다. 비늘에는 초점 (F)을 중심으로 하여 동심원상으로 나타나는 성장선의 간격이 좁은 휴지대와 성장선의 간격이 넓은 성장대가 교대로 나타나므로 휴지대에서 성장대로 이행하는 부분이 명확히 구별되었으므로 이를 윤문으로 간주하였다. 측정항목은 초점에서 n번째 연륜까지의 거리, 즉 윤경  $r_n$ 과 측정기준선을 따라 초점에서 피복부 외연까지의 직선거리, 즉 인경 R을 측정하였다 (Fig. III-1.3).

연령호칭의 방식은 하천에서 연안으로 이동하는 시기에 생성된 위륜은 제외하고, 겨울을 1번 경과하여 윤문이 1개 나타난 개체를 연령 1 (1세), 같은 방법으로 연령 2 (2세), 연령 3 (3세), - - - - - 연령 N (N세)의 방법으로 했다 (德井, 1988).

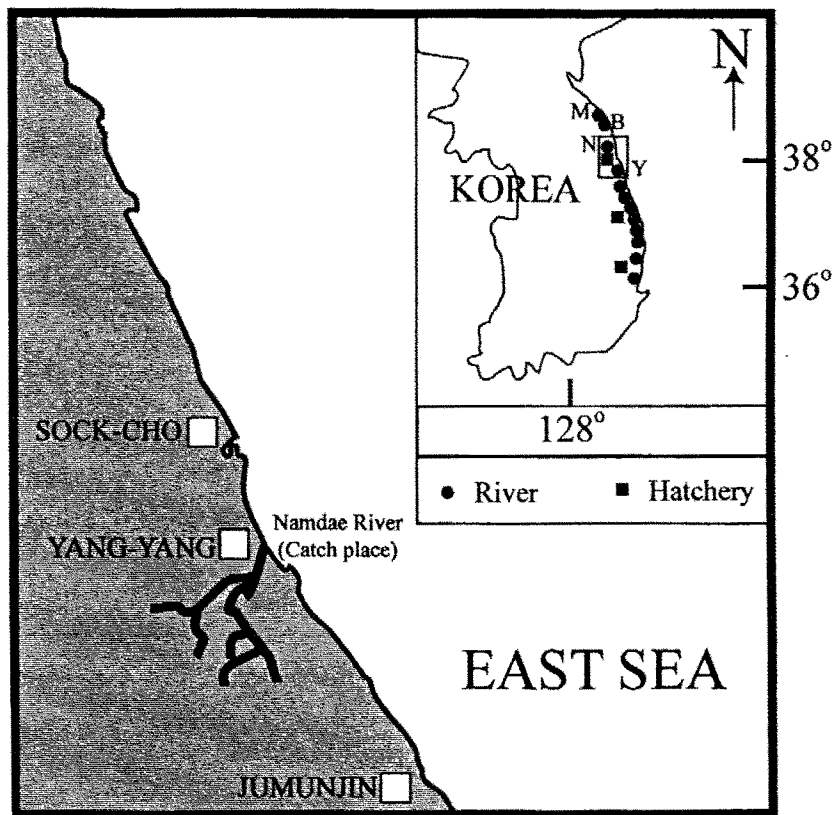


Fig. III-1.1. Map showing the sites of catch and releasing for salmon  
 Solid circles represent the locations of catching and solid squares hatcheries. M. Myeongpa river; B. Buk river; N. Namdae river; Y Yeongok river.

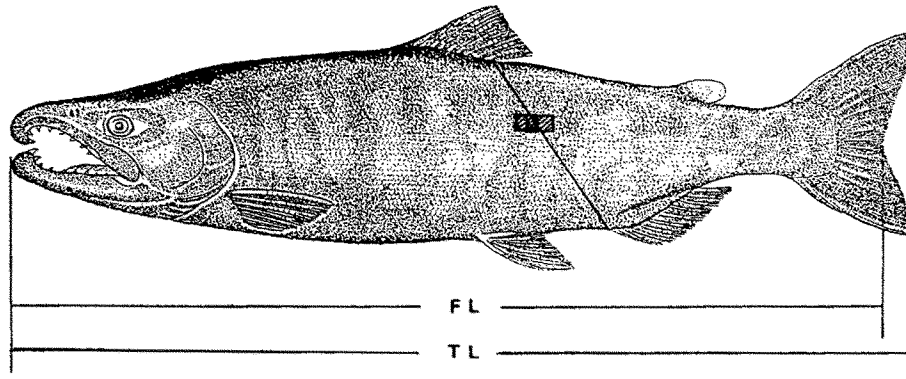


Fig. III-1.2. Morphological measurements and note the location of the preferred scale of chum salmon. TL. Total Length; FL. Fork Length.

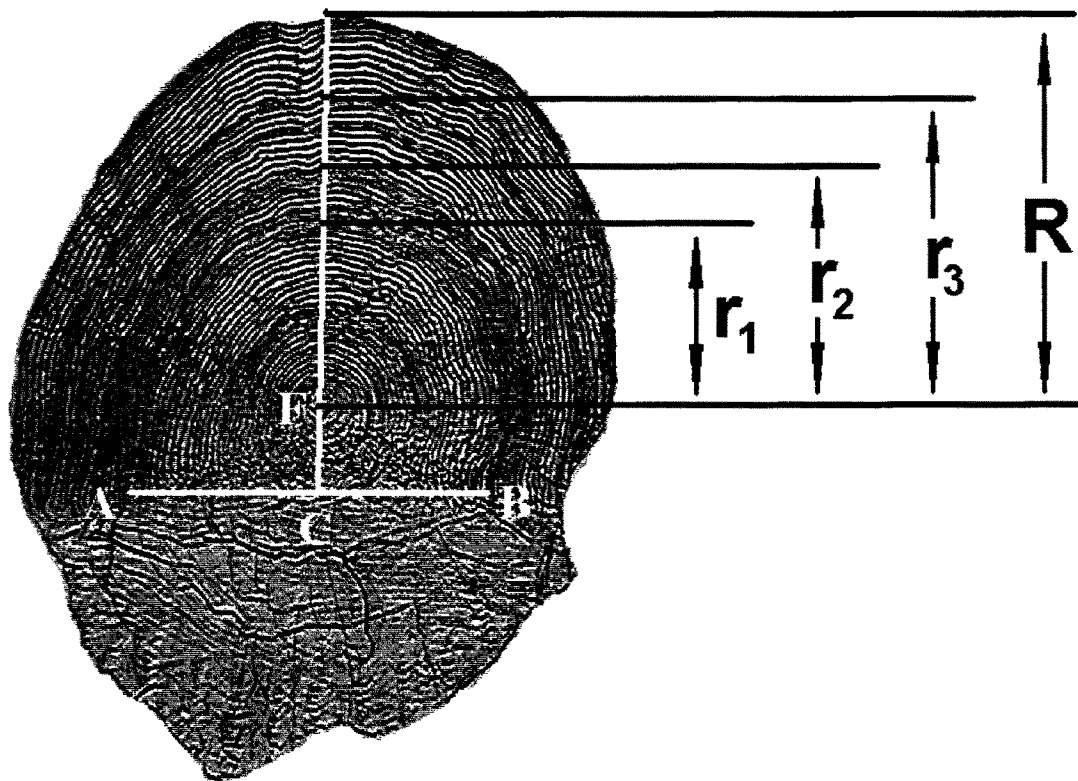


Fig. III-1.3. Diagram of the scale of chum salmon and counting area for age determination.  $R$  indicates the radius of scale.  $r_n$  indicates radius of rings.



#### 다. 치어방류와 치어의 하천별 상대성장 및 회귀율 산정

치어의 방류는 채란 시기와 성장 단계에 따라 2월 중순에서 4월 하순에 걸쳐 3-4회 나누어 방류하였으며, 양양내수면연구소에서 관찰하고 있는 양양 남대천, 강릉 연곡천, 고성 북천, 고성 명파천 4개 하천별 (Fig. III-1.1)로 방류한 치어를 투망을 이용, 포획하여 가랑이체장 (cm)과 체중 (g)간의 상대성장을 구하여, 치어의 상대성장에서 하천간의 차이가 있는지 공분산 분석 (Snedecor, 1946)을 실시하였다.

본 연구에서 사용한 회귀율 산정방식은 일본에서도 사용중인 방법으로 회귀율 산정에 있어 가장 보편적인 방법으로 사용되고 있다. 회귀율 산정은 우리나라 18개 하천에서 포획된 어미 포획량과 연안의 정치망에서 어획된 어획량, 그리고 18개 하천에서 3년 전에 방류된 치어 방류량에 의해 구하였다. 그것을 식으로 나타내면 다음과 같다.

$$\text{회귀율} = \frac{\text{n년의 어획량(하천+연안)}}{\text{n-3년의 치어방류량}}$$

### 3. 결 과

#### 가. 어미 포획량과 포획시기

한국 동해안에 있어 연도별 연어 어미포획 실적은 Fig. III-1.4에 나타난 바와 같다. 동해안 18개 하천의 어미 포획량을 보면, 1984년에 4,786마리이던 어미포획 마리수가 1998년에는 36,954마리로 7.7배 증가하였으며, 18년간의 총 포획량은 393,985마리였다. 동해안에 있어 연어 소상량이 가장 많은 양양 남대천은 1984년 2,270마리에서 1998년에는 10.8배가 증가한 24,610마리였고, 18년간 185,476마리로 전국의 47.1%를 차지하였다. 연안에서의 어획은 1990년부터 정치망에서 연어의 어업이 이뤄져 74,571마리에서 1997년에는 190,193마리로 증가하였다. 양양 남대천에 소상한 연어의 하천 소상과 포획시기는 1984년부터 1992년까지는 9월 13일부터 12월 15일까지였지만, 수산자원보호령이 개정된 1993년 이후는 10월 11일부터 11월 30일까지로 단축되었다. 하지만, 연어의 하천 소상 시기는 9월 중순에서 12월 중순까지로 실

지 포획기간보다 길었다. 양양 남대천에 있어 18년간의 어미포획율을 월별로 살펴보면, 9월이 0.2%, 10월이 36.7%, 11월이 60.6%, 12월이 2.5%로 나타났다 (Fig. III-1.5). 따라서 11월이 주 포획시기로 볼 수 있으며, 11월중에서도 월별 포획율이 32.8%를 차지한 11월 상순이 가장 많은 양을 차지하였다. 암·수 성비(性比)는 1 : 1.34로 암컷이 전체의 42.7%를 차지하였다.

#### 나. 양양 남대천 연어의 암·수별 가랑이체장 조성

양양 남대천에서 포획된 어미의 암·수별 가랑이체장의 범위를 보면, 수컷의 가랑이체장은 42.0-88.0 cm, 암컷은 46.5-83.8 cm로 범위가 넓게 나타났다. 암·수별 가랑이체장 조성을 보면, 암컷은 1985년, 1986년, 1987년, 1991년, 1993년, 1995년, 1996년에 65-70 cm의 것이 가장 높았고, 1984년, 1990년, 1992년, 1994년, 1997년은 60-65 cm, 나머지 연도에서는 55-60 cm가 가장 높은 비율을 나타냈다. 수컷은 1984년, 1987년, 1990년, 1994년, 1996년에 60-65 cm의 것이 가장 높은 비율을 나타냈고 1993년, 1995년, 1997년은 65-70 cm, 나머지 연도에서는 55-60 cm의 것이 가장 높게 나타났다 (Fig. III-1.6). 따라서 암컷은 수컷에 비해 가랑이체장이 5 cm 정도 큰 것으로 나타났다.

#### 다. 양양 남대천 연어의 암·수별 연령 조성

1984년부터 1996년까지 양양 남대천에서 포획된 연어의 암·수별, 연령별 출현 빈도를 보면, 3, 4세어가 대부분을 차지하였는데 암컷은 1984년, 1989년, 1992년을 제외한 다른 해에는 4세어가 가장 높게 나타난 반면, 수컷은 1984년, 1985년, 1986년, 1987년, 1989년, 1992년의 6년간 3세어가 가장 높은 비율을 차지하였다 (Fig. III-1.7).

전체적으로 수컷은 3세어가 64.5%를 차지하였고, 암컷은 4세어가 56.9%로 대부분을 이루고 있었으며, 수컷의 2세어, 4세어와 5세어는 각각 16.4%, 18.7%와 0.4%를 차지하였고, 암컷은 2세어가 1.6%, 3세어 40.2%, 5세어가 1.2%의 비율로서 가랑이체장 조성에서 나타난 결과와 같이 연령 조성에 있어서도 수컷이 암컷보다 소형 개체가 많은 비율을 차지하고 있는데 반해, 고 연령인 5세 개체에 있어서는 암컷의 비율이 높은 것으로 나타났다.

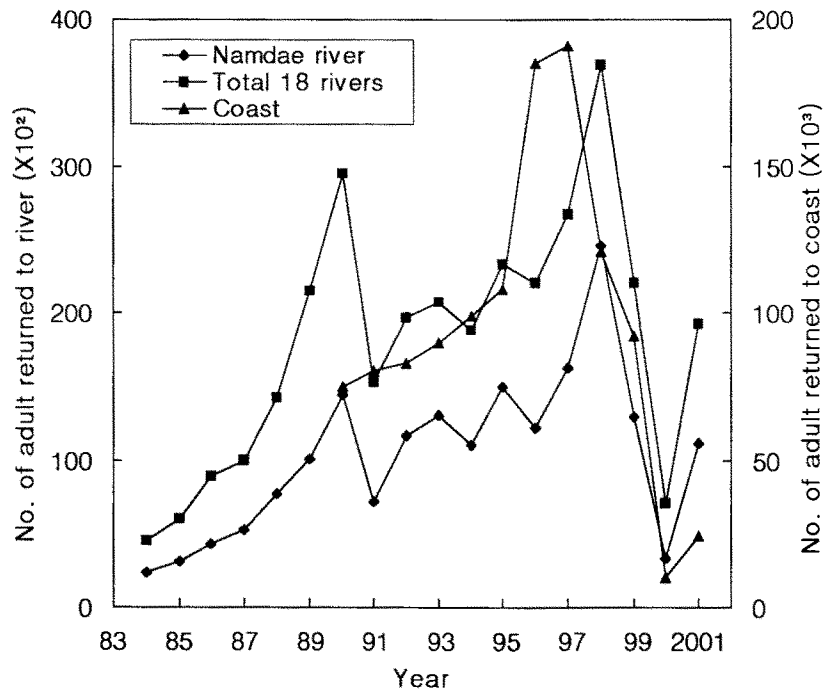


Fig. III-1.4. Number of adult chum salmon returned to Korea during 1984-2001

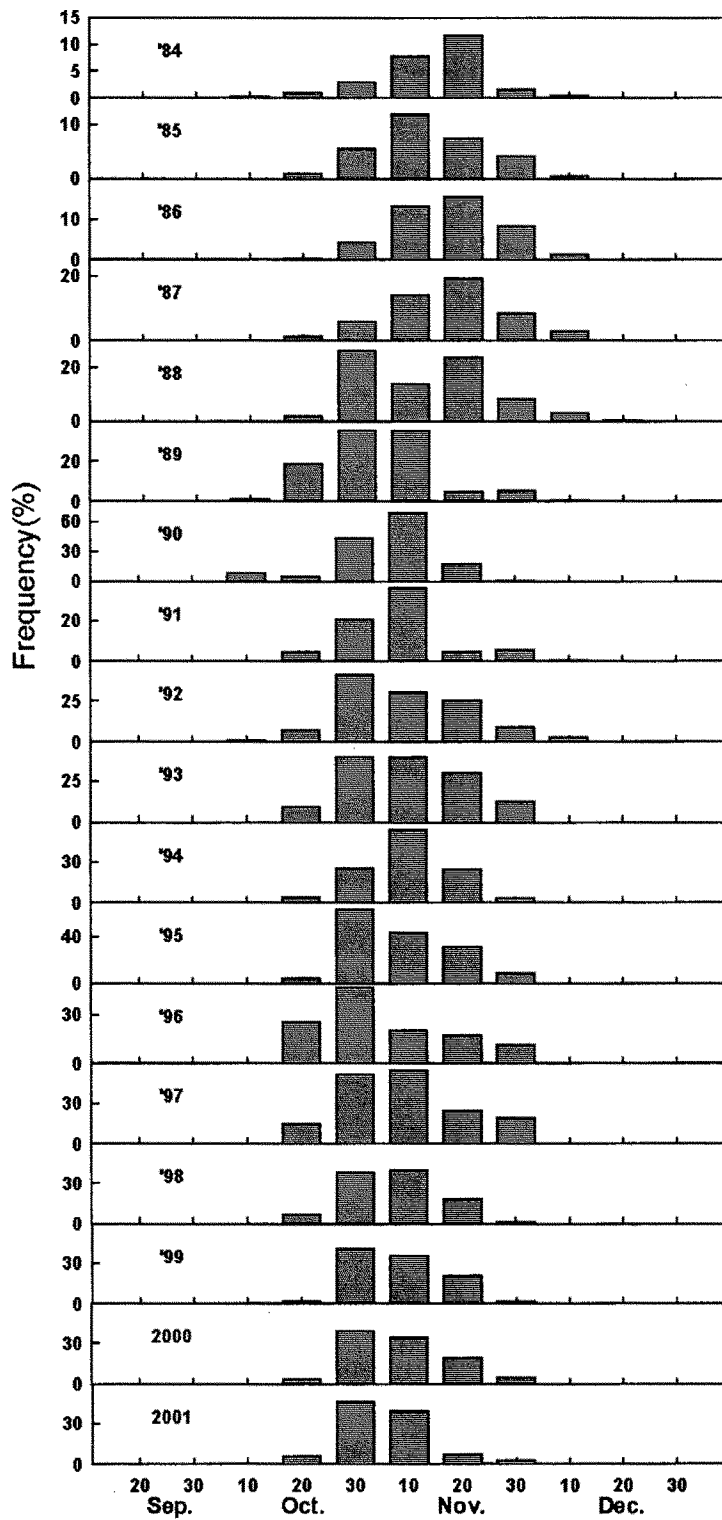


Fig. III-1.5. Catch period of adult chum salmon returning to Namdae river during 1984-2001.

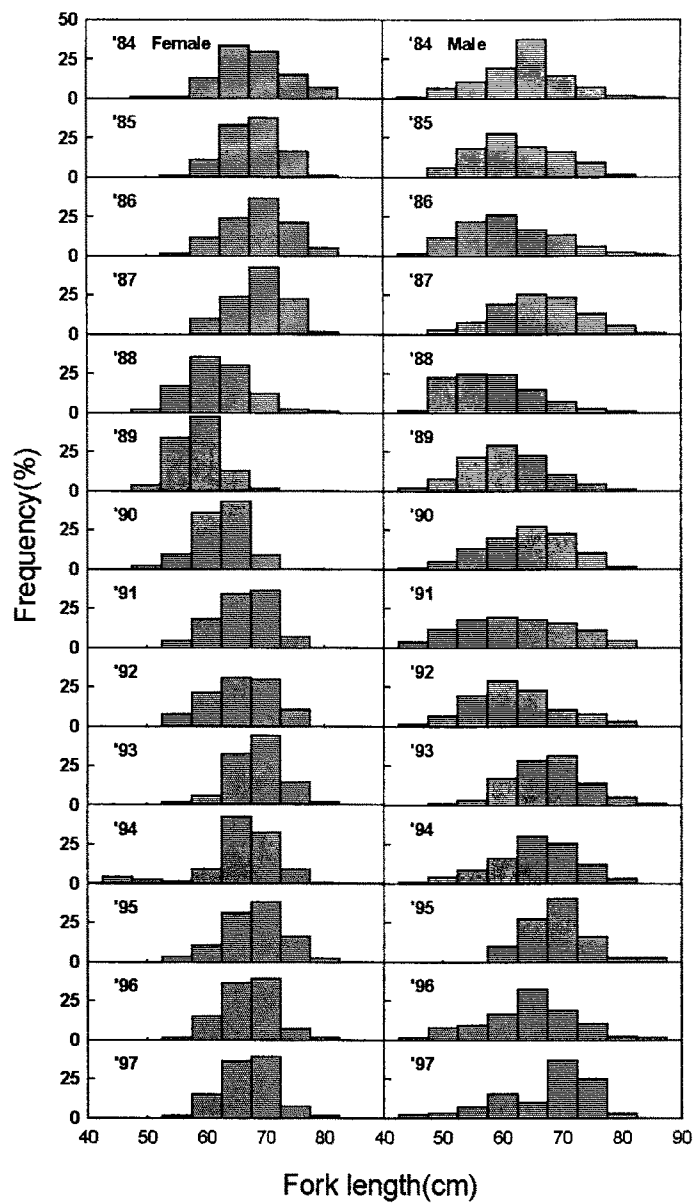


Fig. III-1.6. Composition of fork length by sex of adult chum salmon returning to Namdae river during 1984-1997.

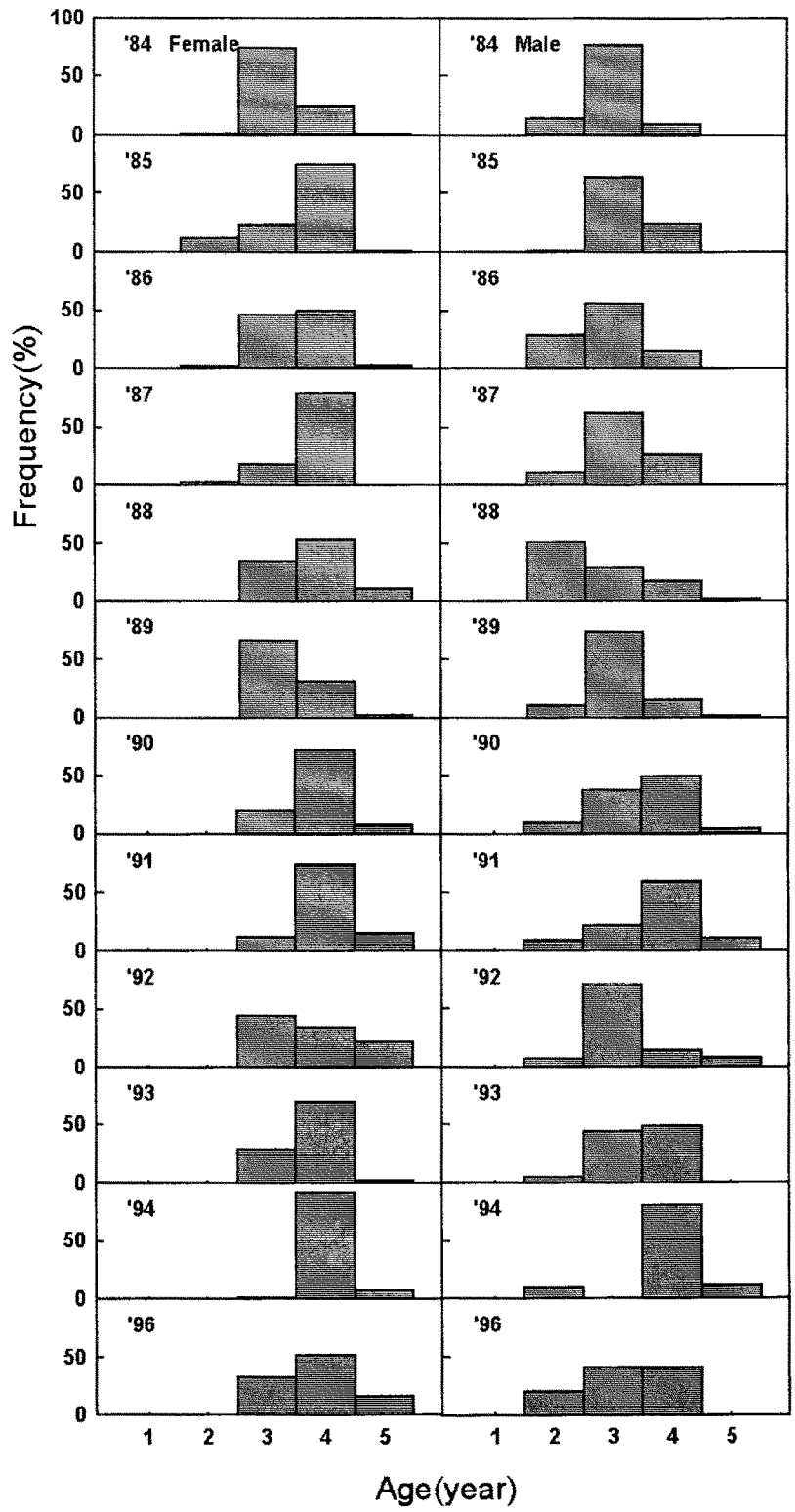


Fig. III-1.7. Composition of age by sex of adult chum salmon returning to Namdae river during 1984-1996.

## 라. 양양 남대천 연어의 연령과 암·수에 따른 평균 가랑이체장과 체중의 연도별 변화

양양 남대천에 소상한 연어의 연령에 따른 암·수의 평균 가랑이체장과 체중을 보면, 가랑이체장은 암컷의 경우 2세어가 55.4 cm, 3세어 62.9 cm, 4세어 67.7 cm, 5세어 71.9 cm이었고, 수컷은 2세어가 50.2 cm, 3세어 59.9 cm, 4세어 66.8 cm, 5세어 74.9 cm로 나타났다 (Fig. III-1.8).

체중은 암컷에서 2세어가 1.56 kg, 3세어 2.36 kg, 4세어 2.93 kg, 5세어 3.61 kg 이고, 수컷은 2세어가 1.13 kg, 3세어 1.97 kg, 4세어 2.84 kg, 5세어 4.11 kg으로 나타났다.

연령에 따른 연도별 가랑이체장과 체중은 해가 갈수록 다소의 감소 경향을 나타냈는데 암컷은 1988년과 1989년에 3, 4세어의 가랑이체장이 평균보다 2-3 cm씩 작았고, 1984년에는 2세어의 가랑이체장과 체중이 다른 해에 비해 가장 작았는데 가랑이체장은 6.7 cm, 체중은 0.73 kg 작았다. 수컷은 1988년의 3, 4세어에 있어 가랑이체장과 체중이 평균보다 작았는데, 가랑이체장은 1.6 cm, 4.1 cm, 체중은 0.3 kg, 0.7 kg 작게 나타났다.

## 마. 치어 방류량과 회귀율

한국 동해안에 있어 연도별 연어 치어 방류실적과 회귀율은 Fig. III-1.9와 같다. 매년 치어의 방류 마리수는 증가하는 추세이고, 연어 치어 방류는 전국적으로 1985년 3,810,000마리에서 최대 방류량을 보인 1998년에는 21,500,000마리로 5.6배 증가하였고, 1985년부터 2002년까지 동해안 18개 하천에 방류한 치어의 총 방류 마리수는 219,488,000마리였다. 양양 남대천은 1985년 1,930,000마리에서 1999년에는 11,150,000마리로 5.8배 증가하여 전국의 51.9%를 차지하였으며, 양양 남대천의 치어 방류마리수도 매년 증가하여, 2002년까지의 총 치어 방류량은 119,425,000마리였다. 방류 시기는 2월 중순에서 4월 하순이었고, 방류 치어의 크기는 평균 가랑이체장이 4.7-5.6 cm이고 체중은 0.6-1.2 g 이었다.

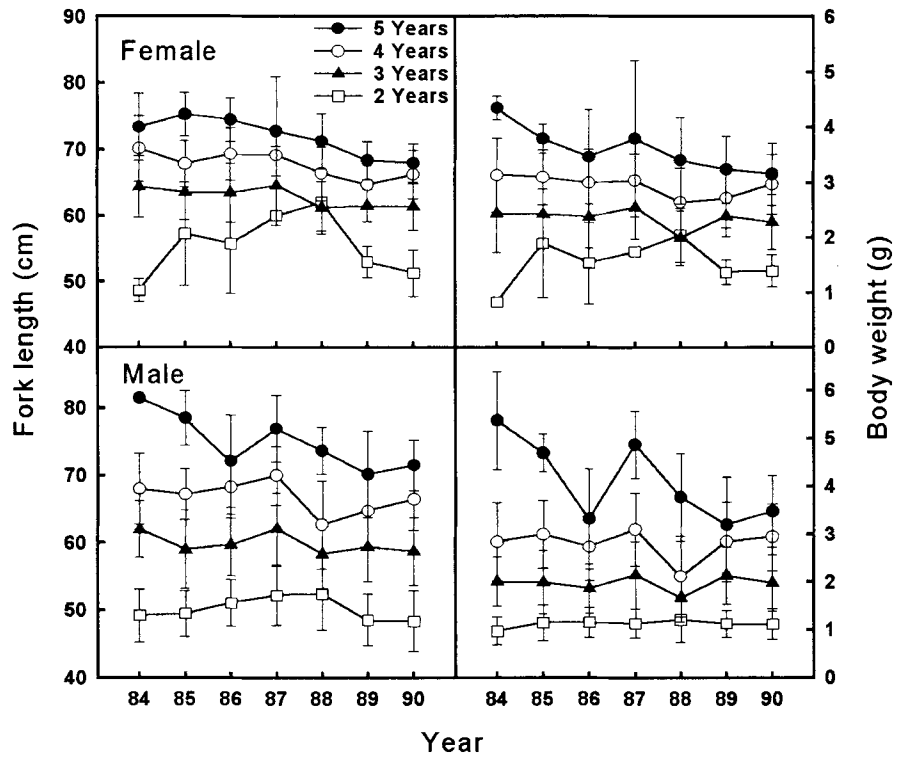


Fig. III-1.8. Annual changes of fork length and body weight by age and sex of chum salmon returning to Namdae river during 1984-1990.



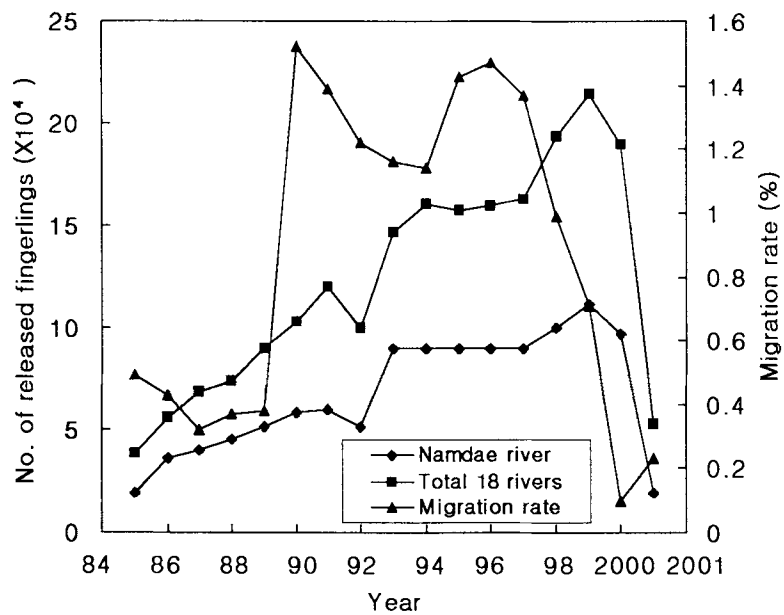


Fig. III-1.9. Number of released fingerlings and annual changes in migration rate of chum salmon to Korea during 1985-1998. Migration rate was calculated as adult caught at rivers and coast by released fingerlings 3 years age.

회귀율은 0.10%에서 1.52%로 많은 차이를 보였는데, 1985년에서 1989년까지는 회귀율 산정시 연안에서 어획된 연어의 어획량이 포함되지 않았기 때문에 1985년은 0.49%로 회귀율이 낮게 나타났고 2000년, 2001년은 엘니뇨현상에 의해 1997년과 1998년의 방류치어가 동해연안에서 대량 폐사함에 따라 회귀율이 급격히 감소되었다. 1990년부터는 연안 정치망의 연어 어획이 허가되면서 정식 위판을 통해 정확한 어획량이 파악되어 회귀율이 1.0% 이상 높아졌다. 또한 선진 사육기술의 연수와 사육기구 등의 도입을 통해 채란량, 부화율 및 치어의 생존율을 향상시킴으로써 결국 치어의 방류량과 회귀량이 증가된 결과를 보였다.

#### 바. 방류 치어의 하천별 상대성장 차이

양양내수면연구소에서 관찰하고 있는 양양 남대천, 강릉 연곡천, 고성 북천, 고성 명파천의 4개 하천별로 방류한 치어를 포획하여 가랑이체장 (cm)과 체중 (g) 간의 상대성장을 구하였다 (Fig. III-1.10). 남대천, 연곡천, 북천, 명파천에서의 상대성장식은 각각  $BW=0.0043FL^{3.4769}$ ,  $BW=0.0065FL^{3.1308}$ ,  $BW=0.0080FL^{3.0368}$ ,  $BW=0.0039FL^{3.4535}$ 로 나타났다. 또한, 치어의 상대성장에서 하천간의 차이가 있는지 공분산 분석을 실시한 결과는 Table 1과 같다.

공분산 분석 결과 기울기 검정에서는 남대천과 명파천간에, 연곡천과 북천간에서 유의한 차이가 없었으며, 절편의 검정에서는 남대천과 북천간에, 남대천과 명파천간에 유의한 차이가 있었다. 따라서 하천별 초기 성장에서는 연곡천과 북천간에서만 차이가 없었다.

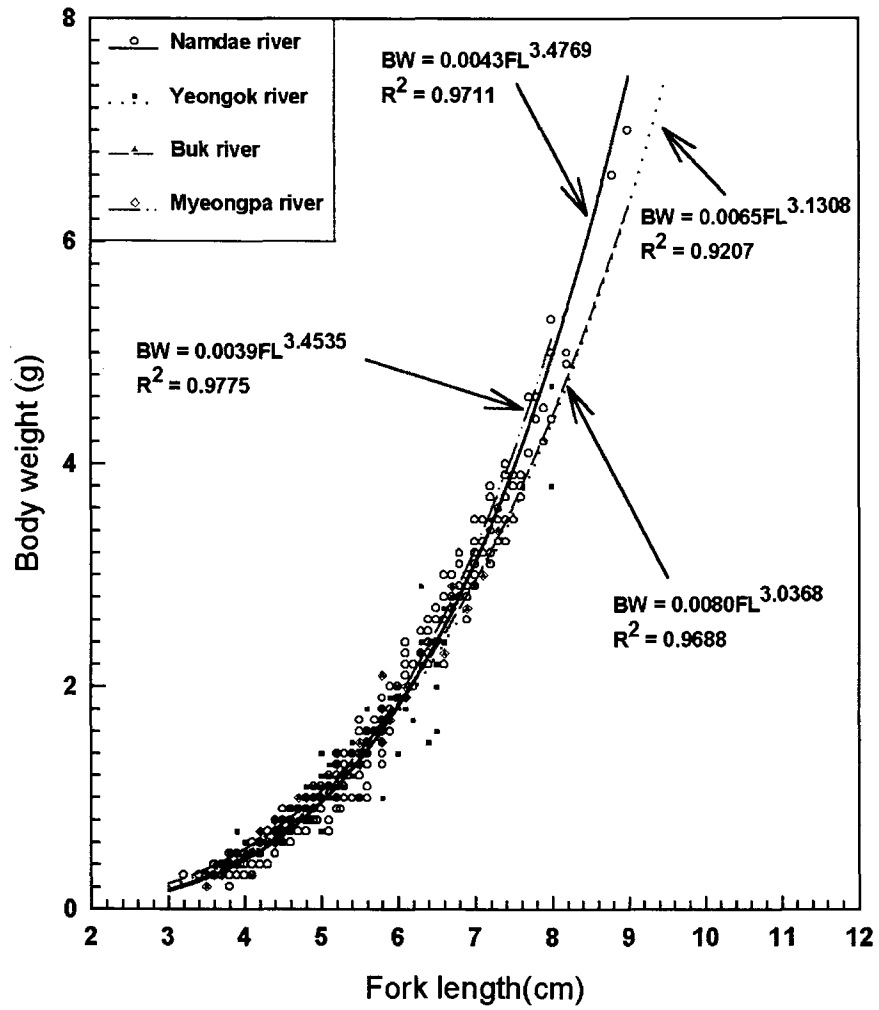


Fig. III-1.10. Relative growth of fork length and body weight for chum salmon fingerlings from each river.

**Table 1. Comparison of relative growth for chum salmon  
fingerlings from each river**

**(a) Test of slope**

Place	Yeongok river	Buk river	Myeongpa river
Namdae river	F(1,421)= 14.284**	F(1,383)= 19.579**	F(1,369)= 0.077
Yeongok river	-	F(1,188)= 0.650	F(1,174)= 8.288**
Buk river	-	-	F(1,135)= 19.460**

**(b) Test of intercept**

Place	Yeongok river	Buk river	Myeongpa river
Namdae river	F(1,422)= 4.457*	F(1,384)= 9.332**	F(1,370)= 7.029**
Yeongok river	-	F(1,189)= 4.622*	F(1,175)= 0.010
Buk river	-	-	F(1,136)= 1.737

#### 4. 고 찰

연어의 소상 시기는 위도에 따라 차이가 있는데 북태평양에 인접한 연안으로의 내유(來遊)는 초여름부터 늦은 가을까지로 캄차카 방면의 성어기는 8월이고, 오토츠크 방면은 8-9월이며 북해도는 10-11월이다(田口, 1966). 우리 나라 동해안 주요 하천의 포획기간도 북으로 갈수록 빠르고 남으로 갈수록 조금씩 늦은 경향이 있다. 양양 남대천의 포획기간은 9월 중순에서 12월 중순까지인데 이것은 남쪽에 위치한 동해안의 다른 하천보다 일주일 내지 열흘정도 빠르다(국립수산진흥원, 1987).

월별 하천 소상 시기의 차이는 소상 어미연어의 성숙정도에 따른 내적 요인과 외적 요인인 하천수의 물리적 조건, 기상조건, 하천 유로의 구조, 어군의 분포, 밀도 등 복잡한 영향에 의한 것이다(眞山, 1977). 양양 남대천에 있어 연도별, 월별 소상 비율의 차이는 포획기간의 단축과 1990년 이후 시작된 연안에서의 정치망 어업의 허가와도 관련이 있는 것으로 생각되며, 1991년에는 포획량이 급격하게 감소했는데 이것은 전국 포획량의 60% 이상을 차지하는 양양 남대천의 경우, 연어 포획시기에 포획망 옆에서 골재채취로 인한 소음과 진동, 하천환경의 변화 등 여러 가지 요인으로 인한 감소와 1988년에 방류된 치어의 해양 환경(먹이부족, 수온 등)의 악화에 의해 전국적으로 감소한 것으로 사료되는데, 이에 대한 연구는 해양 환경조사와 같이 수행되어야 규명될 것이다.

양양 남대천에 있어 연어의 주 포획 시기는 11월 상순이나, 1984년은 11월 중순, 1988년은 10월 하순에 최대치를 나타냈는데 이것은 각각 110.4 mm와 89.6 mm의 강우에 의해 하천수량이 늘어남에 따라 소상량이 증대된 것이었으며, 그 외의 연도에서는 이러한 경향이 나타나지 않았다. 주 포획 시기의 수온은 8.4-12.7℃로 나타났는데 10월 하순과 11월 중순의 수온은 각각 11.6-15.9℃와 6.4-10.1℃이었다. 따라서 비에 의한 하천 유량의 증가가 수온보다는 연어 포획량에 큰 영향을 미치는 것으로 나타났다는데, 추후 환경 요인에 관한 상관관계를 좀 더 조사해야 할 것으로 생각된다.

연어(chum salmon)는 북태평양에 서식하는 태평양 연어 7종의 총 자원량 중 50% 이상을 차지하고 있으며, 지리적 분포 또한 가장 넓다(Bakkala, 1970; Fredin *et al.*, 1977). 성숙한 어미는 보통 2세에서 5세가 되면 모천으로 회귀하며(Bigler, 1985), 개체 중에는 크기가 가랑이체장 108.8 cm, 체중 20.8 kg에 이르는 것도 있다(Anonymous, 1928).

아시아에는 여름 연어와 가을 연어가 있는데 러시아의 Amur강은 여름 연어와 가을 연어가 나타나는 유일한 강이며, 우리 나라로 소상하는 연어는 가을 연어에 속한다. 소상 시기는 남쪽으로 갈수록 느려지며 북쪽에서는 6-8월에 상류로 소상하며, 사할린과 북해도에서는 9-10월에, 혼슈에서는 10-11월에 주로 소상한다. 우리 나라의 연어도 주 소상 시기는 10-11월로 일본의 혼슈와 북해도의 남부 해안과 같은 시기를 나타냈다.

산란하는 개체들의 연령 분포는 산란기간을 통해 다양하다. 캐나다의 Fraser강과 Alaska 중부 (Helle, 1979) 하천에서의 연령 조성은 3, 4, 5세어로 구성되어 있고, 4년생이 지배적이다. 5세어는 4세어보다 빨리 소상하고, 3세어는 5세어보다 늦게 소상하는 경향이 있으며, 4세어의 산란 이동이 끝나 갈 때 3세어의 비율이 증가되었다. 양양 남대천에 있어 연령 조성은 암·수에 따라 조금 달랐는데 이것은 매년 방류량이 증가함에 따라 연급군이 다양하게 분포하고 있으며 수컷이 암컷보다 조금 빨리 성숙하여 회유하기 때문이라고 생각되며 3, 4세어가 대부분을 차지하였으나 소상 시기에 따른 연령 조성의 차이는 추후 조사해 보아야 할 것으로 생각된다.

연령에 따른 연도별 체장과 체중에서 해가 갈수록 다소의 감소 경향을 나타냈는데, 이것은 해양의 먹이생물과 환경에 의한 성장차이가 크기 때문이라고 생각되며, 추후 인장과 각 연령간의 윤경을 조사하여 분석해야 할 것으로 사료되며, 평균 가랑이체장이 수컷보다 암컷이 5 cm정도 크게 나타났으나 암컷 5세어보다 수컷의 5세어에 있어 체장과 체중이 큰 것은 연령조성에 있어 수컷 5세어가 0.4%로서 아주 작은 비율을 차지한 바와 같이 표본의 수가 적었기 때문이다.

암·수의 비율은 산란 이동기간 동안 전체적으로 1 : 1에 가깝다(Bakkala, 1970). Mattson *et al.* (1964)은 미국의 Traitors강 지류와 Alaska에서 산란기간 동안 암컷에 대한 수컷의 비율은 최고 1 : 3.56에서 최저 1 : 1.34라고 보고하였다. 양양 남대천에 있어서의 암/수 비율은 1 : 1.34로 수컷의 비율이 조금 높았는데 이러한 비율은 다른 곳과 비슷한 경향이였다.

# 여 백

## 제 2 절 동해 및 북태평양 환경자료 분석

연어(chum salmon)는 아시아에서부터 북아메리카까지 분포하며, 태평양산 연어 7종 중에서 가장 넓은 지리적 분포를 보이는 것으로 알려져 있다. 일반적으로 봄에 부화된 새끼는 바다로 내려가서 3~4년 (혹은 2년~5년, 주: 학자에 따라 주장이 엇갈림) 만에 성숙한 후 다시 산란장인 강으로 회유한다.

대부분 연어 성장은 공해 상에서 일어난다 (Welch and Parsons, 1993). 우리나라에서 방류된 연어가 성장하는 해역을 파악하기 위하여 이석에서 얻은 안정동위원소 값과 연어 서식지의 환경 요인 사이의 관계를 분석하려고 하였으며, 이를 위하여 1994년부터 1999년까지 북태평양의 수온 자료를 분석하였다. 동해와 오호츠크해, 북태평양의 수온 자료를 분석하기 위하여 한국해양자료센터(KODC), 미국해양자료센터(NODC), 일본해양자료센터(JODC), 국제연구 프로그램인 CREAMS의 자료를 취합한 후 정리하였다. 북태평양을 여섯 지역으로 나누고 각 지역의 수온을 분석하였다(Fig. III-2.1): 동해(40-45°N 128-138°E), 오호츠크해(50-57.5°N 145-155°E), 베링해(52.5-60°N 170°E-170°W), 서부태평양(40-45°N 150-170°E), 중부태평양(40-50°N 170°E-170°W), 동부태평양(45-50°N 140-160°W). Ogura(1994)에 따르면 연어는 대부분 50m 이상의 수심에 서식하고, 연어의 성장은 5월에서 10월 사이에 가장 왕성하게 이루어짐으로, 이 시기 동안에 20-50m 수층의 수온을 분석하였다. 또한, 연어의 성장이 가장 빠른 6-7월 수온을 비교하였다.

각 해역별로 1994년부터 1998년의 수온자료를 평균한 결과, 일반적으로 베링해와 서부태평양의 수온이 낮았으며, 오호츠크해, 중부태평양, 동부태평양, 동해의 순으로 수온이 높게 나타났다(Table III-2.1). 엘니뇨현상이 나타났던 1997년과 1998년 각 지역의 평균수온 비교에서도 베링해와 서부태평양이 가장 낮았으며 오호츠크해, 중부태평양, 동부태평양, 동해의 순으로 수온이 높았다 (Fig. III-2.2).



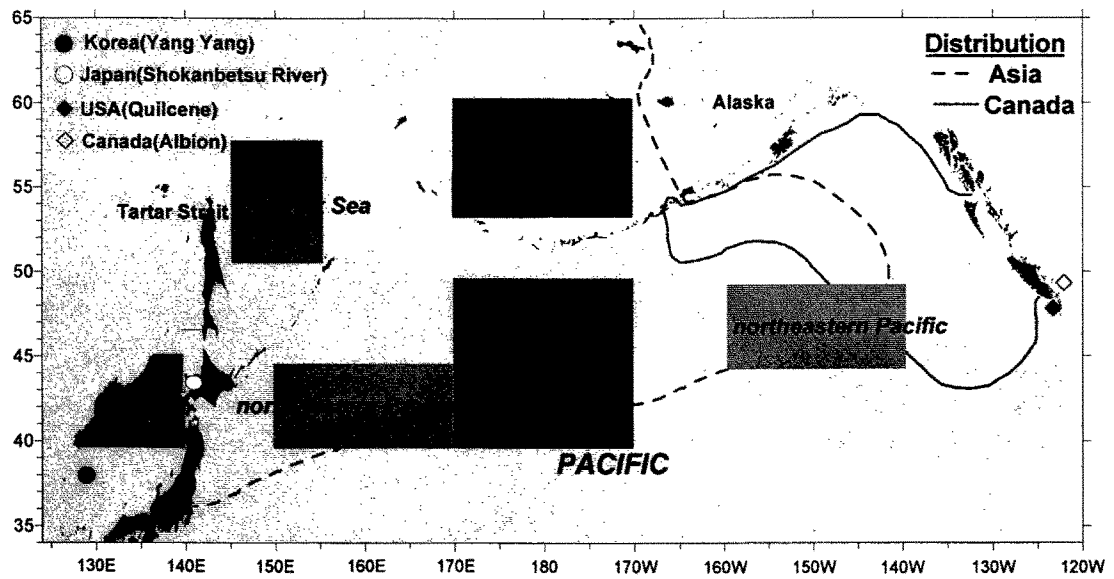


Fig. III-2.1. The six regions in the North Pacific where the seawater temperatures were investigated.

Table III-2.1. The mean temperatures in the each region of the North Pacific at the 20-50m depth (°C)- (May~Oct.)

	동해	오호츠크해	북서태평양	중부태평양	동부태평양	베링해
1994	14.567	7.699	7.350	10.174	11.466	5.899
1995	14.744	7.533	5.280	6.929	11.052	6.029
1996	13.972	7.966	7.087	8.910	12.279	6.782
1997	15.858	7.970	5.756	7.679	11.052	5.873
1998	14.556	8.461	5.311	8.857	11.412	5.736

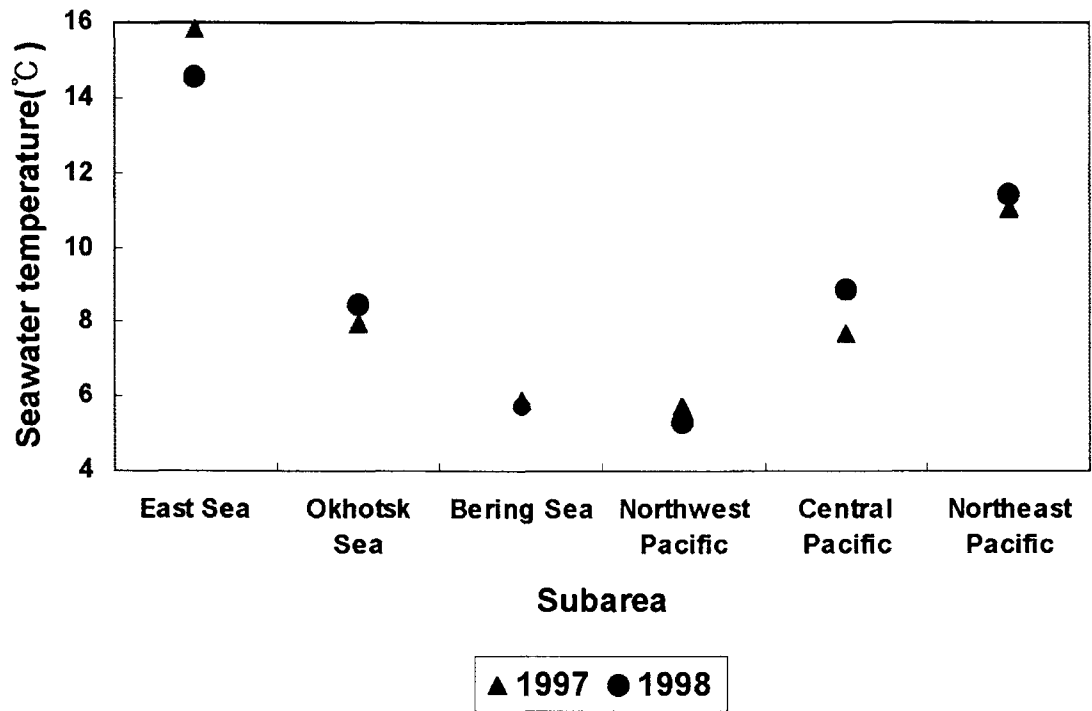


Fig. III-2.2. The mean seawater temperature in the each region of the North Pacific at the depth of 20-50m during May to Oct. of 1997 and 1998.

## 제 3 절 연어 표본의 입수

### 1. 표본 입수

1997년부터 4년 동안 연어의 북태평양 연안 4개국(한국, 일본, 미국, 캐나다)에서 연어 표본을 채집하였다(Fig. I-1.1). 우리 나라 방류 연어의 시료는 국립수산진흥원 산하 양양 내수면 연구소에서 채집되었으며, 일본 방류 연어는 일본 수산청 산하에 있는 홋카이도 지역의 Shokanbetsu강에서 얻어졌다. 미국의 경우 알래스카 수산과학 연구소(AFSC) 산하의 워싱턴 소재 Quilcene 국립 부화장에서 채집되었으며, 캐나다는 태평양 생물연구소(PBS) 산하에 있는 Victoria 지역의 Albion 지역에서 채집되었다.

2000년도 연어 표본의 경우, 우리 나라에서는 부화장별 연어 계군의 차이 유무를 분석하기 위하여 양양의 남대천뿐만 아니라 동해안을 따라 분포하는 울진 왕피천과 삼척 마읍천에서 채집되었다. 일본에서는 쓰야해협을 통과할 것으로 예상되는 홋카이도 지역의 Shokanbetsu 강에 올라온 연어와 쓰가루해협 주변의 하코다테에서 포획된 연어를 현지에서 얻었다. 미국 연어는 Quilcene에서 채집된 연어를 획득하였으며 캐나다 연어는 얻지 못했다.

채집된 표본은 암컷과 수컷을 구분하고 그 형태적 특징으로 가랑이 체장 (다문 입 끝에서 꼬리 사이의 깊이 패인 곳, 즉 가랑이까지의 길이(fork length); 이하 체장이라 칭함)과 체중을 측정한다. 체장은 0.1 cm 단위로, 체중은 0.1 g 단위로 측정하였다(Appendix III-2.1).

2001년 연어표본의 채집은 양양 남대천에서 수행되었다. 근육과 간은 100% ethanol에 넣고, 이석은 vial에 담아 실험실로 운송하였다.

체장, 체중, 성별 자료와 이석은 1997년이래 매년 입수하고 있으며, 근육과 간 조직 시료는 1998년(미국, 일본)과 1999년(한국, 미국, 캐나다), 2000년(한국, 일본, 미국)에 입수하였다 (Table III-3.1). 2001년에는 위의 모든 자료와 조직 시료를 일본에서 이미 입수하였으며 11월에 양양 남대천에서 근육과 간, 그리고 이석을 채집하였다. 우리 나라와 일본 시료는 연구자들이 직접 현지에서 구입하고 있으며 미국과 캐나다 시료는 각 국의 연어 과학자의 협조를 통하여 채집하였다.

Table III-3.1 The list of the collected salmon specimens (1997-2001)

표 2. 연어 표본의 입수 현황 (1997-2001년)

		체장	체중	성별	이석	조직시료	비늘
1997	한국	○	○	○	○		
	미국	○	○	○	○		
	캐나다	○	○	○	○		
	일본	○			○		
1998	한국	○	○	○	○		
	미국				○	○	
	캐나다	○	○	○	○		
	일본	○	○	○	○	○	
1999	한국	○	○	○	○	○	
	미국	○	○	○	○	○	
	캐나다	○	○	○	○	○	
	일본						
2000	한국	○	○	○	○	○	○
	미국	○	○	○	○	○	
	캐나다						
	일본	○	○	○	○	○	
2001	한국	○	○	○	○	○	○
	미국	○	○	○	○	○	○
	캐나다	○	○	○	○	○	○
	일본	○	○	○	○	○	○

## 2. 연어 표본의 체장, 체중 관계

표본의 연도별 변동, 채집 지역별 차이를 살펴보기 위하여 채집된 연어의 체장, 체중을 살펴보았다. 연어의 체장은 약 59cm-73cm 이었으며, 체중은 우리 나라와 일본의 경우 2.5-2.9kg, 미국과 캐나다의 경우 3.7-5.7Kg으로서 태평양 동쪽 연안의 연어와 서쪽 연안의 연어 체중에 커다란 차이가 있었다. 2000년 한국의 양양과 일본의 하코다테 지역에서 채집된 연어의 체중은 4.1kg, 3.8kg으로 높았으나 이는 표본 선정에 있어서의 문제점으로 인식되어 대표치로 고려하지 않았다.

한국 표본에서는 2000년 양양지역에서 채집된 연어를 제외하고는 1997년 64cm, 1998년 63cm, 1999년 66cm로 체장의 차이가 두드러지지 않았다. 2000년에는 한국의 주요 부화장 3곳인 양양 내수면 연구소, 삼척 내수면 개발 사업소, 울진 민물고기 연구소에서 표본이 채집되었다. 각 부화장의 체장, 체중을 살펴보면, 양양 표본이 체장 73cm, 체중 4.1kg으로 삼척의 61cm, 1.9kg, 울진의 6.3cm, 2.2kg 보다 채집된 표본보다 비만도가 월등히 높은 것을 알 수 있다(Table III-3.3).

미국 표본의 경우 1997년의 경우 가량이 체장과 눈에서부터 가량까지 측정(MEFT)하는 2가지 방법이 이용되었으며, 이후에는 MEFT 측정 방법만이 보고되었다. 따라서 다른 채집지역과 체장을 직접 비교하는 것에는 다소 무리가 있다. 그러나 미국 표본도 채집 기간 중에 체장의 변화가 크지 않았다. 1997년 캐나다 연어는 현저하게 체장이 작고, 체중이 높은 것으로 나타났다. 하지만 1998년과 1999년 연어의 비만도는 1997년만큼 높지 않았다.

일본의 연어 채집은 주로 쇼칸베슈 강에서 행해졌는데, 일본 연어의 체장은 1997년에 68cm, 1998년에 63cm, 2000년에 63cm가 보고되었다. 쇼칸베슈 강에 비해 비교적 태평양 쪽에 위치하고 있는 하코다테 지역에서 채집한 2000년의 연어는 약 70cm로 쇼칸베슈 지역에서 채집한 연어보다 체장이 약 7cm 긴 것으로 나타났다. 그러나 위의 결과는 표본 수의 부족으로 홋카이도 동쪽과 서쪽으로 회귀하는 전체 연어 개체군을 대표하는 것으로 생각되지는 않는다.

표본 중에서 안정동위원소 분석을 위해 사용된 개체를 대상으로 연어의 체장, 체중의 관계를 살펴보았다. 대체적으로 미국, 캐나다의 연어가 길이가 길고, 무게가 무거운 것으로 나타났다(MEFT를 고려함). 또한 1997년 캐나다, 1999년 미국 표본을 제외하고는 연도별 체장, 체중의 변동이 일정한 성장식을 따름을 알 수 있었다(Fig. III-3.1, III-3.2).

Table III-3.2 The mean values of the length and the weight of the collected salmon specimens (1997-2000)

표 3. 연도별, 채집지역별 연어 표본의 체장, 체중 평균값  
( )의 숫자는 표준편차를 나타냄. 단위 체장: mm, 체중: kg

		한국			미국	캐나다	일본	
1997	체장	637			729	589	681	
		(53)			(47)		(36)	(36)
		2736			4037	5670		
	체중	(696)			(1139)	(1324)		
1998	체장	625				672	634	
		(51)				(36)	(44)	
		2578				3684	2735	
	체중	(702)				(635)	(579)	
1999	체장	659			661*	734		
		(49)			(27)	(27)		
		3011			4505	4745		
	체중	(713)			(730)	(804)		
2000	체장	양양	삼척	울진	632*		하코다테	쇼칸베슈
		730	605	632			695	629
		(44)	(52)	(57)	(36)	(43)	(62)	
		4059	1878	2248		3791	2858	
	체중	(728)	(542)	(695)		(763)	(792)	

\*는 어류의 눈에서 가랑이까지 측정한 거리(MEFT)를 표시함

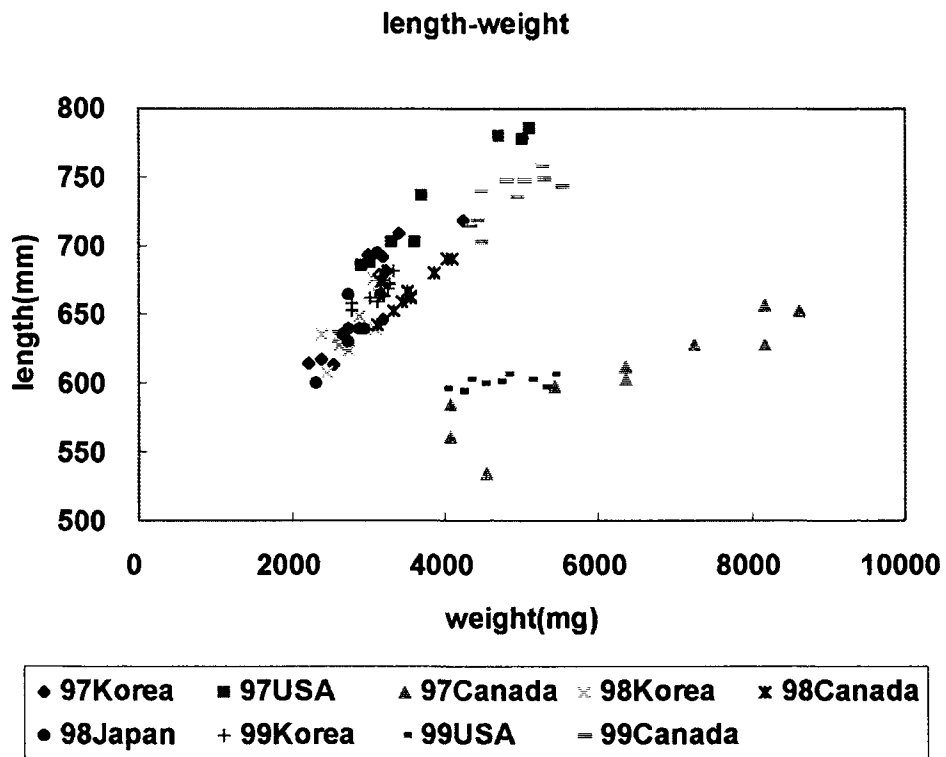


그림 15. 안정동위원소 분석을 위해 사용된 연어 표본의 체장, 체중 관계

Fig. III-3.1. The relationship between the body length and the weight from the salmon specimens used in the stable isotope analysis.



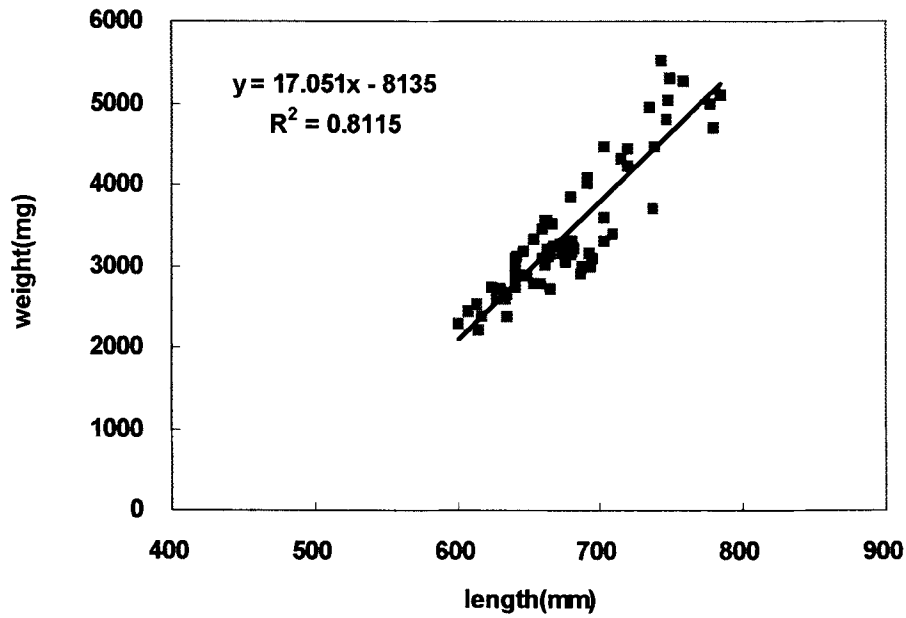


그림 16. 안정동위원소 분석시 사용된 연어 표본의 체장, 체중  
관계식 (1997년 캐나다, 1999년 미국 표본 제외)

Fig. III-3.2. The relationship between the body length and the weight from the salmon specimens used in the stable isotope analysis (except the samples of Canada (1997) and USA (1999)).

## 제 4 절 연어 이석의 안정동위원소 분석

어류의 이석에서 분석된 탄소 및 산소 안정동위원소(stable isotope  $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ )량은 어류의 생활장 환경, 회유 경로와 서식지 파악, 대사율, 먹이 및 먹이 사슬의 조사 등의 연구에 이용되고 있다.  $\delta^{18}\text{O}$ 은 수온의 지시자로 알려져 있으며,  $\delta^{13}\text{C}$ 은 어류 서식환경의 먹이, 생산력을 나타내는 지시자로 이용되고 있다(Kalish, 1991a).

본 연구에서 채집된 연어의 이석을 증류수에 세척한 후, 80℃에서 1-2일 동안 건조하였다. 각 국별로 건조된 이석 중 10개체를 선택하여 미국 미시간대학의 안정동위원소 분석 실험실에서 산소와 탄소 안정동위원소를 분석하였다. 이석을 막자사발에서 갈아 분말로 만든 후, Finnigan MAT 251 질량 분광분석계(triple collector isotope ratio mass spectrometer)를 이용하여 안정동위원소 함량을 측정하였다. 자료는 standard인 VPDB에 대한 천분율(‰)로 나타내어졌으며, 정밀도는 매일 행해지는 다양한 분말 탄산염 standard의 분석을 통해 검증되었다. 측정 오차는 탄소 동위원소와 산소 동위원소에 대해 모두 0.1‰이하였다.

일반적으로 연어 이석의 안정동위원소 함량은 대양에서 연어가 서식하던 해역의 특성을 보유하고 있다. 따라서 채집된 연어 이석에서 산소와 탄소 동위원소 함량을 측정하였다. 1997년, 1998년, 1999년에 채집된 연어 이석에서 아시아산 연어는 북아메리카 산 연어보다 높은 산소동위원소와 낮은 탄소동위원소 값을 보였다 (Fig. III-4.1). Fig. III-4.1에 나타난 것처럼,  $\delta^{18}\text{O}$ 의 함량은 1997년과 1998년 모두 일본, 한국, 미국, 캐나다의 순으로 나타났다. 1999년 시료의 경우 우리 나라 연어의  $\delta^{18}\text{O}$ 의 함량이 미국과 캐나다 연어보다 많은 것으로 나타났다. 1997년에 일본산 연어의  $\delta^{18}\text{O}$ 의 함량은 1.2‰, 캐나다산 연어는 0.34‰로 약 0.86‰의 차를 보였다. 각 국의 자료에서 산소동위원소의 분산은 네 나라의 자료 모두에서 작은 것으로 나타났다(표준편차: 0.23-0.29‰). 1998년에는 산소동위원소 값이 각 국별로 0.97, 0.63, 0.34, 0.13‰의 값을 보였다. 탄소동위원소는 1997년에 4.31에서 5.18‰의 범위를 보였으며, 1998년에는 4.50에서 5.34‰의 범위를 보였다. 1997년 탄소동위원소의 함량 순서는 산소동위원소와 반대로 나타났다 (즉, 캐나다, 미국, 한국, 일본). 그러나 1998년의 평균  $\delta^{13}\text{C}$  값은 다소 다르게 나타났다. 미국의 탄소동위원소 값이 4.50‰로 가장 높았으며, 일본과 한국은 -5.23‰, -5.34‰로 낮게

나타났다. 즉, 일반적으로 아시아산 연어의 탄소동위원소 값이 낮고 북아메리카산이 높게 나타났다. 1999년의 경우 한국 연어의 탄소동위원소 함량이 미국과 캐나다 연어보다 낮았다. 탄소동위원소의 분산은 1997년에 0.31-0.44 %, 1998년에 0.26-0.53 %로 산소동위원소보다 크게 나타났다.

2000년 연어 이석의 산소동위원소도 일본>한국>미국의 순으로 나타났으며, 탄소동위원소는 일본<한국<미국의 순으로 나타났다.  $\delta^{18}\text{O}$  자료를 살펴보면 2000년 표본에서도 다른 조사연도와 마찬가지로 아시아산 계군이 높고, 북아메리카산 계군이 낮게 나타났으며,  $\delta^{13}\text{C}$  값도 북아메리카산이 높고, 아시아산이 낮게 나타났다. 2000년은 다른 조사연도에 비해 산소동위원소의 값이 큰 폭으로 감소하였는데, 특히 미국의 자료는 1997-1999년 평균보다 약 0.55% 감소하였다.

4년에 걸친 안정동위원소 분석 결과, 서태평양산 연어와 동태평양산 연어의 계군이 확실히 구분됨을 확인할 수 있었으며, 한국과 일본의 연어가 캐나다와 미국의 연어보다 수온이 낮고, 생산력이 낮은 환경에서 서식함을 알 수 있다.

각 나라의 연어 시료에서 안정동위원소 함량의 차이는 각 계군의 성장 환경이 서로 다를 수 있다. 이러한 차이는 각 계군을 구분하는 지시자로 쓰일 수 있으며 환경자료와 비교하여 생육장을 파악하는 자료로 쓰일 수 있다.

2000년 우리 나 3개 하천에서 채집된 연어에서의 동위원소 자료를 비교하면, 산소동위원소의 경우 삼척>양양>울진 순으로 나타났으며, 탄소동위원소의 경우 양양<삼척<울진 순으로 나타났다. 각 지역별  $\delta^{18}\text{O}$ 와  $\delta^{13}\text{C}$ 의 평균값은 대체로 비슷하게 나타났다.  $\delta^{18}\text{O}$ 의 값으로 삼척 연어의 서식 수온이 가장 낮고, 울진 연어의 서식 수온이 가장 높은 것을 확인하였으나, 삼척과 양양의 자료는 대부분 중첩되어 통계적인 차이를 확인할 수 없었다 (Fig. III-4.2). 우리 나라 연어의 계군 분리를 위해서는 Micro-drill을 이용한 연령별 조사나 치어시기에 형성된 이석의 동위원소 분석을 통한 방법이 적절할 것이다.

1997

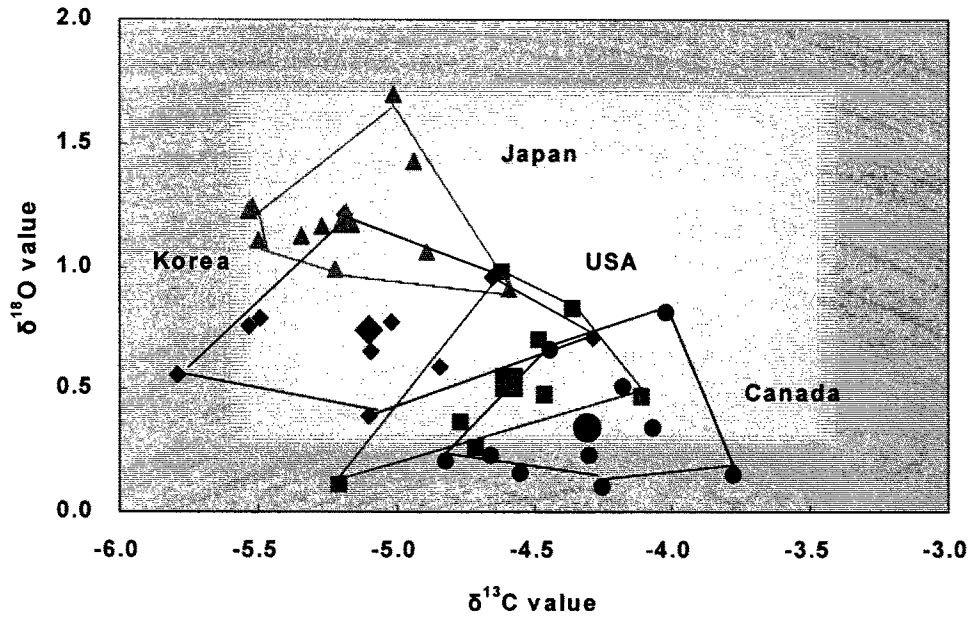
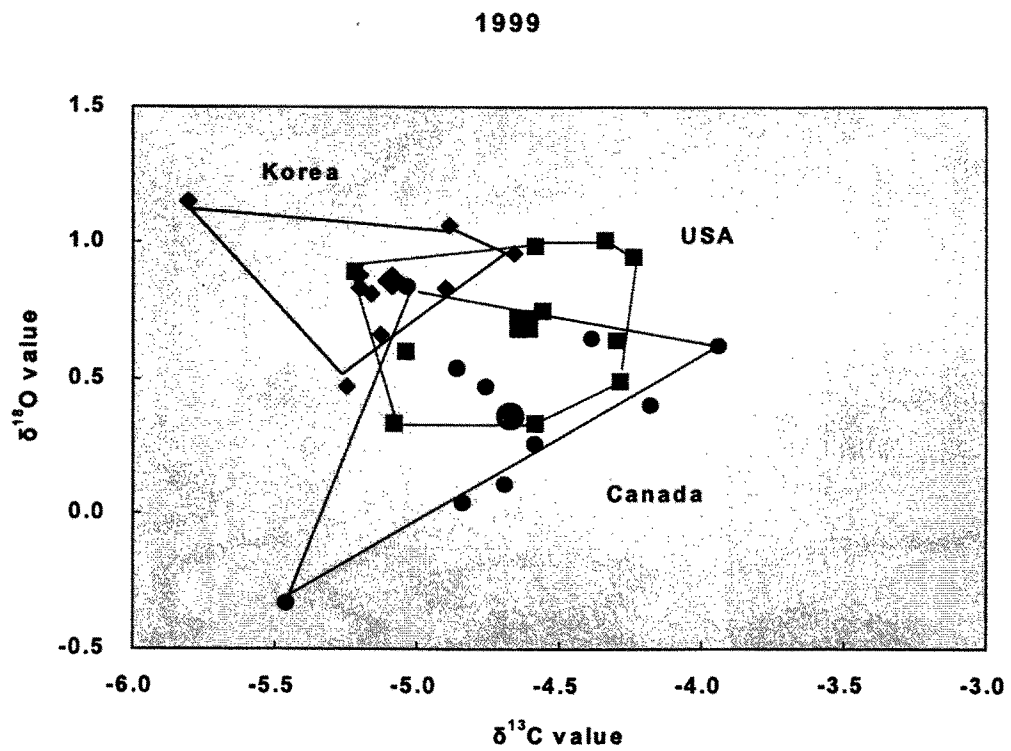
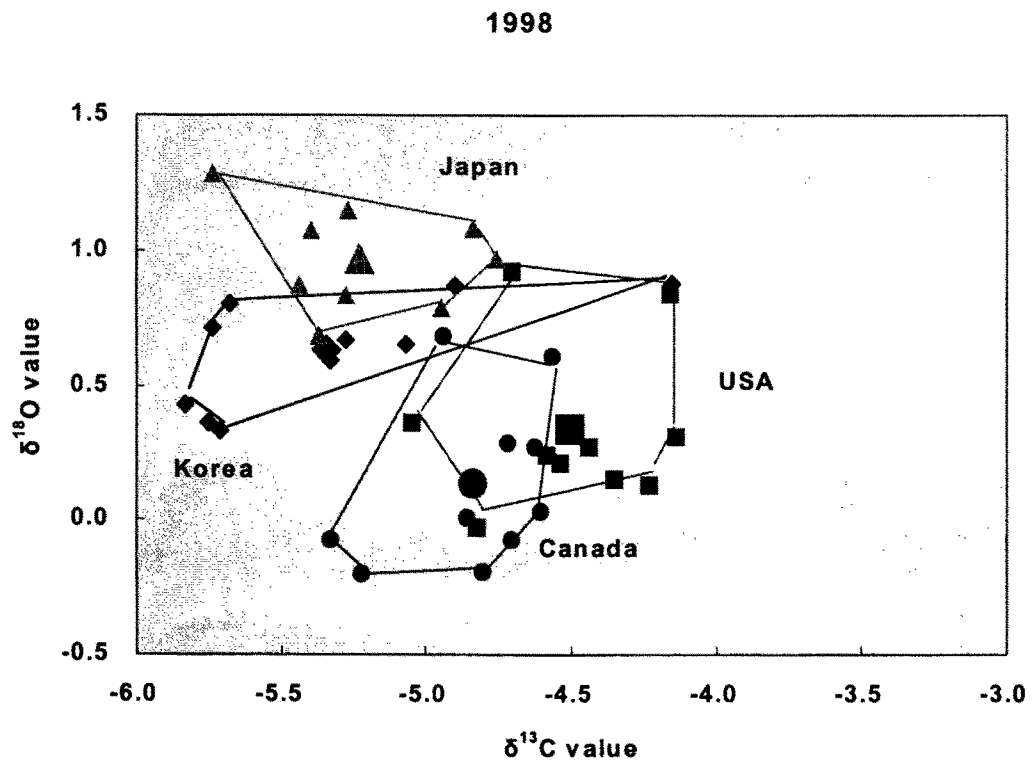
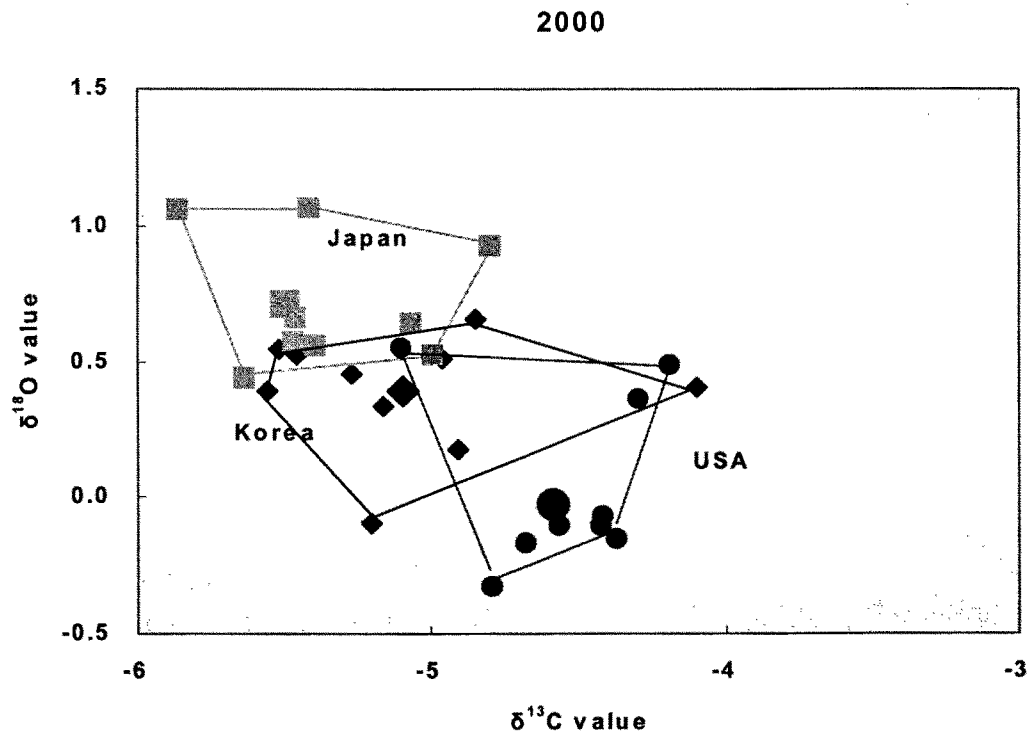


Fig. III-4.1. The values of the stable isotopes,  $\delta^{18}\text{O}$  and  $\delta^{13}\text{C}$ , from the otoliths of salmon samples from Korea, Japan, Canada, and USA (1997, 1998, 1999, 2000).

(Fig. III-4.1, continued)



(Fig. III-4.1, continued)



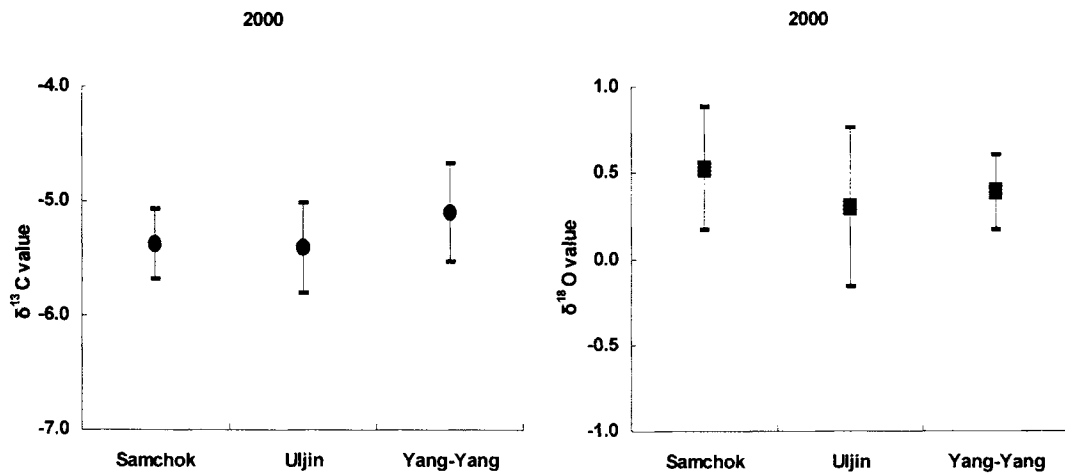


Fig. III-4.2. The values of the stable isotopes,  $\delta^{18}\text{O}$  and  $\delta^{13}\text{C}$ , from the otoliths of salmon samples from three rivers of Korea in which the salmon hatcheries are located (2000).

## 제 5 절 미량 원소 분석

이석은 어류의 귓속에 존재하는 뼈의 일종으로 탄산칼슘( $\text{CaCO}_3$ )으로 형성되어 있으며, 물 속 소리의 진동을 뇌로 전달하고 몸의 균형을 유지하는 역할을 한다. 이석은 알에서 어류가 부화되기 전부터 죽을 때까지 연속적으로 형성되며, 형성 후에도 그 성분이 변하지 않으므로 어류의 전 생애에 대한 모든 정보를 저장하고 있는 마이크로칩과 같은 역할을 한다. 어류의 내이에는 lapillus, sagitta, asteriscus라고 불리는 3쌍의 이석이 존재하는데, 보통 sagitta를 연구에 이용하고 있다.

이석을 연마한 후, 단면을 현미경에서 관찰하면 나무의 나이테처럼 둥근 띠를 관찰할 수 있는데, 이를 이용해 어류의 나이(연령)를 측정할 수 있다. 이석의 중앙 부분은 '핵(nucleus, core, primordia)'이라 부르며, 연령 측정시에는 핵에서부터 가장자리로 쪽으로 형성된 띠를 헤아린다.

수산자원의 효율적이고 체계적인 관리를 위해서는 어류의 정확한 나이를 파악하는 것은 매우 중요하다. 이석을 이용한 연령 측정 연구는 1800년대 후반에 시작되어 지금까지도 꾸준히 진행되고 있으므로, 어류 생물학 연구에 있어 이석이 차지하는 중요성을 미루어 짐작할 수 있다.

이석은 주로 칼슘, 탄소, 산소로 구성되어 있으며, 제 2구성물질은 나트륨, 스트론튬, 칼륨, 황, 질소 염소, 인이며, 붕소, 철, 은, 망간, 바륨 등의 미량원소와 방사능동위원소가 있다. 최근에는 이석 내 화학성분 분석을 통해 어류의 생활사와, 연령, 군집분석, natural tag로 이용하는 otolith chemistry연구가 각광을 받고 있다(Campana et al. 1999). Otolith chemistry 분야의 연구는 1980년까지 세계 주요 논문에 단지 6편만이 게재되었으나, 1998년까지 급격하게 증가하여 157편의 논문이 보고되었다 (Campana, 1999).

앞 절에서 분석한 안정동위원소를 이용한 어류 이석의 연령별 분석 방법은 현재까지 정착되지 않았으므로, Laser ablation ICPMS를 이용하여 연어의 이석 중에 함유되어 있는 미량원소의 양을 연령별, 계절별로 조사하였다(Fig. III-5.1). 이를 통해 연령별 이석 내 미량원소의 함량과 연어 서식지의 비교 분석을 시도하였다. 분석은 캐나다 Victoria 대학에서 laser ablation 분석방법을 이용하여 시도되었으며, 이석의 주요 원소인 Ca과 미량원소(Mn, Zn, Sr)를 분석하였다.



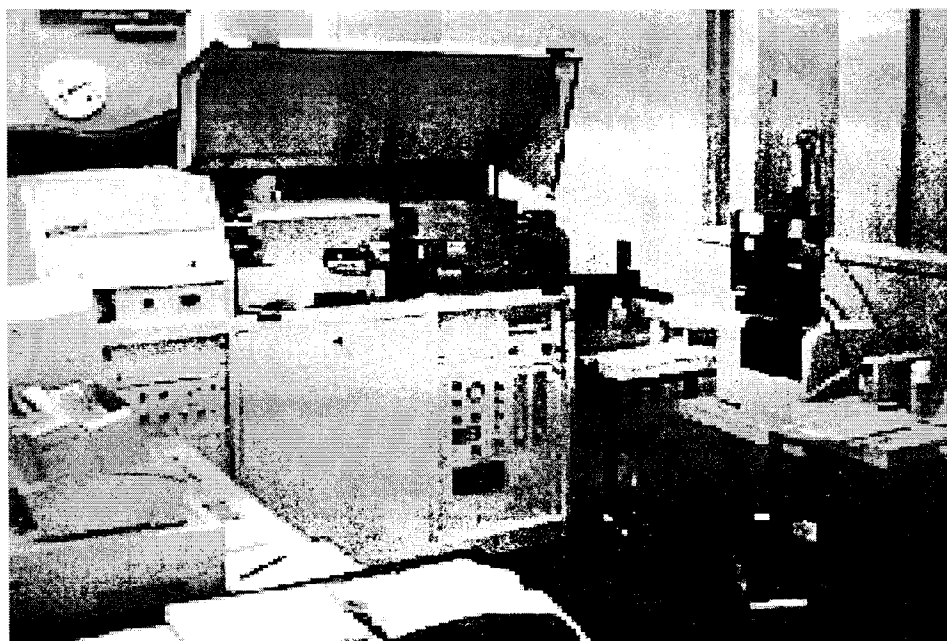


Fig. III-5.1. The photograph of LA-ICPMS used in the analysis of trace elements (Canada, Univ. of Victoria)

염분의 지시자로 알려진 Sr/Ca의 비는 연어의 담수 생활사 시기에는 낮고, 해수 생활 시기에는 높은 값을 보였다 (Fig. III-5.2). 해수 생활 시기에 Sr과 Zn의 농도는 연륜 형성 시기에 높게 나타났으며, 연륜과 일치하여 진동하였는데, 이는 현미경에서 찍은 이석 사진과 미량원소의 농도를 통해 확인 가능하였다. 또한 연어가 바다로 이동한 후에는 이석 내 Sr/Ca의 비는 Zn/Ca의 비와 서로 반대로 진동하였으며, 아연의 진동 현상은 어류의 연령이 증가함에 따라 줄어들었다. 캐나다의 표본 중 일부는 Sr/Ca의 비를 토대로 담수, 혼합역, 해수의 환경으로 구분해 낼 수 있었는데, 이는 방류된 연어들이 담수와 해수가 혼합되는 Georgia 해협과 담수의 유입이 있는 알래스카의 연안을 따라 회유하다가 Alaskan stream을 따라 회유하는 것으로 이해되어진다. 이는 Healey(2000)의 태평양 연어 회유 경로와 일치함을 알 수 있다.

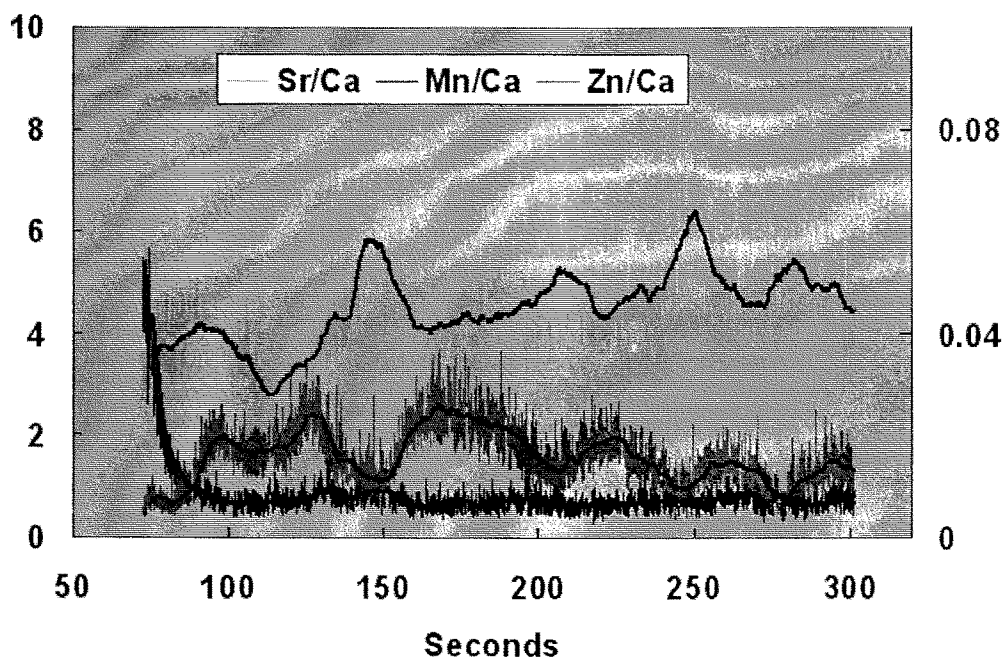


Fig. III-5.2. The profiles of trace elements, Sr/Ca, Mn/Ca and Zn/Ca in the salmon otoliths.

## 제 6 절 우리 나라 방류 연어의 회유경로 모델

어류의 이석에 함유된 산소 안정동위원소의 ( $\delta^{18}\text{O}$ ) 함량이 서식 환경의 수온 지시자로 사용될 수 있다는 사실에 근거하여, 본 연구에서 분석된 각 연어 집단의 안정동위원소 함량을 북태평양 각 지역의 수온과 비교하면 우리 나라 방류 연어의 회유경로를 유추할 수 있다. 일반적으로 연어 이석의 안정동위원소 함량은 대양에서 연어가 서식하던 해역의 특성을 나타낸다고 알려져 있다. 1997년, 1998년, 1999년에 채집된 연어 이석에서 아시아산 연어는 북아메리카 산 연어보다 높은 산소동위원소 값을 보였다 (Fig. III-4.1). Fig. III-4.1에 나타난 것처럼,  $\delta^{18}\text{O}$ 의 함량은 1997년과 1998년 모두 일본>한국>미국>캐나다의 순으로 나타났으며, 1999년 시료의 경우도 우리 나라 연어의  $\delta^{18}\text{O}$ 의 함량이 미국과 캐나다 연어보다 많은 것으로 나타났다. 또한, 2000년 시료의 경우도 일본>한국>미국의 순으로 나타났다. 이러한 결과는 한국과 일본의 연어가 미국과 캐나다의 연어 계군과 서식해역이 확실히 구분되며, 한국과 일본의 연어가 캐나다와 미국의 연어보다 수온이 낮은 해역에 서식함을 보여준다.

북태평양의 각 해역의 해수 온도를 분석한 결과는 북서태평양과 베링해의 평균 수온이 5-7°C 내외로 가장 낮았으며, 중부태평양의 수온은 8-10°C, 동부태평양은 11-12°C로 나타났다. 즉, 북태평양에서는 서쪽 해역의 온도가 동쪽해역의 온도보다 낮은 것으로 나타났으며 이러한 동-서간 온도 분포는 연어가 서부태평양에서 더욱 남쪽까지 분포하는 사실과 잘 일치한다. 오호츠크해의 온도는 7-8°C로서 서부태평양과 베링해보다는 높고 중부와 동부 태평양보다는 낮았다. 우리 나라 동해는 가장 온도가 높아 14-15°C의 분포를 보였다.

연어 이석의 산소 동위원소의 함량  $\delta^{18}\text{O}$ 를 서식환경의 수온과 비교하면 우리 나라에서 방류한 연어의 회유경로에 대한 가설을 검증할 수 있을 것이다. 먼저, 첫 번째 가설, 우리 나라에서 방류된 연어가 동해 내에 머물다 돌아올 수 있다는 가능성은 쉽게 기각된다. 우리 나라 연어의 산소 동위원소 함량이 미국과 캐나다 연어보다 높다는 것은 상대적으로 낮은 수온 환경에서 성장함을 의미한다. 그런데, 동해의 수온은 중앙태평양이나 북동태평양보다 높기 때문에 우리 나라 연어는 해수 온도가 낮은 동해 이외의 다른 해역에서 성장한다고 볼 수 있다. 두 번째 가설, 우리

나라 연어가 오호츠크해에 머물다 돌아올 수 있다는 가능성은 산소 동위원소 함량 결과와 수온 자료가 일치한다. 세 번째 가설, 우리 나라 연어가 북태평양 전지역을 돌아 회유한다는 기존 가설은 다소 무리가 있으며 수정해야 할 것이다. 우리 나라 연어의 산소 동위원소 함량은 일본 연어와 유사하며 미국과 캐나다 연어와는 뚜렷이 구분된다. 이것은 우리 나라 연어의 생육장이 동태평양 연어의 생육장과 구별된다는 것이며 보다 낮은 수온의 해역에서 성장함을 나타낸다. 따라서, 우리 나라 연어가 북태평양에 진출한다면 이들은 주로 온도가 낮은 북서태평양과 베링해 해역에 머물다가 돌아온다고 유추할 수 있다.

한편, 우리 나라 연어가 오호츠크해나 북태평양으로 나가는 길목은 타타르해협, 쏘야해협, 쓰가루해협에 국한된다. 그런데, 쓰가루해협은 주로 대마난류가 동해를 거쳐 북태평양으로 빠져나가는 길목으로서 수온이 일반적으로 높다. 냉수성 어종인 연어가 난류에 편승하여 이동한다고 보는 것을 다소 무리가 있을 것이다. 따라서, 본 연구의 결과에 근거하는 우리 나라에서 방류된 연어의 회유경로는 다음과 같이 요약된다: 동해 - 타타르해협/쏘야해협 - 오호츠크해 - 북서태평양/베링해 (Fig. III-6.1). 본 연구에서 제시하는 가설은 1) 우리 나라 연어가 중부태평양과 동부태평양에 거의 진출하지 않는다는 점, 2) 쓰가루해협을 지나지 않고 주로 쏘야해협과 타타르해협을 지날 것이라는 점에서 우리 나라에서 통용되어온 기존의 가설과 다르다고 할 수 있다.

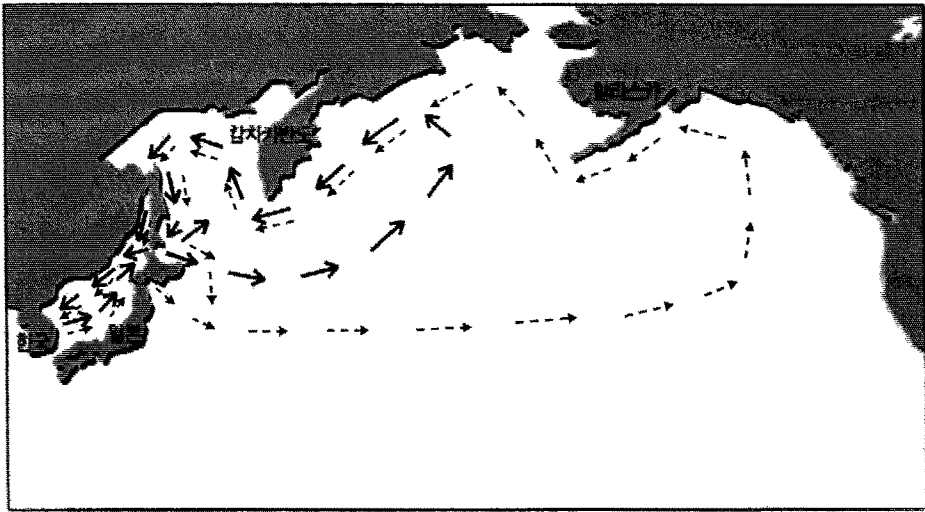


Fig. III-6.1. A new proposal for the migration route of the Korea-released chum salmons (the red solid arrows; the broken blue arrows, the old traditional proposal)

여 백

## 제 7 절 연어의 유전자 분석과 계군의 구별

### 1. 서론

한국 동해안의 가장 대표적인 연어과 어류가 연어 (*Oncorhynchus keta*)이다. 연어는 북태평양과 베링해, 오호츠크해 및 이들 바다로 유입되는 하천에 널리 분포한다 (Myoung and Park, 1992). 한국을 비롯한 북태평양 연안국들 (미국, 일본, 러시아, 캐나다 등)은 연어자원을 증대시키기 위해 연어 치어를 인공적으로 생산하여 하천에 방류한다. 각 나라에서 방류된 연어 집단은 일생 동안 일정한 경로를 따라 북태평양과 주변 해역을 회유한다. 그런데, 회유경로가 집단간에 서로 겹치며 인접국의 배타적 경제수역을 지나게 되는 경우가 많다. 미국, 캐나다, 일본, 러시아는 1993년 북태평양 소하성 어류위원회 (NPAFC)를 설립하여 연어자원에 대한 국가 간 이해가 상충될 경우에 대비하고 있으며, 연어자원의 효율적 관리와 합리적인 이용방안을 마련해 오고 있다.

연어 계군에 대한 분석과 이를 구분할 수 있는 표지가 연어 치어를 생산, 방류하는 북태평양 각국의 권리를 보장하고, 연어 자원을 효율적으로 관리하는데 필요하다고 생각되어 이에 대한 많은 연구가 수행되고 있다. 최근 연어과 어류의 계군을 분석하는데 유전자를 이용하는 다양한 방법들이 시도되고 있다. 처음에는 효소단백질의 대립형질을 이용하는 동위효소분석법이 적용되었고(O'connell et al., 1996), 마이크로새틀라이트 DNA의 염기배열이 계군 분석에 유용한 표지임이 알려지면서 (Wright and Bentzen, 1994; Jarne and Lagoda, 1996) 이를 이용하는 방법들이 대서양 연어(McConnell et al., 1995), sockeye 연어 (Nelson et al., 1998), 송어 (Beacham et al., 2000) 등을 대상으로 시도되었다. 한편, 미토콘드리아 유전자는 염기배열의 변화가 핵 내 유전자보다 약 10배나 빠르고 (Brown et al., 1979) 모든 진핵생물에 상동유전자가 존재하는 장점이 있어 종과 계군을 구분하고 그들간의 상관관계를 분석하는데 좋은 지시자가 되는 것으로 알려져 있다 (Avisé, 1994). 미토콘드리아 유전자는 연어과 어류의 중간 상관관계를 밝히는데 이용되어 왔으며 (Domanico and Phillips, 1995; Kitano et al., 1997; Domanico et al., 1997), sockeye 연어의 계군을 밝히는데도 이용되었다 (Allendorf and Seeb, 2000). Sunnucks (2000)는 미토콘드리아 유전자의 하나인 ND3이 변이 속도가 빨라 종간의 상관관계 분석뿐만 아니라 계군 분석과 생물지리학적 연구에 적합한 지시자임을 제시하였다. 우리 나라에서는 한국산 연어의 유전적 표지를 개발하기 위한 생화학적 연구 (Hong et al., 1994), 집단유전학에 대한 연구 (Seong, 1999), 미토콘드리아 리보솜 RNA를 이용한 연어과의 계통진화에 대한 연구 (Lee et al., 2000) 등이 수행



되었다. 그러나, 아직 우리 나라 언어를 북태평양 주변국의 언어와 구분할 수 있는 유전적 표지가 확립되지 않았으며 집단간의 유전적 관계 역시 명확히 설정되지 않았다.

본 연구는 한국, 일본, 미국에서 방류되는 언어집단의 유전적 차이 유무를 밝히고, 이를 구분하는 표지를 확립할 목적으로 수행되었다. 이를 위하여 언어와 진화적으로 가까운 곱사 언어 (Domanico and Phillips, 1995)에서 알려진 마이크로새틀라이트 DNA Ogo5 (Olsen et al., 1998)와 미토콘드리아 유전자 중 변화율이 특히 높은 것으로 알려진 ND3 (Jacobs et al., 1988; Sunnucks, 2000)과 그 주변 지역 COIII와 ND4L 말단의 염기배열을 분석하여 한국, 일본, 미국의 언어 시료간 서로 비교하였다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 시료 채집

한국 언어는 동해안에 위치한 양양의 남대천에서, 일본 언어는 홋카이도 서쪽 연안에 위치한 Mashike의 Shokanbetsu강에서, 미국 언어는 북태평양 동안에 위치한 워싱턴주 소재 Quilcene에서 채집하였다. 이들 지역은 각 나라에서 언어의 회유량이 비교적 많은 대표적인 언어 산지이다. 언어의 유전자 분석에 간 (liver) 조직을 이용하였다. 간 조직은 채취 후 100% 에탄올에 고정하거나 냉동 보관하여 실험실로 운반하였다.

### 나. 게놈 DNA의 분리와 대상 유전자의 증폭

언어의 게놈 DNA를 분리하기 위해 Blood and Cell culture DNA Midi Kit (Qiagen, Germany)를 사용하였다. 냉동된 간 시료는 바로 DNA 분리에 사용하였고, 에탄올에 고정된 시료는 사용 전 3차 증류수로 여러 차례 씻은 후 사용하였다. 시료에서 약 70 mg을 떼어 내 DNA 분리 kit가 제시하는 방법에 따라 실험을 진행시켜 게놈 DNA를 분리하였다. 분리된 게놈 DNA는 0.8% 아가로스 젤에 전기영동하여 추출된 상태를 확인하였으며, 260 nm에서 흡광도를 측정하여 그 농도를 결정하였다.

추출된 게놈 DNA를 사용하여 마이크로새틀라이트 DNA Ogo5를 중합효소연쇄반응 (PCR)으로 선택적으로 증폭하였다. Ogo5 증폭에 사용된 프라이머는 Olsen et al. (1998)이 곱사언어에서 밝힌 것을 그대로 사용하였다 (Ogo5F: GGTTTGACATTTAAGGCGGA, Ogo5R:GGGTGTTCAAGCTCACTGCT). COIII-ND3-ND4L 유전자 증폭에는 이 유전자의 양쪽에 위치한 COIII과 ND4L 유전자 말단의 염기배열에 맞는 프라이머(Domanico and Phillips, 1995; COIII: TTACAATCGCTGACGGCG, ND4L:GGTGCGGTG

AAACGCGAGTC)를 이용하였다.

PCR 반응용액은 5 uL 10xPCR buffer (Qiagen), 2.5 uL 10 mM each dNTPs, 2.5 uL 10 pmole 프라이머 (앞쪽과 뒤쪽), 0.5-1.0 µg DNA, 2.5 unit Hotstar Taq polymerase (Qiagen)를 혼합하여 전체 50 uL을 만들었다. PCR 반응과정과 시간, 온도 조건은 다음과 같다: 초기 활성화 (95°C, 15분); 35회 반복 과정의 denaturation (95°C, 1분), annealing (50°C, 1분), extension (72°C, 1분); 최종 반응 (72°C, 10분); 보관 (4°C). PCR 반응기로서 GeneAmp PCR System 2400 (Perkin Elmer) 또는 TGradient Thermocycler (Whatman, Biometra)를 사용하였다. PCR이 끝난 후 반응용액 8 uL를 0.8% 아가로스 젤에 전기영동하여 증폭된 DNA의 크기를 확인하였다.

#### 다. 염기배열 결정과 분석

PCR로 증폭된 DNA는 대립유전자가 2개 이상인 Ogo5의 경우 TOPO TA cloning kit (Invitrogen)를 사용하여 클로닝하였고, 대립유전자가 1개인 COIII-ND3-ND4L의 경우 PCR 산물을 정제하여 바로 염기배열을 결정하였다. 클로닝 과정은 제품에서 제시한 실험과정을 따라 진행하였으며, PCR 산물을 pCRII-TOPO vector에 연결하고 *E. coli* 내로 이전시켰다. PCR 산물이 들어가 흰색이나 옅은 청색으로 자라는 콜로니를 선택하여 M13F (TGTAACGACGGCCAGT)와 M13R (CAGGAAACAGCTATGACCATG) 프라이머를 사용하여 삽입된 DNA를 PCR로 증폭하였다. PCR이 끝난 후 반응용액 8 uL를 0.8% 아가로스 젤에 전기영동하여 예상하는 크기의 DNA가 증폭되었는지를 판단하였다. 예상하는 크기로 증폭된 DNA는 QIAquick PCR purification kit (Qiagen)를 이용하여 정제하고, Dye-terminator와 T7 (TAATACGACTCACTATAGGG) 혹은 Sp6 (ATTTAGGTCACACTATAG) 프라이머를 사용하여 염기배열 결정 PCR 반응을 진행시켰다. COIII-ND3-ND4L의 PCR 반응은 처음 이 유전자를 증폭하기 위해 사용하였던 COIII와 ND4L 프라이머를 사용하여 실시하였다. 이후 PCR 반응산물인 DNA를 알콜침전법으로 정제하고, Automated DNA sequencer 377 (Applied Biosystems)로 전기영동하여 염기배열을 결정하였다. 결정된 염기배열은 MacVector 프로그램 내의 Clustal W (version 6.5.3, Oxford Molecular)를 사용하여 개체간 서로 비교하였다. 염기배열의 차이에 근거하여 개체간, 집단간의 유전적 관계를 TCS 프로그램 (ver. 1.13; Clement et al., 2000)을 이용하여 분석하였다.

### 3. 결과 및 고찰

#### 가. 한국, 일본, 미국 연어의 마이크로세틀라이트 DNA Ogo5 염기배열과 대립유전자 빈도

연어의 간 조직에서 추출된 게놈 DNA를 이용하여 마이크로세틀라이트 DNA를 PCR 반응으로 증폭한 결과, Ogo5 프라이머에 의해 약 200 bp의 DNA가 증폭되었다 (Fig. III-7.1). Ogo5는 한국 연어 12개체, 일본 연어 8개체, 미국 연어 10개체에서 모두 4개의 대립유전자 염기배열이 나타났다: allele A, 183bp; allele B-1, 180bp; allele B-2, 182bp; allele B-3, 183bp (Fig. III-7.2). 각 대립유전자는 GT 반복구조의 수와 주변 염기서열이 서로 달랐다. 한국과 일본연어는 주로 allele A와 allele B-1의 이형접합체(heterozygote)이었으며, 미국 연어는 allele A와 allele B-1의 이형접합체 외에 allele A의 동형접합체(homozygote)가 많았다 (Table III-7.1). 한국 연어 세 개체는 allele B-3 대립유전자를 갖는 것으로 나타나 일본 연어와 구분되는 특징을 보였다.

Ogo5의 대립유전자 빈도에 따른 이형접합도 지수(heterozygosity index, Ho/He ratio; Ho, observed; He, expected heterozygosity)는 한국과 일본 연어의 경우 각각 1.61과 1.63으로 유사하였으나, 미국 연어의 경우 1.09로 나타났다 (Table III-7.2). 이것은 미국 연어 집단이 Hardy-Weinberg 평형에 있으나 한국과 일본 연어 집단은 이 평형에서 다소 벗어나 이형접합체 개체가 많음을 시사한다. 한국과 일본 연어 집단에서 높은 이형접합도 지수가 보이는 것은 두 나라에서 상대적으로 높은 비중을 차지하는 인공종묘생산의 영향일 것으로 생각된다. 인공종묘생산은 그 과정의 특성상 자손을 번식시키는 성체의 수가 적어 유효 집단의 크기 (effective population size)를 작게 한다. 이에 따라, 연어집단은 유전적 병목현상 (bottleneck event)을 겪게된다. 병목현상을 겪는 집단에서는 대립유전자 다양성의 감소가 이형접합도의 감소보다 빠르게 일어나게 되어 (Nei et al., 1975), 다시 평형에 이르기 전까지 기대 이형접합도가 관찰 이형접합도보다 낮게되는 이형접합도 지수의 상승이 나타난다 (Cornuet and Luikart, 1996). 한국과 일본의 인공종묘생산은 매년 계속되므로 두 나라 연어 집단은 지속적인 병목현상을 겪고 있다고 볼 수 있다. 미국 연어의 경우 인공생산보다 자연생산이 집단 크기에 기여하는 바가 더 클 것으로 추정된다.

한편, 한국과 일본 연어에서 공통적으로 allele A와 allele B-1의 이형접합체가 높은 비율로 나타난 것은 두 연어집단의 유전적 상관관계가 밀접함을 시사한다. Taylor et al. (1994)은 minisatellite DNA를 이용하여 북태평양 연어를 일본 계군, 러시아·유콘강 계군, 남동 알래스카·캐나다 British Columbia 계군으로 구분하였다. Utter et al. (1980)은 동위효소의 변

이에 근거하여 연어를 아시아 계군 (일본, 러시아), 알래스카 계군, 북미 계군으로 구분하였다. 본 연구 결과는 한국 연어가 지리적으로 가까운 일본 연어와 함께 아시아 계군에 속할 가능성을 제시해 준다.

#### 나. 연어의 COIII-ND3-ND4L 염기배열과 계군 분석

한국 연어 20개체, 일본 연어 20개체, 미국 연어 20개체에서 미토콘드리아 COIII-ND3-ND4L 유전자의 염기배열을 분석하였다. Domanico and Phillips (1995)가 이용한 COIII와 ND4L 프라이머를 사용하여 PCR을 진행시켜 약 780bp 크기의 DNA 단편을 선택적으로 증폭하였다 (Fig. III-7.3). 이 PCR 산물을 정제하고 바로 염기배열을 결정하여 프라이머를 제외한 744bp의 염기배열을 모든 개체에서 확인하였다 (Fig. III-7.4). 첫 번째 염기에서 273번째까지는 COIII 유전자의 3'쪽 말단이고, 274-624 염기배열은 ND3 유전자이며, 625-744 염기배열은 ND4L 유전자의 5'쪽 단편이다.

COIII-ND3-ND4L 염기배열은 분석한 연어 60개체에서 전체 염기가 삽입이나 결실 이 없이 잘 보존되었다. 단일염기 다형성(SNP, single nucleotide polymorphism)은 모두 20개의 위치에서 발견되었으며, SNP에 의해 서로 다른 염기배열을 갖는 haplotype이 17 종류가 구분되었다. 단일염기 다형성이 발견된 20개의 위치 중 13개가 한 개체에서만 발견되는 개체 특이적 변이 (singleton)였고, 7개는 두 개체 이상에서 공통적으로 발견되는 집단 특이적 염기변이었다 (Fig. III-7.5). 한국 연어는 246번째 염기가 두 개체에서 아데닌 (A)이었고, 307번째 염기가 다섯 개체에서 시토신 (C)이었다. 일본 연어는 393번째 염기가 세 개체에서 구아닌 (G)이었다. 한국과 일본 연어에 비해 특징적인 염기가 미국 연어에서 일관되게 관찰되었다. 미국 연어는 57번째, 534번째, 591번째 염기가 조사한 20 개체 모두에서 시토신 (G), 구아닌 (G), 구아닌 (G)이었으나 한국과 일본 연어는 이 세 위치에서 각각 3~6개체만 미국 연어와 동일한 염기를 갖고 나머지 개체는 티민 (T), 아데닌 (A), 아데닌 (A)을 갖고 있었다. 특히, 미국 연어는 20 개체 중 17 개체가 303번째 염기로 티민 (T; 나머지 세 개체는 시토신, C)을 갖고 있어 조사한 모든 개체가 시토신 (C)을 갖고 있는 한국과 일본 연어 (시토신, C)와 분명히 구분되었다. 이와 같은 COIII-ND3-ND4L의 단일염기 다형성 패턴은 한국과 일본 연어가 유전적으로 가까운 집단이며, 미국 연어는 상대적으로 먼 유전적 집단을 시사한다. Choi (2002)와 Choi et al. (2003)은 한국, 일본, 미국 연어 3~4개체의 COIII-ND3-ND4L을 분석하여 McKay et al. (1996)이 밝힌 염기배열과 차이가 있는 단일염기 다형성을 보고한 바 있다.

연어의 COIII-ND3-ND4L 염기배열을 이용하여 TCS 분석 (Clement et al., 2000)을 실시한 결과 한국 연어는 유전적 형질이 일본 연어와 유사하며, 이들은 미국 연어와 뚜렷이 구분되었다 (Fig. III-7.6). 즉, 한국, 일본, 미국의 연어가 COIII-ND3-ND4L 유전 형질에 따라 한국과 일본 계군, 미국 계군으로 구분됨을 보여준다. 한국과 일본 연어는 50% 이상 (한국 연어 10개체, 일본 연어 11개체)이 동일한 염기배열을 갖으며 같은 haplotype에 속하였다. 반면, 한국과 일본, 미국 연어에서 동일한 염기배열을 갖는 개체는 각각 1개체, 3개체, 3개체에 불과하였다 (전체의 5-15%). 한국과 일본 연어 사이에 유전적 유사성이 높은 것은 1) 두 계군이 분리된 시기가 지금부터 그다지 오래되지 않아 변이가 축적될 시간이 충분치 않았을 가능성, 2) 두 나라 연어 사이에 지금도 지속적인 개체의 이동 (migration)이 일어나고 있을 가능성, 3) 1985-1986년에 일본으로부터 100만 마리 이상의 인공종묘 (발아난)를 도입하여 양양 남대천에 방류함으로써 인위적인 유전자 교환이 일어났을 가능성 등으로 설명될 수 있다. 한편, 한국과 일본, 미국 연어의 5-15%가 동일한 haplotype을 갖는 것은 두 계군 사이의 유전자 교환이 매우 적음을 시사한다. COIII-ND3-ND4L 염기배열에서 보여지는 연어의 유전적 계군 구분은 마이크로새틀라이트 DNA Ogo5의 이형접합도 지수가 한국과 일본 연어가 서로 유사하고 (약 1.6), 미국 연어가 크게 다른 (약 1.1) 결과 (Table III-7.2)와 부합된다. COIII-ND3-ND4L에 의한 연어 계군 구분은 minisatellite DNA에 근거한 Taylor et al. (1994)의 구분 (일본 계군, 러시아·유콘강 계군, 남동 알래스카·캐나다 British Columbia 계군)과 동위효소를 이용한 Utter et al. (1980)의 구분 (아시아(일본·러시아)계군, 알래스카계군, 북미 (BC and Puget Sound)계군)과도 부합되는 결과이다.

한국 연어는 대다수가 일본 연어와 하나의 유전적 계군을 이루지만 약 45%는 유전적으로 독특한 특징을 갖는다. 한국 연어 20개체 중 5개체는 한국/일본 계군과 미국 계군의 중간적인 특징을 갖고 있으나, COIII-ND3-ND4L 염기배열에서 307번째 염기로 시토신 (다른 개체들은 아데닌)을 갖음으로 해서 일본과 미국 어느 연어와도 구분된다. 그 외 한국 연어 2개체는 246번째 염기로 아데닌을 갖고 있어 다른 연어들과 구분되며, 또 다른 2개체는 개체 특이적인 변이 (singleton)를 갖고 있어 구분된다. 이는 한국 연어 집단이 유전적으로 비교적 다양하게 구성되어 있으며, 그 45%는 일본 연어와 구분되는 독특한 계통에서 유래한 집단일 가능성을 시사한다.

일본 연어 20개체의 구성은 한국 연어와 동일한 염기배열을 갖는 11 개체 (55%), 이와 유사하나 개체 특이적 변이를 갖는 세 개체, 미국 연어 일부와 동일한 염기배열을 갖는 세 개체 (15%), 이와 비슷하나 개체 특이적 변이를 갖는 3개체로 이루어져 있다 (모두 8 종류의

haplotype). 일본 연어의 유전적 구성 역시 비교적 다양하게 나타났다. 미국 연어 20개체는 5 종류의 haplotype으로 구성되었다. 20개체 중 14개체가 단 하나의 haplotype에 속하며, 또 다른 3개체는 앞의 haplotype에서 한 개의 염기가 치환된 염기배열을 갖는다. 나머지 세 개체 역시 주요 haplotype에서 한 두 개의 개체 특이적 변이 (singleton)만을 갖는 독립된 염기배열을 보인다. 본 연구에서 분석된 결과로만 볼 때, 미국 연어는 유전적 구성이 비교적 단순하다고 볼 수 있다.

한국, 일본, 미국 연어가 미토콘드리아 유전자 COIII-ND3-ND4L의 염기배열에 따라 한국/일본 계군과 미국 계군으로 크게 나뉘는 것은 북태평양 소하성 어류의 기원에 대한 McPhail and Lindsey (1970, 1986) 가설을 지지한다. 이들은 현생 북태평양 소하성 어류 집단이 지금부터 약 18,000년 전 Wisconsin 빙하기에 북태평양 생물의 피한지 (refugia)였던 북쪽의 베링해 (Beringia), 서쪽의 오호츠크해, 동쪽의 Cascadia에서 각각 기원하였다고 주장한다. 본 연구에서 밝혀진 연어의 계군 구조를 이 가설에 대비해 보면, 한국과 일본 연어는 오호츠크해 피한지 연어의 후손이며 미국 연어는 Cascadia 피한지 연어의 후손으로 추론할 수 있다. 본 연구에서 COIII-ND3-ND4L의 염기배열은 연어 집단간의 유전적 상관관계를 보여줄 뿐만 아니라, 각 계군과 haplotype을 구분할 수 있는 명백한 기준 (독특한 DNA 염기배열 형질)을 제시하는 좋은 유전자 마커 (genetic marker)임이 드러났다. 비록, 한국 연어가 일본 연어와 유전적으로 유사하고 같은 계군에 속한다고 하더라도 조사된 약 45% 개체가 독특한 COIII-ND3-ND4L 염기배열을 갖고 있으므로, 이 유전자는 한국의 독특한 개체군을 일본 연어와 구분할 수 있는 표지로서 매우 유용하다.

COIII-ND3-ND4L 유전자에 대한 분석을 확대하여 모두 125개의 시료 (한국, 32; 일본, 44; 미국, 20; 캐나다, 29)에서 염기서열을 얻었다 (Appendix III-7.1). 이들 사이의 유전적 관계를 분석한 결과, 역시 한국과 일본 연어는 많은 시료가 동일한 염기서열을 갖는 유전적으로 매우 가까운 계군이며 미국과 캐나다 연어가 서로 가까운 관계임이 드러났다. 한편, 캐나다 연어에서는 다양한 haplotype이 존재하는 특징을 보였다 (Appendix III-7.2). 각 집단간의 이동율(migration rate)을 MIGRATE라는 컴퓨터 프로그램을 이용하여 조사한 결과, 한국 연어에서 일본 연어 집단으로의 이동과 미국 연어에서 캐나다 연어 집단으로의 이동이 관찰되었다. 또한, 캐나다 연어에서 일본연어로의 이동도 미약하나마 발생하고 있음이 드러났다 (Appendix III-7.3).

Table III-7.1. The genotype of each chum salmon (*Oncorhynchus keta*) individual for the microsatellite DNA Ogo5

Sample		Allele			
		Allele A (183 bp)	Allele B-1 (180 bp)	Allele B-2 (182 bp)	Allele B-3 (183 bp)
Korea	01	○			○
	02	○			○
	03	○	○		
	04	○	○		
	05	○	○		
	06	○			○
	07	○	○		
	08	○	○		
	09	○	○		
	10	○	○		
	11	○	○		
	12	○		○	
Japan	01	○	○		
	02	○	○		
	03	○	○		
	04	○	○		
	05	○○			
	06	○	○		
	07	○	○		
	08	○		○	
USA	01	○	○		
	02	○	○		
	03	○○			
	04	○○			
	05	○○			
	06		○○		
	07	○○			
	08	○	○		
	09	○	○		
	10	○	○		

Table III-7.2. Allele frequency of the microsatellite DNA Ogo5 in each population of the chum salmon (*Oncorhynchus keta*). (KS, Korea chum salmon; JS, Japan chum salmon; AS, American chum salmon)

Alleles	Allele frequency in each population		
	KS	JS	AS
Allele A	0.50	0.56	0.65
Allele B-1	0.33	0.38	0.35
Allele B-2	0.04	0.06	0.00
Allele B-3	0.13	0.00	0.00
Ho	1.00	0.88	0.50
He	0.62	0.54	0.46
Ho/He ratio	1.61	1.63	1.09



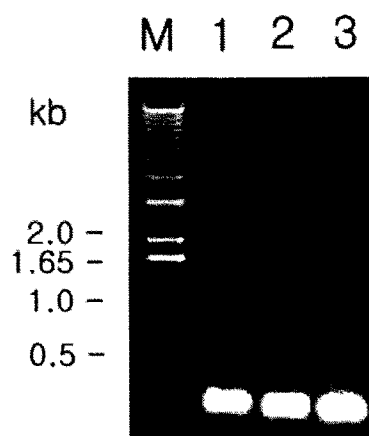


Fig. III-7.1. An electrophoresis picture of the Ogo5 PCR products from the chum salmon (*Oncorhynchus keta*) (M, size marker; 1, 2, 3, three different individuals)

50

Ogo5-A GGTTTGACATTTAAGGCGGAACGCCGAGTCCGCCGACCACGCAGACGAAT

Ogo5-B1 .....T...T....

Ogo5-B2 .....T...T....

Ogo5-B3 .....T...T....

100

Ogo5-A TACCTTGCTACACAGCAGGCCTATGCGATGTGCTTGTGTGCATGCGTGTG

Ogo5-B1 ....-.....G.AA...C-T.....TG.TT.....

Ogo5-B2 ....-.....G.AA...C-T.....TG.TT.....

Ogo5-B3 ....-.....G.AA...C-T.....TG.TT.....

150

Ogo5-A CACGTGTGT-TCGGTT--GCTTTTGTCCGGTTGCTCTGTAGAATTTAAA

Ogo5-B1 ..T.....G.GT.--TT.....A.A.....T.T.....-

Ogo5-B2 ..T.....G.GT..GT-TT.....A.A.....T.T.....-

Ogo5-B3 ..T.....G.GT..GTTTT.....A.A.....T.T.....-

186

Ogo5-A CCGAGATATTAAACACAGCAGTGAGCTTGAACACCC

Ogo5-B1 ..A.....

Ogo5-B2 ..A.....

Ogo5-B3 ..A.....

Fig. III-7.2. Sequences of the four different alleles of the microsatellite DNA Ogo5 from the chum salmon (*Oncorhynchus keta*)

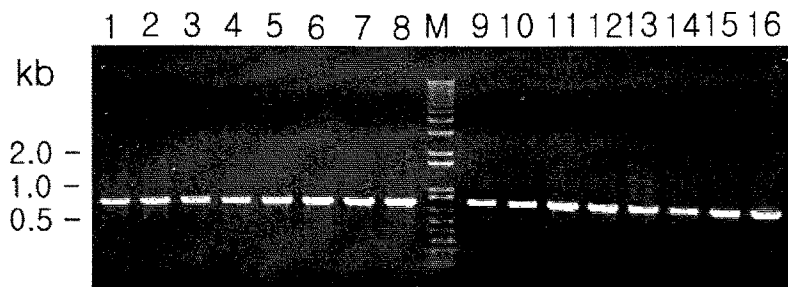


Fig. III-7.3. An electrophoresis picture of the COIII-ND3-ND4L PCR products from the chum salmon (*Oncorhynchus keta*) (M, size marker)

(A)

TCCACTTTCTTTGTGCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTTCTGGCTGTTT  
GCCTTCTACGACAAATTCAATACCATTTACATCTGAACATCATTTTGGCTTTGAAGCCGCTGCTTGATA  
TTGACACTTTGTAGACGTTGTGTGACTCTTCTATACGTTTCTATTTACTGATGAGGCTCATAATCTTTC  
TAGTATTAATTAGTATAAGTGACTTCCAATCACCCGGTCTTGGTTAAAATCCAAGGAAAGATAATGAACT  
TAATTACAACAATCATTACTATCACCATCACATTGTCCGCAGTACTAGCCACTATCTCTTTCTGATTACC  
ACAAATCTCCCCGACGCAGAAAAGTTGTCTCCCTATGAGTGCGGATTTGACCCACTAGGGTCCGCCCGC  
CTCCCCCTTCTCTTTACGCTTCTTTTTAATTGCCRTCTCTTTCTCCTATTTGATCTAGAAATTGCCCTCC  
TTCTCCCCCTTACCTTGGGGGGATCAACTCAGTACCCCAACCCTAACACTTATTTGATCCACTGCCGTACT  
CGCCCTCCTTACTCTTGGCTTAATTTATGARTGAACCCAAGGAGGCTTGGAAATGAGCCGAATAGGCAGTT  
AGTCCAAAACAAGACCCTTGATTTTCGGCTCAAAGACCATGGTTTAAAGTCCATGACCGCCTTATGACACC  
AGTACACTTCAGCTTTACCTCAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG

(B)

TCCACTTTCTTTGTGCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTTTCTGGCTGTTT  
GCCTTCTACGACAAATTCAATACCATTTACATCTGAACATCATTTTGGCTTTGAAGCCGCTGCTTGATA  
TTGACACTTTGTAGACGTTGTGTGACTCTTCTATACGTTTCTATTTACTGATGAGGCTCATAATCTTTC  
TAGTATTAATTAGTATAAGTGACTTCCAATCACCCGGTCTTGGTTAAAATCCAAGGAAAGATAATGAACT  
TAATTACAACAATCATTACTATYACCATCACATTGTCCGCAGTACTAGCCACTATCTCTTTCTGATTACC  
ACAAATCTCCCCGACGCAGAAAAGTTGTCTCCCTATGAGTGCGGATTTGACCCACTAGGGTCCGCCCGC  
CTCCCCCTTCTCTTTACGCTTCTTTTTAATTGCCATCCTCTTTCTCCTATTTGATCTAGAAATTGCCCTCC  
TTCTCCCCCTTACCTTGGGGGGATCAACTCAGTACCCCAACCCTGACACTTATTTGATCCACTGCCGTACT  
CGCCCTCCTTACTCTTGGCTTAATTTATGAGTGAACCCAAGGAGGCTTGGAAATGAGCCGAATAGGCAGTT  
AGTCCAAAACAAGACCCTTGATTTTCGGCTCAAAGACCATGGTTTAAAGTCCATGACCGCCTTATGACACC  
AGTACACTTCAGCTTTACCTCAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG

Fig. III-7.4. The typical COIII-ND3-ND4L DNA sequences of the Korea and Japan chum salmon (*Oncorhynchus keta*) (A) and of the America chum salmon (B)

	57	246	303 307	393	534	591
KS01	TACTTTT	CCC <b>G</b> GTC	TAT <b>CACCA</b> TCA	GT <b>GCG</b> GA	CCT <b>A</b> ACA	TGA <b>A</b> TGA
KS02	.....	.....	.....	.....	.....	.....
(KS05, KS09-KS11, KS13, KS14, KS16-KS19 same as KS02)						
KS03	...C...	.....	.....C...	.....	...G...	.....
KS04	...C...	.....	.....C...	.....	...G...	.....
KS06	.....	...A...	.....	.....	.....	...G...
KS07	...C...	.....	.....C...	.....	...G...	.....
KS08	...C...	.....	.....C...	.....	...G...	.....
KS12	...C...	.....	.....C...	.....	...G...	.....
KS15	.....	...A...	.....	.....	.....	...G...
KS20	...C...	.....	.....	.....	...G...	...G...
JS01	...C...	.....	.....	...G...	...G...	.....
JS02	.....	.....	.....	.....	.....	.....
(JS06, JS08-JS18 same as JS02)						
JS03	.....	.....	.....	...G...	...G...	...G...
JS04	.....	.....	.....	...G...	.....	.....
JS05	...C...	.....	.....	.....	...G...	.....
JS07	...C...	.....	.....	.....	...G...	...G...
JS19	...C...	.....	.....	.....	...G...	...G...
JS20	...C...	.....	.....	.....	...G...	...G...
AS01	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS02	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS03	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS04	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS05	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS06	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS07	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS08	...C...	.....	.....	.....	...G...	...G...
AS09	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS10	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS11	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS12	...C...	.....	.....	.....	...G...	...G...
AS13	...C...	.....	.....	.....	...G...	...G...
AS14	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS15	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS16	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS17	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS18	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS19	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...
AS20	...C...	.....	...T.....	.....	...G...	...G...

Fig. III-7.5. The population-discriminative single nucleotide polymorphisms of the COIII-ND3-ND4L region among the Korea (KS), Japan (JS) and America (AS) chum salmons (*Oncorhynchus keta*). Dots denote the identical nucleotide with the first sequence.

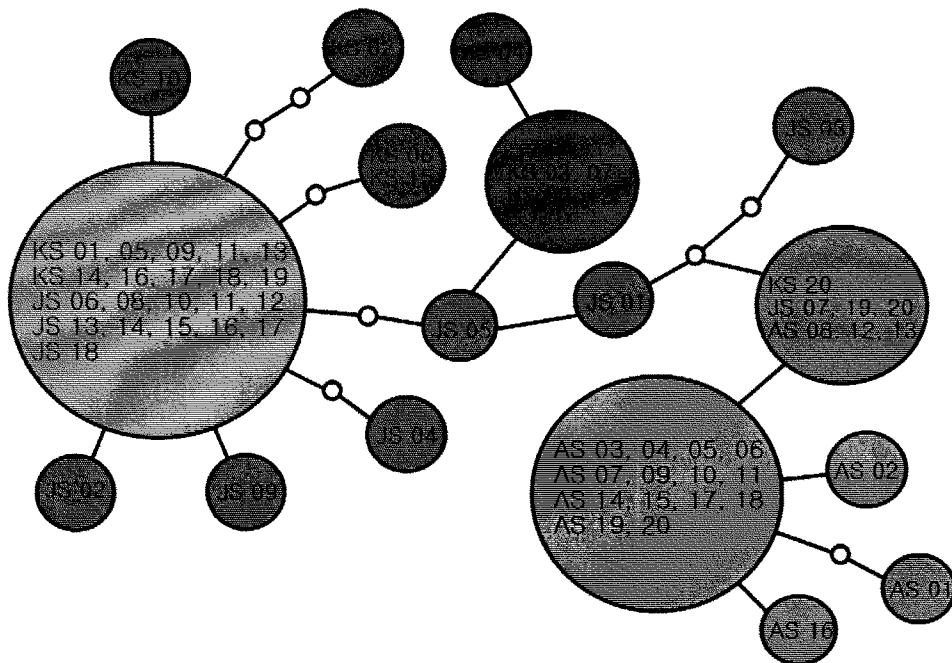


Fig. III-7.6. A diagram of COIII-ND3-ND4L gene genealogy among the Korea(KS), Japan(JS) and America(JS) chum salmons (*Oncorhynchus keta*) revealed by the computer program TCS (ver. 1.13; Clement et al., 2000). The line between circles indicates one nucleotide difference. (orange, KS population; green, JS; yellow, AS; Blue, KS and JS; pink, KS, JS and AS)

여 백

## 제 8 절 유전자 분석을 통한 연어와 곱사연어의 구별

### 1. 서 론

냉수성인 연어과 어류는 육지의 하천에서 부화하여 바다로 내려가 성장하고 산란을 위해 태어난 하천으로 회귀한다. 연어의 모천회귀 습성을 활용하여 연어가 소상하는 하천에 치어를 인공적으로 생산하여 방류하면 회귀하는 연어의 자원량을 크게 증가시킬 수 있다. 연어과 어류가 서식하는 노르웨이와 스웨덴 등 북대서양 국가들과 일본, 러시아, 미국, 캐나다 등 북태평양 연안국들은 이 어류를 중요한 수산자원으로 취급하여 오래 전부터 많은 연구를 수행하고 인공부화, 치어의 생산방류를 대대적으로 실시하고 있다. 북태평양 연안 4개국은 1993년 북태평양소하성어류위원회(North Pacific Anadromous Fish Commission, NPAFC)를 조직하고 연어자원의 효율적 관리와 이용을 위해 과학적 자료를 수집하고 교환함은 물론 자국산 연어자원에 대해 권리를 주장하고 있다. 우리 나라는 1985년부터 연어(*O. keta*, chum salmon)의 치어를 방류하기 시작하여 2000년에는 1300만 마리를 방류하였다. 그러나, 우리 나라는 아직 NPAFC에 가입하지 않은 상태로 연어자원에 대해 권리를 주장하기에 불리한 입장이다.

연어는 동해와 북태평양의 대표적인 연어과 어류이다 (Fig. III-8.1-A). 일본과 미국, 캐나다, 러시아 등이 매년 약 50억 마리 이상 연어 치어를 방류하며 자원과 어획 증대를 위해 노력하고 있다. 방류된 연어 치어는 20~50일간 하천에서 생활하고 바다로 내려가 2~5년 동안 성장하여 3.2 - 8.2 Kg의 성숙한 성체가 된다. 산란기가 되면 성어는 방류된 하천으로 소상하여 산란하고 일생을 마친다. 최근 조사된 표지방류와 연어 이석의 안정동위원소 분석 자료에 의하면 우리 나라에서 방류된 연어 대부분은 쏘야해협이나 타타르해협을 통과하여 오호츠크해와 북태평양 서쪽에 머물다 돌아올 것으로 생각되고 있다 (Fig. III-8.2; 자료 미발표). 이 회유경로는 우리 나라에서 방류된 연어가 쓰가루해협을 통과한다는 기존의 경로를 다소 수정한 것이다 (권혁추 등, 1995; 국립수산진흥원, 2000).

북태평양의 또 다른 대표적인 연어과 어류가 곱사연어이다 (Fig. III-8.1-B). 곱사연어는 북태평양과 북극해, 베링해, 오호츠크해, 동해에서 발견된다. 곱사연어의



치어는 10~30일간 하천생활을 하고, 바다로 내려가 2년이 지나면 1.4 - 2.7 Kg의 성숙한 성체가 된다. 곱사연어 역시 다시 모천으로 회귀하여 산란하고 일생을 마친다. 북태평양 서쪽의 곱사연어는 크게 세 계군으로 구분된다: 동해 계군, 오토츠크해 계군, 베링해 계군. 이 세 계군은 서로 다른 생육장과 회유경로를 갖는 것으로 알려져 있다 (Fig. III-8.3; Takagi *et al.*, 1981; Hartt and Dell, 1986).

동해와 북태평양에서 연어와 곱사연어는 생육장과 회유경로가 겹친다 (Fig III-8.2, III-8.3) 특히, 연어가 회유하는 동해에 곱사연어 동해 계군이 회유하므로 정 치망 어업에 연어와 곱사연어가 함께 잡힐 수 있다. 다만, 곱사연어의 회유경로가 동해의 동북쪽, 일본 연안에 치우쳐 있으므로 (Fig. III-8.3) 우리 나라 연안에서 곱 사연어가 어획될 가능성은 크지 않다. 그럼에도 불구하고 연어과 어류 자원에 대 한 관심이 증대하면서 우리 나라와 러시아는 곱사연어 자원에 대해 갈등을 빚고 있 다. 곱사연어 치어를 생산 방류하는 러시아가 이를 방류하지 않는 우리 나라에서 곱사연어가 포획되고 유통된다는 의혹을 제기하는 것이다. 이러한 갈등이 쉽게 해 소되지 못하는 원인은 유통과정의 연어고기에 대한 종 구분이 쉽지 않다는 데 있 다. 가공 전에 곱사연어는 연어와 외형적으로 뚜렷이 구분된다 (Fig. III-8.1-A, B). 그러나, 일단 연어가 가공되면 유통과정에서 두 종을 구분하기란 쉽지 않다. 심지어 북유럽산 연어도 가공 처리되면 아시아 연어 종과 구분하기 어렵다 (Fig. III-8.4).

위와 같은 문제는 유전자 마커를 이용하면 해결될 수 있을 것이다. 즉, 각 종에 독특한 DNA 염기서열을 확보하고 이를 생체지표로 이용한다면, 유통과정의 연어고 기가 어떤 종에서 기원했는가를 쉽게 판별할 수 있는 것이다. 본 연구는 러시아와 우리 나라 사이에 벌어지고 있는 연어와 곱사연어 자원 문제에 대한 해결책으로서 두 종을 구분할 수 있는 유전자 마커를 확립하고자 수행되었다. 유전자 마커의 대 상은 microsatellite DNA이었다. Microsatellite DNA는 2 - 3개 염기가 수 회 이상 반복된 염기서열로서 변이율이 높고 개체군이나 종을 구분하기에 적합하다고 알려 져 있어 연어과 어류의 개체군과 종을 구분하는 데에도 사용되고 있다 (McConnell *et al.*, 1995; Nelson *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 1998; Beacham *et al.*, 2000; Sunnucks, 2000). 본 연구에서 분석한 DNA는 곱사연어에서 그 염기서열과 중합효 소연쇄반응(PCR) 프라이머가 이미 알려진 microsatellite DNA Ogo5와 Ogo6(Olsen *et al.*, 1998)이다. 연어에서 Ogo5와 Ogo6 DNA 염기서열을 파악하여 곱사연어의

염기서열과 비교하였고 두 연어를 구분할 수 있는 간단한 PCR 방법을 제시하였다. 본 연구에서 제시한 유전자 마커에 의한 수산물의 종 구분 방법은 연어뿐만 아니라 시장에서 가공 유통되는 다양한 종류의 수산물의 종과 원산지를 구분하는데 적용될 수 있을 것이다.

## 2. 재료 및 방법

### 가. 재료

우리 나라 연어 시료(chum salmon)를 양양 남대천에서 채집하였다. 채란이 끝난 연어 성체에서 근육과 간을 떼어내어 100% 알코올로 고정시켰다. 일본과 미국의 연어 시료는 각각 Hokkaido Mashike의 Shokanbetsu 강과 Washington의 Quilcene에서 채집하였다.

### 나. 방법

#### (1) 연어의 genomic DNA(gDNA) 분리

연어의 간(liver) 시료에서 전체 DNA를 분리하였다. 냉동된 시료는 바로 사용하였고, 알코올에 고정된 시료는 먼저 3차 증류수로 서너 차례 씻은 후 사용하였다. 시료 약 100mg을 Glass homogenizer(Pyrex)에 넣고 lysis buffer 9.5ml (Buffer G2: 800mM guanidine HCl; 30mM Tris-HCl, pH 8.0; 30mM EDTA, pH 8.0; 5% Tween-20; 0.5% Triton X-100)와 RNase A 19ul을 첨가한 후 균질화시켰다. 이 용액을 50ml 튜브로 옮기고 Protease 0.5 ml를 첨가한 후 50℃에서 2시간 동안 반응시켰다. 이 후 Blood and Cell culture DNA Midi Kit(Qiagen)의 프로토콜을 따라 gDNA를 추출하였다. 추출된 gDNA는 -20℃ 냉동고에 보관하였다. Genomic DNA 일부를 0.8% agarose gel에 전기영동시켜 그 부서진 상태를 확인하였으며 (Fig. 5), Spectrophotometer (HP UV-Visible Spectrophotometer 8453, Hewlett Packard)를 이용하여 260nm와 280nm에서 흡광도를 측정하여 DNA의 순도와 농도를 산정하였다.

#### (2) 분석 대상 유전자의 증폭

추출한 genomic DNA에서 분석대상 유전자인 microsatellite DNA Ogo5와 Ogo6

을 PCR방법으로 선택적으로 증폭하였다. Ogo5를 증폭하기 위한 프라이머로서 Ogo5F(5'GGTTTGACATTTAAGGCGGA3', 20mer)와 Ogo5R(5'GGGTGTC AAGCTCACTGCT3',20mer)을 사용하였고, Ogo6를 증폭하기 위한 프라이머로서 Ogo6F(5'CACACGCATACTCCGAAACA3', 20mer)와 Ogo6R(5'AGAGCTGTCAT GCACCAGAA3', 20mer)을 사용하였다 (Olsen *et. al.*, 1998). PCR 반응은 Hotstart Taq polymerase (2.5 unit, Qiagen)가 포함된 반응용액 50ul(10X PCR buffer 5ul, 10mM dNTPs 1.0ul, 25 pmole primers, 0.5~1.0µg Template DNA, 물)를 만들어 GeneAmp PCR System 2400 (Perkin Elmer)이나 TGradient Thermocycler(Whatman, Biometra)에서 실시하였다. PCR 각 단계의 온도와 시간은 Table 1에 제시된 것과 같다. PCR 반응이 끝나면 반응용액 10ul를 0.8% Agarose Gel에 전기영동하여 증폭된 DNA의 크기를 확인함으로써 분석대상 유전자가 선택적으로 증폭되었는가를 판정하였다

### (3) 클로닝과 양성콜로니의 선정

PCR로 증폭된 DNA를 TOPO TA cloning kit(Invitrogen, The Netherlands)를 이용하여 pCRII-TOPO 벡터에 연결하고 *E. coli* 박테리아 내로 transformation시켰다. 이 박테리아를 X-gal이 도포된 LB-agar ampicillin 배지에서 24시간 배양하여 증폭된 DNA가 포함된 콜로니가 자라도록 하였다.

흰색이나 옅은 청색의 콜로니 중에서 원하는 크기의 DNA를 포함하는 콜로니를 선정하기 위해 insert DNA 크기를 PCR로 확인하였다. PCR 프라이머로서 M13F(5'TGTA AACGACGGCCAGT3')와 M13R(5'CAGGAAACAGCTATGACCATG3')을 사용하였다. PCR 반응의 template로서 각 콜로니의 박테리아 용액을 사용하였다. 이 용액은 콜로니의 일부를 떼어내 50ul의 물에 넣고 용해시켜 만들었다. PCR 반응은 Taq DNA polymerase(2.5 unit, Qiagen)가 포함된 25ul의 반응용액 (10X PCR buffer 2.5ul, 10mM dNTPs 0.5ul, 10pmole primers, 박테리아 용액 template 2.5ul, 물)을 만든 후, Table 1에 제시한 조건에서 실시하였다. PCR이 끝난 후 반응용액 10ul를 0.8% agarose gel에 전기영동하여 증폭된 DNA의 크기를 확인하고, genomic DNA에서 증폭된 microsatellite DNA Ogo5나 Ogo6가 포함된 양성콜로니를 선정하였다.

#### (4) Plasmid DNA 분리와 염기서열 분석

Ogo5나 Ogo6가 포함된 양성콜로니의 일부를 LB-ampicillin (100ug/ml) 배양액 4ml이 담긴 튜브에 옮기고, 37°C에서 약 16시간동안 진탕(250rpm) 배양하였다. 배양된 박테리아에서 QIAprep spin miniprep kit(Qiagen)를 이용하여 plasmid DNA를 추출하였다. 이 plasmid DNA를 template로 하여 시퀀싱 PCR을 Table 1과 같은 조건으로 실시하고 ABI prism 377 DNA sequencer(Applied Biosystem)를 이용하여 insert DNA Ogo5와 Ogo6의 염기서열을 결정하였다. 이렇게 얻은 연어의 염기서열을 MacVector v.6.0 프로그램(Oxford Molecular, Oxford, UK)으로 분석하고, 유전자 데이터베이스 GenBank에 들어있는 곱사연어의 염기서열과 비교하였다.

### 3. 결 과

#### 가. Genomic DNA 추출

냉동되었거나 알코올에 고정된 연어의 간 시료에서 추출된 genomic DNA는 비교적 순도가 높았다(260nm:280nm 흡광도 비율이 1.7 - 1.8). 추출된 DNA 양은 사용된 시료 양의 약 0.1%에 달하였다. 추출된 DNA를 agarose gel에서 전기영동하였을 때 DNA가 많이 부서지지 않고 상태가 좋은 것으로 나타났다 (Fig. III-8.5). 그러나, 추출된 DNA가 부서지고 상태가 좋지 않은 경우도 간혹 발견되었다(자료 미제시). 한편, 근육 시료에서 genomic DNA를 추출한 때는 추출된 DNA 양이 간 시료에서 추출한 양의 약 10%에 불과하였다.

#### 나. Microsatellite DNA Ogo5와 Ogo6 증폭과 양성콜로니 선택

Microsatellite DNA Ogo5와 Ogo6의 PCR 프라이머(Ogo5F와 Ogo5R, Ogo6F와 Ogo6R)가 곱사연어에서 이미 알려져 있다(Olsen *et al.*, 1998). 이 프라이머와 연어에서 추출된 genomic DNA를 이용하여 PCR을 수행하였을 때, 연어의 Ogo5와 Ogo6가 선택적으로 증폭되었다(Fig. III-8.6-A). PCR로 증폭된 DNA는 agarose gel에서 약 200bp 근처에 위치하여 곱사연어에서 알려진 Ogo5와 Ogo6 DNA 크기와 거의 일치하였다. Ogo5 증폭반응에서는 언제나 약 200bp의 단일 DNA가 증폭되었으며, Ogo6의 경우에는 약 200bp DNA 이외에 때로 약 1kb의 DNA band가 추가로 증폭되기도 하였다. 1kb DNA는 시퀀싱 결과 Ogo6가 아니었다.

증폭된 DNA는 pCRII-TOPO vector에 클로닝되었다. 클로닝 반응은 대체로 성공적이었으며 수백 개의 흰색이나 옅은 청색의 콜로니가 자라났다. 이들 콜로니 중에서 Ogo5와 Ogo6 DNA가 들어있는 양성콜로니가 PCR로 확인되었다 (프라이머, M13 forward와 M13 reverse; Fig. III-8.6-B). 양성콜로니의 PCR 산물은 그 크기가 약 400bp이었다. 이것은 PCR 반응에서 insert DNA 약 200bp에 벡터 DNA 약 200bp가 추가되었기 때문이다.

#### 다. 연어의 Ogo5와 Ogo6 염기 서열

지금까지 연어의 Ogo5 염기서열을 확인하기 위해 한국산 연어 네 개체, 미국산 연어 여섯 개체, 일본산 연어 네 개체를 분석하였다. 연어의 Ogo5 microsatellite DNA의 염기서열은 프라이머 부분을 포함하여 약 180개의 염기로 구성되었다. 각 개체에서 얻은 염기서열을 ClustalW(MacVector v.6.0) program을 이용하여 정렬시켰을 때, 연어의 Ogo5는 네 가지 allele 형태를 갖는 것으로 나타났다: allele A, B1, B2, B3 (Fig. III-8.7). 각 allele은 그 길이에서 한 두 염기의 차이가 있었으며 (allele A, 183bp; B1, 180bp; B2, 182bp; B3, 183bp), (GT) $n$ 으로 이루어진 반복구조의 길이에서도 차이가 있었다 (Table III-8.2).

연어의 Ogo6 microsatellite DNA는 길이가 188bp이었으며, 우리 나라, 미국, 일본산 연어 사이에 염기서열의 차이가 없었다. 즉, 단 하나의 allele 형태가 확인되었다 (Fig. III-8.8). 연어의 Ogo6도 곱사연어처럼 (CA) $n$ 의 반복구조를 갖는 것으로 나타났다 (Table III-8.2).

#### 라. 연어와 곱사연어의 Ogo5와 Ogo6 염기 서열 차이

본 연구에서 얻은 microsatellite DNA Ogo5와 Ogo6의 염기서열을 유전자 데이터베이스 GenBank에 이미 수록된 곱사연어의 염기서열과 비교하였을 때, 각 종에 독특한 single nucleotide polymorphism(SNP)과 반복구조의 차이가 드러났다. Ogo5 염기서열 비교에서 연어와 곱사연어 사이에 서로 다른 SNP가 세 위치에서 보였으며 (위치 25, C vs A; 위치 32, G vs T; 위치 74, T or G vs A; Fig. III-8.7), 서로 다른 횟수의 (GT) $n$  반복구조가 나타났다 (3/6/7회 vs 8회; Table III-8.2). Ogo5의 전체 길이는 두 종 사이에 커다란 차이가 없이 180bp에서 183bp 사이였다. Ogo6 염기서열 비교에서는 연어와 곱사연어 사이에 한 개의 위치에서

서로 다른 SNP가 나타났으며(위치 27, C vs A) 반복구조의 차이는 두 곳에서 나타났다((CA)<sub>5</sub>AA(CA)<sub>5</sub> vs (CA)<sub>5</sub>AA(CA)<sub>6</sub>AA(CA)<sub>5</sub>; CTCA(CT)<sub>2</sub> vs CTCA(CT)<sub>3</sub>) (Fig. III-8.8과 Table III-8.2). Ogo6의 전체 길이는 반복구조의 출현 횟수가 많은 곱사연어에서 연어보다 길었다 (204bp vs 188bp).

#### 4. 토 의

연어과 어류는 냉수성 어류로서 북태평양과 북대서양에 널리 분포한다. 이들은 육지의 하천에서 부화하여 바다로 내려가 성장하고 산란을 위해 다시 태어난 하천으로 회귀하는 독특한 생활사를 보인다. 연어의 이러한 모천회귀 습성은 치어의 인공 생산과 방류를 통하여 자원을 크게 증대시킬 수 있는 여건을 제공한다. 노르웨이와 스웨덴 등 북대서양 국가들과 우리 나라, 일본, 러시아, 미국, 캐나다 등 북태평양 연안국들은 연어과 어류를 중요한 수산자원으로 취급하여 오래 전부터 많은 연구를 수행하면서 자국 산 연어에 대한 권리를 보장받고자 노력하고 있다.

연어과 어류 각 종의 생활장과 회유경로를 파악하기 위하여 전통적으로 지느러미를 절단하는 방식의 표지방법이 이용되어 왔으나 최근 이석의 미세구조와(Zhang and Beamish, 2000) coded-wire tag를 이용하는(Courtney *et al.*, 2000) 새로운 방법들이 시도되고 있다. 또한, 연어가 위치하는 수심과 수온을 연속적으로 기록하는 micro-data-logger와 같은 첨단 장비가 실험적으로 이용되기도 한다. 한편, 연어과 어류의 종을 유전적으로 명확히 구분하고 종간의 계통/진화적 상호관계를 파악하는 연구도 활발히 수행되어 왔다 (Domanico and Phillips, 1995; Domanico *et al.*, 1997; Kitano *et al.*, 1997). 이러한 연구는 핵 유전자와 미토콘드리아 유전자의 염기서열 차이를 분석 재료로 이용하고 있다.

연어자원에 대한 권리 주장과 관련되어 또 하나의 중요한 문제가 종간의 구별이나 같은 종이라 할지라도 개체군간의 구분을 명확히 하는 것이다. 연어과의 각 종이 외형적으로는 어느 정도 구분 가능하다고 해도 일단 가공 처리되면 종간의 구분이 거의 불가능하기 때문이다. 이러한 문제를 해결할 목적으로 연어과 여러 종의 유전적 차이를 분석하려는 연구가 활발히 수행되고 있다. 특히, 개체군과 종을 구분하는 유전자 표지를 찾는데 microsatellite DNA를 대상으로 한 연구가 많이 이루어진다 (O' Connell *et al.*, 1995; McConnell *et al.*, 1995; Smith *et al.*, 1998;

Beacham *et al.*, 2000). Olsen 등 (1998)은 곱사연어에서 수 개의 microsatellite DNA 표지를 확립하고 다른 연어 종에 적용할 수 있는지를 평가하였다.

본 연구에서는 연어의 microsatellite DNA 염기서열을 최초로 확립하고 이를 곱사연어와 비교하였다. 본 연구에서 밝힌 DNA는 Ogo5와 Ogo6으로서 곱사연어와 염기서열과 반복구조에서 차이를 보였다. Ogo5에서는 두 종간에 세 개의 single nucleotide polymorphism(SNP)이 발견되었으며 (GT)<sub>n</sub>의 반복구조 횟수에서도 차이가 있었다 (Fig. III-8.7과 Table III-8.2). Ogo6에서도 SNP가 1개 발견되었으며 (CA)<sub>n</sub>과 (CT)<sub>n</sub>으로 된 반복구조에서 차이가 있었다 (Fig. III-8.8과 Table III-8.2). 특히, Ogo6의 (CA)<sub>n</sub> 반복구조는 두 종간에 길이 차이가 뚜렷하여 Ogo6의 전체 길이가 연어와 곱사연어에서 각각 188bp와 204bp이었다. 이러한 두 종간의 길이의 차이는 종을 구분하는 유전자 표지로 사용하기에 좋은 여건을 제공한다.

본 연구의 결과는 우리 나라와 러시아 사이에 상존하는 곱사연어 자원 이용에 대한 갈등을 해결할 방법을 제시한다. 러시아는 곱사연어의 치어를 생산/방류하지 않는 우리 나라에서 곱사연어가 어획되고 시장에 고기가 유통된다는 의혹을 제기하고 있다. 문제는 유통과정 중에 연어고기와 곱사연어고기를 구분할 수 있는 방법이 없었던 것인데, 이제 microsatellite DNA Ogo5와 Ogo6를 이용하면 유통과정 중의 고기라도 종 구분이 가능하다. 연어고기와 곱사연어고기를 구분하는 방법으로 두 가지를 제시하고자 한다. 첫째는 Ogo5와 Ogo6 DNA 전체의 염기서열을 분석하고 각 종에 독특한 SNP와 반복구조의 차이를 비교하는 것이다. 이 방법은 DNA 전체를 분석함으로써 시간과 비용이 많이 든다는 단점이 있으나, 이론의 여지가 없는 분명한 결론을 가져온다는 장점이 있다. 둘째는 두 종간에 Ogo6 DNA의 크기 차이를 이용하는 것이다. Ogo6는 두 종간에 16bp의 차이가 있어 아크릴아마이드를 이용한 전기영동 방법으로 구분이 가능하다. 특히, 형광물질이 부착된 프라이머를 이용하여 PCR을 수행하고 그 산물을 Genescan 방법으로 분석하면 두 종의 Ogo6는 서로 쉽게 구분될 것이다. 이 방법은 단 한번의 PCR 반응과 전기영동으로 두 종을 구분함으로써 시간과 비용이 적게 든다는 장점이 있다. 한편, Ogo5 DNA는 두 종간에 크기의 차이가 없어 둘째 방법의 대상으로 이용될 수 없다.

수산물의 국제 교역이 활발해지면서 수산물의 종을 구분하고 원산지를 확인할 필요성이 점차 증가하고 있다. 어획이 금지된 수산물의 확인이나 불법적인 수산물의 유통을 검색할 필요성 또한 커지고 있다. 예를 들면, 뱀장어 치어(실뱀장어)의 유

통과정에서 한국산 실뱀장어에 대만이나 중국산 실뱀장어와 유럽산 실뱀장어를 섞어 파는 경우가 있어 구매자들은 이들의 종과 원산지를 구분하고 싶어한다(이태원, 의견 교환). 본 연구에서 제시한 DNA 염기서열의 차이를 이용하는 유전학적 방법은 위와 같은 각 종 수산물의 유통과정에서 발생하는 종과 개체군, 원산지의 확인 문제를 해결하는 새로운 대안이 될 수 있다.



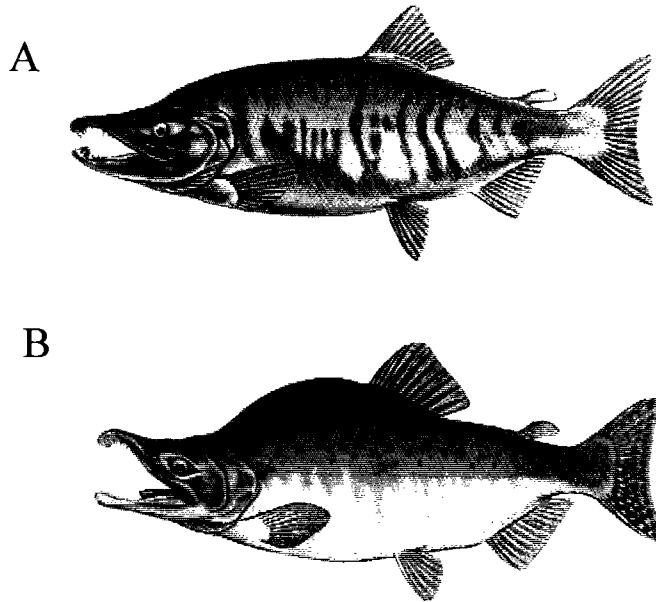


Fig. III-8.1. Morphological comparison of *O. keta* (A: the chum salmon) and *O. gorbuscha* (B: the pink salmon).

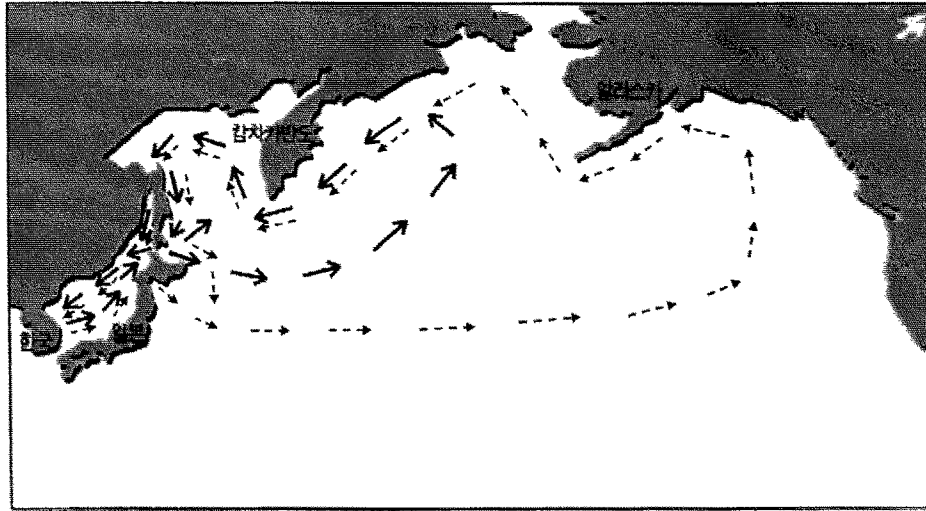


Fig. III-8.2. Migrating routes of the chum salmon.

(Solid arrow, the modified route by this paper; dashed arrow, the previously known route)

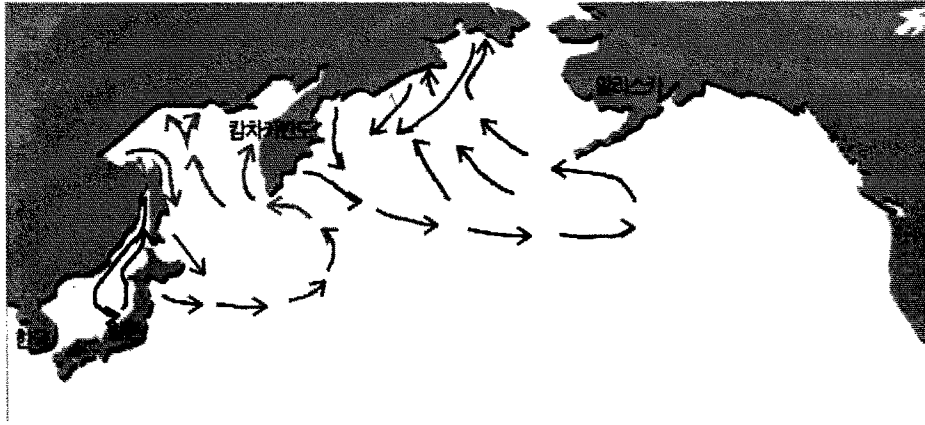


Fig. III-8.3. Migrating routes of the pink salmon. Three different stocks of the pink salmon seem to have different routes.



Fig. III-8.4. Salmon meat in the market. Discernment of the species is almost impossible from the meat.

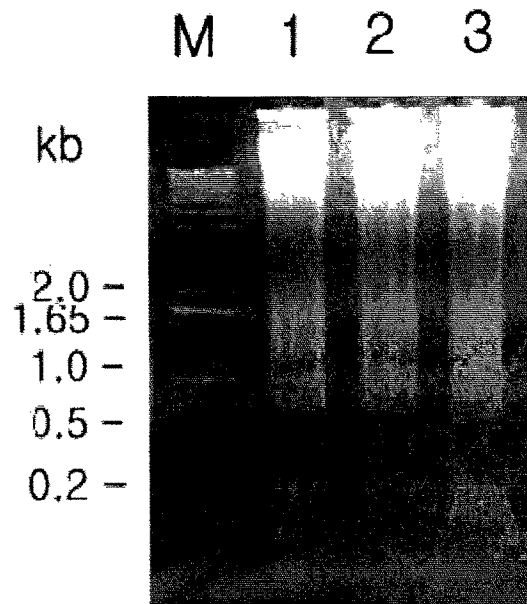


Fig. III-8.5. Electrophoresis of the extracted genomic DNA from the chum salmon in the 0.8% agarose gel. DNA from three different individuals(1, 2, 3) was analyzed. M: 1 kb size marker.

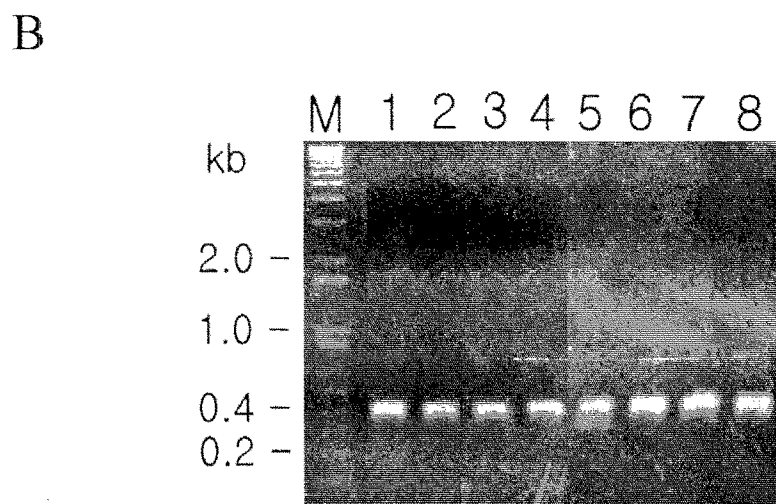
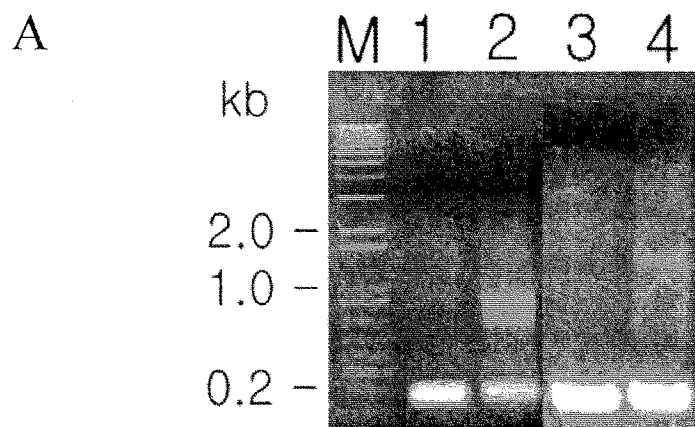


Fig. III-8.6. Electrophoresis of PCR products in the 0.8% agarose gel.

A: PCR of microsatellite DNA Ogo5(1, 3) and Ogo6(2, 4) with genomic DNA of the chum salmon.

B: PCR of the inserted Ogo5(1 - 4) and Ogo6(5 - 8) with the transformed bacterial clones. M: 1 kb size marker.

Table III-8.1. Reaction conditions of three different polymerase chain reactions

Step	gDNA PCR (35 cycles)		Insert DNA PCR (32 cycles)		Sequencing PCR (25 cycles)	
	Temperature (°C)	Time (min.)	Temperature (°C)	Time (min.)	Temperature (°C)	Time
Initial Activation	95	15	94	10	95	1 min
Denaturation	95	1	94	1	96	10 sec
Annealing	50	1	50	1	50	5 sec
Extension	72	1.5	72	1	60	4 min
Final Extension	72	10	72	10		
Storage	4		4		4	

\* cycle: from denaturation to extension

Table 2. Comparisons of microsatellite DNA Ogo5 and Ogo6 between the chum salmon and the pink salmon

Ogo5	chum	allele A : (GT) <sub>2</sub> GCATGC (GT) <sub>2</sub> GCAC (GT) <sub>3</sub> TCGGTTGCTTTT
		allele B1 : (GT) <sub>2</sub> GTGTTT (GT) <sub>2</sub> GCAT (GT) <sub>6</sub> TTTTTT
		allele B2 : (GT) <sub>2</sub> GTGTTT (GT) <sub>2</sub> GCAT (GT) <sub>7</sub> TTTTTT
		allele B3 : (GT) <sub>2</sub> GTGTTT (GT) <sub>2</sub> GCAT (GT) <sub>7</sub> TTTTTT
	pink	(GT) <sub>2</sub> GTGTTT (GT) <sub>2</sub> GCAT <b>(GT)<sub>8</sub></b> TTTT
Ogo6	chum	(CA) <sub>2</sub> AA (CA) <sub>2</sub> CTCATATG (CA) <sub>5</sub> AA (CA) <sub>5</sub>
	pink	(CA) <sub>2</sub> AA (CA) <sub>2</sub> CTCATATG (CA) <sub>5</sub> <b>AA (CA)<sub>6</sub></b> AA (CA) <sub>5</sub>



<i>O. keta</i>		50
Ogo5-A	<u>GGTTTGACATTTAAGGCGGAACGCCGAGTCCGCCGACCACGCAGACGAAT</u>	
Ogo5-B1	.....T...T....	
Ogo5-B2	.....T...T....	
Ogo5-B3	.....T...T....	
<i>O. gorbuscha</i>		
Ogo5	..... <b>A</b> ..... <b>T</b> .....T...T....	
<i>O. keta</i>		100
Ogo5-A	TACCTTGCTACACAGCAGGCCTATGCGATGTGCTTGTGTGCATGCCGTGG	
Ogo5-B1	....-.....G.AA...C-T.....TG.TT....	
Ogo5-B2	....-.....G.AA...C-T.....TG.TT....	
Ogo5-B3	....-.....G.AA...C-T.....TG.TT....	
<i>O. gorbuscha</i>		
Ogo5	....-..... <b>A</b> .AA...C-T.....TG.TT....	
<i>O. keta</i>		150
Ogo5-A	CACGTGTGT-TCGGTT--GCTTTTGTCCGGTTGCTCTGTAGAATTTAAA	
Ogo5-B1	..T.....G.GT...---TT.....A.A.....T.T.....-	
Ogo5-B2	..T.....G.GT..GT-TT.....A.A.....T.T.....-	
Ogo5-B3	..T.....G.GT..GTTTT.....A.A.....T.T.....-	
<i>O. gorbuscha</i>		
Ogo5	..T.....G.GT.. <b>GT</b> - <b>T</b> .....A.A.....T.T.....-	
<i>O. keta</i>		186
Ogo5-A	CCGAGATATTAAACACAGCAGTGAGCTTGAACACCC	
Ogo5-B1	..A.....	
Ogo5-B2	..A.....	
Ogo5-B3	..A.....	
<i>O. gorbuscha</i>		
Ogo5	..A.....	

Fig. III-8.7. Comparison of microsatellite DNA Ogo5 sequences between *O. keta* and *O. gorbuscha*. Different nucleotides such as single nucleotide polymorphisms and repeat structures between the two sequences are marked in bold. PCR primers are underlined.

50

*O. keta*            CACACGCATACTCCGAAACAGACAGGCAGAAAGATAGACAGTTACACAAA

*O. gorbuscha* .....**A**.....

100

*O. keta*            CACACTCATATGCACACACACA-----AACACACACACACG

*O. gorbuscha* .....**AACACACACACACA**.....

150

*O. keta*            TTTGCCCAAGTTGCCGTCTGTGTCCTGTTTCATGGTAAGCAGGTGCTATGT

*O. gorbuscha* .....

204

*O. keta*            GCTGCTAGTGAGTTTCCATGCTCA--CTCTGTTTTTCTGGTGCATGACAGCTCT

*O. gorbuscha* .....**CT**.....

Fig. III-8.8. Comparison of microsatellite DNA Ogo6 sequences between *O. keta* and *O. gorbuscha*. Different nucleotides such as single nucleotide polymorphisms and repeat structures between the two sequences are marked in bold. PCR primers are underlined.

여 백

## 제 4 장 목표달성도 및 관련분야에의 기여도

여 백

본 연구의 각 항목별 목표 달성도는 95%-110%에 달한다. 각 항목별 목표의 달성도와 관련분야에 대한 기여도를 요약하면 다음과 같다.

### 1. 우리 나라 연어 방류사업과 생태 분석: 달성도 100%

본 항목에서는 연어에 대한 생물학적 특징을 개괄하고 그 생태적 특징을 종합하였으며 우리 나라의 연어 방류 사업의 역사와 현황에 대해 정리하였다.

- 연어 치어 방류 사업: 1985년-2002년, 방류한 총 치어수 219,488,000마리;

양양 남대천: 1985년, 1,930,000마리; 1999년, 11,150,000마리, 5.8배 증가

방류 시기: 2월 중순-4월 하순, 방류 치어의 크기: 평균 4.7-5.6 cm,

체중, 0.6-1.2 g

회귀율: 90년에서 98년 사이, 1.0%-1.4%; 98년 이후, 1% 미만으로 감소

- 본 연구 결과는 연어 방류 사업의 과학 자료를 종합한 것으로 앞으로 동 분야에서 널리 활용될 수 있다.

### 2. 동해 및 북태평양 환경자료 분석: 달성도 95%

본 항목에서는 우리 나라 연어의 생활장이 될 것으로 생각되는 동해, 오토츠크해, 북태평양 각 지역의 해수 수온을 분석하였다. 자료는 1994년부터 1999년까지 수집된 자료를 사용하였다. 연어의 성장이 주로 일어나는 5-10월과 6-7월의 수온 차이를 해역별로 비교하였다.

연어 이석의 안정동위원소 자료와 함께 연어의 생활장과 회유경로를 분석하는데 이용되었다. 동 자료는 해당해역의 수온에 대한 기초자료로서 앞으로 여러 연구에 활용될 수 있다.

### 3. 연어 표본 입수: 달성도 95%

연어의 인공방류사업이 활발한 북태평양 국가들로부터 수년간에 걸쳐 연어 시료를 확보하였다: 1997년 (한국, 일본, 미국, 캐나다), 1998년 (한국, 일본, 미국, 캐나다), 1999년 (한국, 미국, 캐나다), 2000년 (한국, 일본, 미국), 2001년 (한국, 일본, 미국). 이렇게 확보된 시료는 본 연구뿐만이 아니라 연어를 대상으로 한 타 연구분야에도 활용될 수 있다.

4. 연어 이석에 함유되어 있는 안정동위원소 ( $\delta^{18}\text{O}$ ,  $\delta^{13}\text{C}$ ) 분석: 달성도 100%

한국, 일본, 미국, 캐나다 연어의 1997, 1998, 1999, 2000년 이석 시료를 분석하여 각 계군별 안정동위원소의 차이를 밝히고, 생활장과 회유경로를 유추할 수 있는 과학적 근거를 마련하였다. 본 분석 방법은 연어뿐만이 아니라 다른 회유성 수산어종에도 적용하여 그 회유경로를 밝히는데 활용될 수 있다.

5. 연어의 이석에 들어 있는 trace element 분석: 달성도 100%

본 연구에서는 레이저를 이용하는 새로운 방법, Laser ablation, 을 도입하여 연어 이석의 trace element를 나이별로 분석하였다. 아직 서로 다른 많은 수산 생물에 적용되지는 않았으나 본 방법은 연어 성장에 대한 정보를 나이별로 얻을 수 있다는 장점을 가지고 있으며 다양한 생물에 적용될 것으로 생각된다.

6. 연어의 유전자 분석: 달성도 100%

COIII-ND3-ND4L 유전자와 마이크로새틀라이트 DNA의 염기서열을 분석하여 연어방류 사업을 벌이고 있는 북태평양 각 연안국 연어의 계군을 유전형질을 이용하여 구분하였다 (한국, 일본, 캐나다, 미국 연어).

- ND3유전자 분석: 총 125개체의 연어에서 염기서열 확보 (한국, 32 개체; 일본, 44; 캐나다, 29; 미국, 20개체). DNA 지문으로 이용 가능하다.

- 마이크로새틀라이트 DNA 분석: Ogo5와 4개의 allele type 밝힘. 한국, 일본, 미국산 약 10개체씩 분석, 각 계군별 allele type의 빈도 차이를 밝힘. 또한, 연어와 곱사연어 사이에 Ogo5와 Ogo6 염기배열과 반복구조에서 차이가 있음을 밝혀 두 종을 구분할 수 있는 유전적 마커를 확립함. 유통중인 수산식품의 구분에 이용 가능하며, 주변국과 연어와 곱사연어에 대한 자원분쟁에 해결책을 제시할 수 있게 되었다.

- DNA 길이의 차이 분석법 개발: 염기서열을 밝히는 이외에 자동염기서열 분석기에 장착된 Genescan 방법을 활용하여 DNA 길이의 차이를 쉽게 분석할 수 있는 방법을 개발하였다.

- DNA 지문 활용법 특허출원: 시간유전자의 염기서열을 이용한 DNA 지문 검색법을 개발하여 특허를 출원하였다. 이 방법은 다양한 수산 생물종에 적용 가능하다.

## 제 5 장      연구개발결과의 활용계획



# 여 백

본 연구의 결과는 우리 나라가 방류한 연어 자원에 대한 권리를 확보하고 적절한 관리방안을 마련하는데 가장 크게 활용될 것이다. 연어 이석의 안정동위원소와 미량원소에 대한 분석 자료와 동해 및 북태평양의 해수 온도 자료를 비교함으로써 우리 나라에서 방류된 연어의 회유경로와 생활장이 유추되었다. 이러한 자료를 바탕으로 우리 나라는 북태평양소하성어류위원회(NPAFC)에서 우리 나라에서 방류된 연어에 대한 주권을 주장할 수 있으며, 주변국과 연어자원을 관리에 대해 협력 방안을 논의할 수 있을 것이다.

우리 나라 연어에 독특한 유전적 형질의 확보는 우리 나라 연어를 다른 나라 연어 집단과 구분할 수 있는 방법론을 확립하였다는 데 커다란 의의가 있다. 또한, 우리 나라 방류 연어가 일본으로 회귀할 가능성을 결과로 보여줌으로써 주변국과 연어 자원 관리에 대한 협력 방안을 마련할 수 있을 것이다. 한편, 연어와 곱사연어를 구분할 수 있는 유전적 마커는 우리 나라와 러시아 사이에 제기되고 있는 곱사연어 어획에 대한 문제를 해결하는 데 좋은 방법으로 이용될 수 있다.

본 연구에서 개발되고 시도된 방법들은 연어 자원뿐만이 아니라 다른 수산어종에도 적용할 수 있어 장차 우리 나라 수산자원의 관리와 합리적인 이용 방안 마련, 주변국과의 수산협정 체결 등에 활용될 수 있다. 이러한 사항들을 요약하면 다음과 같다.

#### 가. 이석의 안정동위원소와 미량원소 분석 방법과 자료

- 한국 연어를 일본, 미국, 캐나다 연어와 구별하는 지시자로 활용.
- 우리 나라 방류 연어의 생활장과 회유경로를 유추하는 과학 자료로 활용.
- 북태평양 연안국들 간의 어업협정을 체결할 때 유용한 과학자료로 활용.
- 다른 수산생물의 연구에 적용

#### 나. 연어의 유전자 분석 자료

- 한국, 일본, 미국, 캐나다 연어를 구별하는 유전적 형질 확보, 계군 구분 가능.
- 유전자 분석방법을 다른 수산생물에 적용, 계군 분석 마커로 활용
- 북태평양소하성어류위원회(NPAFC)에서 우리 나라 방류 연어에 대한 권리 주장의 근거로 사용
- 북태평양 연안국들 간의 어업협정을 체결할 때 유용한 과학자료로 활용.
- 특허출원한 시간유전자 분석법을 다른 수산생물 분석에 활용

여 백

## 제 6 장 연구개발과정에서 수집한 해외과학기술정보

여 백

연어를 비롯한 수산자원의 계군을 분석하는 분야에서는 마이크로새틀라이트 DNA의 염기배열을 표지로 이용하는 연구가 활발히 진행되고 있다 (Wright and Bentzen, 1994; Jarne and Lagoda, 1996; McConnell et al., 1995; Nelson et al., 1998; Beacham et al., 2000). 한편, 핵 내 유전자보다 약 10배나 빠르게 변화하는 미토콘드리아 유전자의 변이를 이용하여 (Brown et al., 1979) 각 개체간의 진화적인 유연관계를 분석하는 방법이 개발되어 (Bandelt et al., 1995; Clement et al., 2000) 각 개체와 집단 의 진화과정을 밝히는 연구들이 인간을 비롯한 기타 다른 생물을 대상으로 진행되고 있다 (Moilamen and Majamaa, 2003). 본 연구에서 미토콘드리아의 COIII-ND3-ND4L 유전자 지역은 변이가 충분히 빨라 계군을 구분하고 개체들 간의 진화적 상관관계를 밝힐 수 있음이 밝혀졌다.

연어 이석(otolith)에 함유된 안정동위원소나 미량원소를 분석하는 분야에서는 Laser ablation을 이용하는 방법이 새롭게 등장하였다. 이 방법을 이용하면 이석의 각 연륜별로 미량원소나 안정동위원소 함량을 분석하여 생활사에 따라 서식환경의 변화를 추적할 수 있게 되었다. 본 연구에서는 연구의 3년차에 본 방법을 도입하여 캐나다 빅토리아 대학에 설치된 LA-ICPMS 기기를 이용하여 연어 이석에 함유된 미량원소 분석을 시도하였다. 한편, 연어의 수직 이동을 모니터링하기 위하여 micro data logger를 연어에 부착하여 사용하는 방법이 시도되고 있다 (Tanaka *et. al.*, 2000).

여 백

## 제 7 장      참고문헌



여 백

국립수산진흥원, 1987. 한국의 연어인공부화 방류사업 현황. 국립수산진흥원 양식자료집, 6호, 68-70.

국립수산진흥원 양양내수면연구소 (2000), 연어치어생산방류. pp 8.

권혁추, 김계웅, 김동수, 김정대, 노순창, 류동석, 민윤식, 박기영, 박홍양, 배승철, 윤종만, 이승배, 장계남, 한창희, 허형택 (1995), 어류생물학, 정문각.

Allendorf, F.W. and L.W. Seeb. 2000. Concordance of genetic divergence among sockeye salmon populations at allozyme, nuclear DNA, and mitochondrial DNA markers. *Evolution*, 54, 640-651.

Anonymous, 1928. Record chum caught off Quadra. *Pac. Fisherman* 1928 (Oct.), 13pp.

Avise, J.C., 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. New York.

Bakkala, R. G., 1970. Synopsis of biological data on the chum salmon, *Oncorhynchus keta* (Walbaum) 1969. *FAO Fish. Sym.* 41; *U.S. Fish. Wild. Serv. Circ.*, 315, 89pp.

Bandelt, H. J, P. Forster, B.C. Sykes and M. B. Richards. 1995. Mitochondrial portraits of Human Populations using median networks. *Genetics* 141: 743-753.

Beacham, T.D., S. Pollard and K.D. Le. 2000. Microsatellite DNA population structure and stock identification of steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) in the Nass and Skeena rivers in northern British Columbia. *Mar. Biotechnol.*, 2, 587-600.

Bigler, B., 1985. Kotzebue Sound chum salmon(*Oncorhynchus keta*) escapement and return data, 1962-1984. Alaska Dep. Fish Game ADF&G Tech. Data

Rep., 149, 112pp.

Brown, W.M., M. George, Jr. and A.C. Wilson. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 76, 1967-1971.

Choi, Y.S. 2002. Cloning and nucleotide sequence of mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 3 DNA for population analysis of chum salmon, *Oncorhynchus keta*. Master's thesis, Gangnung University. (in Korean)

Choi, Y.S, Y.H. Lee and D.H. Jin. 2003. Cloning and DNA sequences analysis of mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 3 from Korean chum salmon, *Oncorhynchus keta*. J. Korean Fish. Soc. 36(2), 94-99.

Clement, M., D. Posada and C.A. Crandall. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. Mol. Ecol., 9, 1657-1660.

Cornuet, J.M. and G. Luikart. 1996. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. Genetics, 144, 2001-2014.

Courtney, D. L., Donald G. Mortensen, Joseph A. Orsi, and Kristen M. Munk (2000), Origin of Juvenile Pacific salmon recovered from coastal southeastern Alaska identified by otolith thermal marks and coded wire tags, Fisheries Research, 46: 267-278.

Domanico, M. J. and Phillips, R. B. (1995), Phylogenetic analysis of Pacific salmon (genus *Oncorhynchus*) based on mitochondrial DNA sequence data., Molecular Phylogenetics and Evolution, 4: 366-371.

Domanico, M. J., R. B. Phillips, and T. H. Oakley (1997), Phylogenetic analysis of Pacific salmon (genus *Oncorhynchus*) using nuclear and mitochondrial

- DNA sequences., *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 54: 1865-1872.
- Fredin, R. A., R. L. Major, R. G. Bakkala, and G. Tanonaka, 1977. Pacific salmon and high seas salmon fisheries of Japan. Northwest and Alaska Fisheries Center, National Marine Fisheries Service, Seattle, WA. 324pp.
- Helle, J. H., 1979. Influence of marine environment on age and size at maturity, growth, and abundance of chum salmon, *Oncorhynchus keta* (Walbaum), from Olsen Creek, Prince William Sound, Alaska. Ph. D. dissertation. Oregon State University, Corvallis, OR., 118pp.
- Hong K.P., J.G. Myoung, J.K. Son and C.W. Park. 1994. A biochemical study for the development of genetic marker on salmonids in Korea. *Bull. Korean Fish. Soc.*, 27, 83-88.
- Jacobs, H.T., D.J. Elliott, V.B. Math and A. Farquharson. 1988. Nucleotide sequence and gene organization of sea urchin mitochondrial DNA. *J. Mol. Biol.*, 202, 185-217.
- Jarne, P. and J.L. Lagoda. 1996. Microsatellites, from molecules to populations and back. *TREE.*, 11, 424-429.
- Jung, W.S., Y.H. Lee, H.C. Shin, K.B. Seong and S.A. Kim. 2001. Species identification of the chum salmon (*Oncorhynchus keta*) and pink salmon (*O. gorbuscha*) by use of genetic markers. *J. Korean Soc. Fish. Res.*, 4, 30-41. (in Korean)
- Jung, W.S., Y.H. Lee, S. Kim, D.H. Jin and K.B. Seong. 2003. Genetic identification of the North Pacific chum salmon (*Oncorhynchus keta*) stocks. *J. Korean Fish. Soc.* (in press, in Korean)
- Kalish, J. M., 1991a.  $^{13}\text{C}$  and  $^{18}\text{O}$  isotopic disequilibria in fish otoliths: metabolic and kinetic effects. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 75: 191-203.

- Kalish, J. M., 1991b. Oxygen and carbon stable isotopes in the otoliths of wild and laboratory-reared Australian salmon (*Arripis trutta*). *Mar. Biol.*, 110: 37-47.
- Kitano, T., Matsuoka, N. and Saitou, N. (1997), Phylogenetic relationship of the genus *Oncorhynchus* species inferred from nuclear and mitochondrial markers., *Gene & Genetic Systems*, 72, pp. 25-34.
- Lee, H.J., J.Y. Park, J.H. Lee, K.S. Min, I.G. Jeon, M.A. Yoo and W.H. Lee. 2000. Phylogeny of the subfamily Salmonidae distributed in Korea based upon nucleotide sequences of mitochondrial ribosomal RNA genes. *J. Korean Fish. Soc.*, 33, 103-109.
- Mattson, C. R., R. G. Rowland, and R. A. Hobart, 1964. Chum salmon studies in southern Alaska, 1963. U.S. Fish Wild. Serv. Biol. Lab. Auke Bay, MS, Rep. MR 64-8, 22pp.
- McConnell, S., L. Hamilton, D. Morris, D. Cook, D. Paquet, P. Bentzen and J. Wright (1995), Isolation of salmonid microsatellite loci and their application to the population genetics of Canadian east coast stocks of Atlantic salmon, *Aquaculture*, 137, pp. 19-30.
- McKay, S.J., R.H. Devlin and M.J. Smith. 1996. Phylogeny of Pacific salmon and trout based on growth hormone type-2 and mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 3 DNA sequences. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 53, 1165-1176.
- McPhail, J.D. and C.C. Lindsey. 1970. Freshwater fishes of northwestern Canada and Alaska. *Bull. Fish. Res. Board Can.*, 173, 381.

- McPhail, J.D. and C.C. Lindsey. 1986. Zoogeography of the freshwater fishes of Cascadia (the Columbia system and rivers north to the Stikine). In; Zoogeography of North American freshwater fishes, C.H. Hocutt and E.O. Wiley ed. Wiley and Sons, New York, N.Y., pp. 615-637.
- Moilanen, J. and K. Majamaa. 2003. Phylogenetic network and physicochemical properties of nonsynonymous mutations in the protein-coding genes of human mitochondrial DNA. *Mol. Biol. Evol.* 20(8): 1195-1210.
- Myoung, J.G. and C.W. Park. 1992. Morphological and taxonomic studies of *Oncorhynchus* sp. in Korea. Korea Ocean Research and Development Institute. BSPE 00254-420-3. (in Korean)
- Nei, M., T. Maruyama and R. Chakraborty, 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evol.*, 29, 1-10.
- Nelson, R.J., T.D. Beacham and M.P. Small. 1998. Microsatellite analysis of the population structure of a Vancouver Island sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) stock complex using nondenaturing gel electrophoresis. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, 7, 312-319.
- O'Connell, M., D. O. F. Skibinski, and J. A. Beardmore (1995), Genetic variation in stocked populations of Atlantic salmon., *Aquaculture*, 137, pp. 54-55.
- O'Connell, M., D.O.F. Skibinski and J.A. Beardmore. 1996. Allozyme and mtDNA divergence between Atlantic salmon populations in North Wales. *J. Fish Biol.*, 48, 1023-1026.
- Olsen, J.B., P. Bentzen and J.E. Seeb. 1998. Characterization of seven microsatellite loci derived from pink salmon. *Mol. Ecol.*, 7, 1083-1090.

- Seong, K.B. 1999. Biological characteristics and population genetics of salmonid species from Korea. Ph.D. dissertation, Pukyong University, 125. (in Korean)
- Smith, C. T., Ben F. Koop and R. John Nelson (1998), Isolation and characterization of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) microsatellites and their use in other salmonids, *Molecular Ecology*, 7, pp. 1613-1621.
- Snedecor, G. W., 1946. *Statistical Methods: Applied to Experiments in Agriculture and Biology*. Iowa State University Press, Ames., 485pp.
- Sunnucks, P. (2000), Efficient genetic markers for population biology, *TREE* (Trends Ecol. Evol.), 15, pp. 199-203.
- Takagi, K., K. V. Aro, A.C. Hartt, and M.B. Dell (1981), Distribution and origin of pink salmon (*Oncorhynchus gorbuscha*) in offshore waters of North Pacific Ocean., *Int. North Pac. Fish. Comm. Bull.*, 40, pp. 190.
- Tanaka, H., Y. Takagi, and Y. Naito. 2000. Behavioural thermoregulation of chum salmon during homing migration in coastal waters. *The Journal of Experimental Biology*. 203: 1825-1833.
- Taylor, E.B., T.D. Beacham and M. Kaeriyama. 1994. Population structure and identification of north Pacific ocean chum salmon (*Oncorhynchus keta*) revealed by an analysis of minisatellite DNA variation. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 51, 1430-1442.
- Utter, F.M., S.G. Campton, G. Miller, J. Seeb and L. Wishard. 1980. Population structure of indigenous salmonid species of the Pacific Northwest. In: *Salmonid ecosystems of the North Pacific*, W.J. McNeil and D.C. Himsworth, ed. Oregon University Press, pp. 285-304.

Wright, J.M. and P. Bentzen. 1994. Microsatellites : genetic markers for the future. Fish Biol. Fish., 4, 384-388.

Zhang, Z., R. J. Beamish (2000), Use of otolith microstructure to study life history of juvenile chinook salmon in the Strait of Georgia in 1995 and 1996, Fisheries Research, 46, pp. 239-250.

徳井利信, 1988. 支笏湖におけるヒメマスの年齢と成長. 水産増殖 36, 137-143.

田口喜三郎, 1966. 太平洋産サケ・マス資源とその漁業. 恒星社厚生閣, 東京, 日本, pp 390.

眞山 紘, 1977. サケ・マス親魚の生態調査 I. 千歳川におけるサケ親魚のそ上活動の日周変動. 北海道さけ・ますふ化場研究報告, 31, 21-28.



# 여 백

Appendix III-3.1 The data set for chum salmon samples

<b>1997</b>		<b>Korea</b>			
chum salmon	length(mm)	weight(g)	sex	otolith-weight(1)-mg	otolith-weight(2)-mg
1	605	2080	m	10.6	
2	643	2930	m	8.7	
3	652	2945	m	12.0	11.1
4	566	1790	m	7.1	
5	642	2575	m		
6	734	4380	m	9.2	8.3
7	603	2285	m	9.3	8.9
8	505	1280	m	5.7	
9	618	2465	m	6.7	7.1
10	624	2665	m	7.3	7.6
11	719	4230	m	10.3	10.3
12	682	3220	m	10.2	10.1
13	615	2220	m	9.6	9.8
14	499	1105	m	5.8	6.2
15	709	3390	m	5.0	12.3
16	646	3185	m	8.5	8.3
17	679	3130	m	12.4	12.1
18	692	3165	f	11.3	11.4
19	694	2995	f	10.1	10.2
20	613	2535	f	6.8	
21	617	2375	f	8.8	8.8
22	607	2490	f	7.3	8.4
23	608	2090	f	6.3	6.1
24	630	3365	f	10.6	10.6
25	691	3455	f	11.6	10.8
26	632	2765	f	8.8	8.2
27	628	2560	f	8.0	8.3
28	654	2865	f	8.1	7.8
29	647	2745	f	8.4	8.8
30	691	3265	f	12.3	12.2
31	612	2355	f	8.4	8.4
32	633	2650	f	10.0	9.4
<b>average</b>	<b>637</b>	<b>2736</b>		<b>8.9</b>	<b>9.3</b>
<b>std</b>	<b>53</b>	<b>696</b>		<b>2.0</b>	<b>1.7</b>

(Appendix III-3.1, continued)

<b>1998</b>		<b>Korea</b>				
chum salmon	length(mm)	weight(g)	sex	otolith-weight(1)-mg	otolith-weight(2)-mg	
1	640	3090	f	5.3	5.6	
2	608	2420	f	11.0	10.6	
3	716	4160	f	12.1	11.6	
4	628	2600	f	10.6		
5	635	2370	f	5.5	5.3	
6	645	2890	f	8.2	9.2	
7	624	2730	f	8.6	8.3	
8	618	2330	f	10.6	10.8	
9	608	2420	f	7.3	7.8	
10	634	2590	f	8.6		
11	690	3500	f	7.6		
12	666	3140	f	9.6	9.6	
13	544	1560	f	6.4	6.2	
14	664	2960	f	8.9	9.4	
15	554	1760	m	6.8	6.5	
16	726	4350	m	12.4	11.5	
17	514	1320	m			
18	602	2130	m	8.0	4.2	
19	573	1900	m	7.4		
20	603	2060	m	6.8	7.0	
21	664	3120	m	10.9		
22	676	3050	m	9.1	8.7	
23	557	1690	m	6.9	6.9	
24	664	2900	m	9.0		
25	649	2880	m	9.9	8.3	
26	548	1740	m	7.7		
27	592	1990	m	9.0	8.3	
28	654	2600	m	7.5	7.9	
29	634	2630	m	7.8	7.8	
30	608	2450	m	8.9	9.7	
<b>average</b>	<b>625</b>	<b>2578</b>		<b>8.6</b>	<b>8.2</b>	
<b>std</b>	<b>51</b>	<b>702</b>		<b>1.8</b>	<b>2.0</b>	

(Appendix III-3.1, continued)

<b>1999</b>		<b>Korea</b>				
chum	salmon	length(mm)	weight(g)	sex	otolith-weight(1)-mg	otolith-weight(2)-mg
1		695	3770	f	10.17	7.9
2		662	3020	f	8.2	8.5
3		636	2530	f	9.14	9.4
4		681	3180	f	8.1	8.8
5		742	3180	f	14.11	13.9
6		681	3310	f	9.9	
7		659	3100	f	10.54	10.1
8		672	3260	f	11.3	11.3
9		675	3210	f	8	8.6
10		720	4180	f	11.02	11.5
11		720	3990	f	10.2	
12		676	3330	f	9.5	9.4
13		658	2770	f	8.1	
14		689	3600	f	10.7	10.4
15		760	4780	m	8.4	8.7
16		730	3900	m	10.2	
17		562	1700	m	8.4	8.4
18		663	3210	m	11.3	10.6
19		653	2770	m	7.4	7.4
20		638	2500	m	9.0	8.6
21		668	3240	m	10.2	9.5
22		628	2730	m	8.4	8.5
23		576	2010	m	8.2	8.3
24		642	2890	m	10.8	
25		646	2880	m	9.5	9.1
26		628	2400	m	7.2	7.0
27		579	2080	m	7.3	
28		578	1820	m	8.8	8.7
29		592	1990	m	8.0	7.6
30		674	3010	m	10.7	9.7
<b>average</b>		<b>659</b>	<b>3011</b>		<b>9.4</b>	<b>9.2</b>
<b>std</b>		<b>49</b>	<b>713</b>		<b>1.5</b>	<b>1.5</b>

(Appendix III-3.1, continued)

<b>2000</b>	<b>Korea</b>	<b>YangYang</b>	
<b>chum salmon</b>	<b>length(mm)</b>	<b>weight(g)</b>	<b>sex</b>
1	735	4092	f
2	790	5660	f
3	770	4700	f
4	750	3828	f
5	715	4060	f
6	690	3206	f
7	665	3060	f
8	695	3424	f
9	795	4832	f
10	650	3118	f
11	740	3862	m
12	695	3636	m
13	708	3552	m
14	760	3940	m
15	772	4926	m
16	670	3588	m
17	745	4288	m
18	750	4116	m
19	705	3854	m
20	795	5430	m
<b>average</b>	<b>730</b>	<b>4059</b>	
<b>std</b>	<b>44</b>	<b>728</b>	

(Appendix III-3.1, continued)

<b>2000</b>	<b>Korea</b>	<b>Samchuk</b>	
chum salmon	length(mm)	weight(g)	sex
1	660	2500	f
2	650	2400	f
3	600	2000	f
4	630	1600	f
5	560	1600	f
6	660	2600	f
7	620	2000	f
8	570	1600	f
9	680	3100	f
10	570	1600	f
11	510	1100	m
12	600	1700	m
13	610	1700	m
14	520	1100	m
15	570	1400	m
16	520	1100	m
17	580	1400	m
18	690	2500	m
19	610	2000	m
20	560	1400	m
21	670	2400	f
22	630	2200	f
23	640	2200	f
<b>average</b>	<b>605</b>	<b>1878</b>	
<b>std</b>	<b>52</b>	<b>542</b>	

(Appendix III-3.1, continued)

<b>2000</b>	<b>Korea</b>	<b>Uljin</b>	
chum salmon	length(mm)	weight(g)	sex
1	660	2400	f
2	740	3200	f
3	580	1800	f
4	580	2000	f
5	600	3200	f
6	500	1500	f
7	630	2000	f
8	630	2000	f
9	600	1900	f
10	610	1900	f
11	760	4300	m
12	600	1800	m
13	650	2400	m
14	590	1600	m
15	700	3100	m
16	620	2100	m
17	640	1900	m
18	580	1500	m
19	600	1600	m
20	600	1700	m
21	670	2400	m
22	710	3000	m
23	600	1500	m
24	660	2600	m
25	680	2800	m
<b>average</b>	<b>632</b>	<b>2248</b>	
<b>std</b>	<b>57</b>	<b>695</b>	

(Appendix III-3.1, continued)

<b>1997</b>		<b>USA</b>				
chum salmon	length (TSFT)	length (MEFT)	weight(g)	sex	otolith -weight(1)-mg	otolith -weight(2)-mg
1	700	647	3500	f	16.8	
2	688	637	3000	m	11.3	15.6
3	785	695	5100	m	13.7	11.7
4	780	72	4700	m	7.6	10.0
5	737	653	3700	m	11.1	14.8
6	777	692	5000	m	15.0	14.1
7	782	693	5100	m	10.5	12.7
8	703	646	3300	f	7.3	11.0
9	686	642	2900	f	14.1	16.3
10	703	648	3600	f	10.2	8.8
11	704	649	3000	f	13.1	8.6
12	756	700	4300	f	10.2	9.9
13	618	580	1900	f	9.6	
14	695	622	3200	m	8.5	8.8
15	715	639	3500	m	12.7	10.2
16	753	662	4600	m	13.0	10.2
17	754	671	5000	m	9.9	12.2
18	790	704	5100	m	12.2	13.1
19	687	636	2800	f	12.0	
20	794	715	5300	m	12.8	13.6
21	648	605	2300	f	10.1	11.8
22	717	665	3500	m	10.8	14.3
23	693	643	2900	m	14.3	14.0
24	703	651	3100	m	11.0	
25	742	659	4200	m	10.0	9.6
26	798	699	5600	m	12.9	13.2
27	743	669	4800	m	14.6	8.7
28	803	714	5800	m	13.5	12.4
29	720	651	3700	m	8.5	10.2
30	700	715	6600	m	12.5	11.1
<b>average</b>	<b>729</b>	<b>642</b>	<b>4037</b>		<b>12</b>	<b>12</b>
<b>std</b>	<b>47</b>	<b>113</b>	<b>1139</b>		<b>2</b>	<b>2</b>

length(tsft): Tips of Snout to Fork of Tail

length(meft): Mid Eyd to Fork of Tail



(Appendix III-3.1, continued)

<b>1998</b>	<b>USA</b>		
<b>chum salmon</b>	<b>sex</b>	<b>otolith-weight(1)-mg</b>	<b>otolith-weight(2)-mg</b>
1	f	13.3	14.1
2	f	11.8	13.0
3	f	8.4	7.9
4	f	9.5	9.7
5	f	10.4	8.8
6	f	13.6	13.8
7	f	11.0	7.9
8	f	15.1	16.0
9	f	12.3	
10	f	11.4	10.4
11	f	10.8	
12	f	12.7	12.4
13	f	12.4	12.7
14	f	9.2	10.6
15	f	10.3	9.1
16	f	15.1	11.1
17	f	8.6	8.1
18	f	9.1	5.0
19	f	15.4	13.2
20	f	9.6	11.2
<b>average</b>		<b>11.5</b>	<b>10.8</b>
<b>std</b>		<b>2.2</b>	<b>2.8</b>

at Quilcene National Fish Hatchery- Quilcene, WA. On December 3, 1998

We sampled 20 female chum salmon

liver, fresh, otolith

(Appendix III-3.1, continued)

1999		USA				
chum salmon	length (MEHP)	length (MEFT)	weight(g)	sex	otolith -weight(1)-m g	otolith -weight(2)-mg
1	600	675	4500	m	11.1	11.8
2	607	675	5400	m	14.7	11.5
3	538	615	3900	m	11.2	9.4
4	594	657	4200	m	15.9	15.1
5	595	657	4200	m	10.3	11.2
6	603	677	4300	m	11.0	13.9
7	606	675	4800	m	11.6	8.0
8	596	613	4000	m	10.7	8.0
9	601	678	4700	m	9.2	9.6
10	553	614	3000	m	13.8	13.0
11	572	650	3900	m	7.8	7.8
12	603	676	5100	m	11.5	15.4
13	565	640	4000	m	9.9	9.5
14	638	718	5900	m	14.1	11.7
15	621	692	5900	m	14.0	13.5
16	613	684	4300	m	12.9	11.0
17	588	662	4700	m	13.8	10.4
18	578	650	4000	m	10.8	
19	578	650	4000	m	13.8	14.6
20	597	666	5300	m	10.2	6.9
<b>average</b>	<b>592</b>	<b>661</b>	<b>4505</b>		<b>11.9</b>	<b>11.2</b>
<b>std</b>	<b>23</b>	<b>27</b>	<b>730</b>		<b>2.1</b>	<b>2.6</b>

MEFT=Mid-eye fork of tail

(Appendix III-3.1, continued)

<b>2000</b>	<b>USA</b>		
chum salmon	length(MEFT)	years	sex
1	642	4	m
2	596	3	m
3	671	4	m
4	642	3	m
5	579	3	m
6	625	3	m
7	625	3	m
8	618	3	f
9	642	4	m
10	694	4	m
11	589	3	m
12	637	3	m
13	643	4	m
14	699	4	m
15	667	4	m
16	642	3	m
17	675	5	m
18	585	3	m
19	680	4	m
20	605	3	m
21	659	4	m
22	620	3	m
23	621	3	m
24	586	4	m
25	594	4	m
26	584	3	m
<b>average</b>	<b>632</b>	<b>4</b>	
<b>std</b>	<b>36</b>	<b>1</b>	

(Appendix III-3.1, continued)

<b>1997</b>		<b>Canada</b>				
chum salmon	length(mm)	weight(g)	sex	otolith-weight(1)-mg	otolith-weight(2)-mg	
1	597	5443	f	12.3	13.0	
2	561	4082	f	12.2	10.5	
3	584	4082	f	14.0	8.7	
4	534	4536	m	15.5	17.4	
5	656	8165	m	14.3	18.0	
6	628	7258	m	14.8	14.2	
7	653	8618	m	14.3	13.3	
8	612	6350	m	15.2	17.6	
9	628	8165	m	15.8		
10	603	6350	m	16.1	15.3	
11	623	6804	m	17.2	13.0	
12	588	4990	f	8.1		
13	567	4536	f	10.6	11.0	
14	572	4990	f	11.4	12.2	
15	642	6804	f	12.3	12.5	
16	594	6350	m	15.2	16.3	
17	540	4536	m	12.4	14.0	
18	597	6350	m	18.3		
19	614	6804	m	15.6	15.5	
20	538	4536	m	10.5	12.5	
21	538	5443	m	12.4	13.3	
22	605	6350	m	12.6	5.7	
23	604	6350	m	15.0		
24	588	5443	m	15.2	14.8	
25	628		m	22.4		
26	557	4990	m	13.8	15.8	
27	571	5443	m	13.5	9.1	
28	603	5897	m	17.2	16.5	
29	547	4536	m	11.4	11.3	
30	548	4082	m	12.1		
31	622	5897	f	16.9	18.5	
32	578	3629	m	11.6	11.5	
33	524	3629	m	12.0	11.9	
<b>average</b>	<b>589</b>	<b>5670</b>		<b>14</b>	<b>13</b>	
<b>std</b>	<b>36</b>	<b>1324</b>		<b>3</b>	<b>3</b>	

(Appendix III-3.1, continued)

<b>1998</b>		<b>Canada</b>				
chum salmon	length(mm)	round weight(g)	sex	otolith-weight(1)-mg	otolith-weight(2)-mg	
1	722	4344	f	11.9	11.5	
2	662	3560	m	11.8	11.7	
3	599	2624	m	12.4	11.3	
4	674	3164	f	9.8	9.4	
5	691	4030	f	13.8	13.7	
6	691	4092	m	12.7	12.7	
7	642	3110	m	12.1	12.1	
8	684	4044	m	10.4	8.8	
9	710	4352	f	15.4	14.2	
10	680	3854	f	12.6	12.4	
11	604	2553	m	8.6	8.8	
12	659	3444	f	10.9	9.2	
13	674	3896	f	12.4	11.8	
14	700	4306	f	9.8	13.4	
15	653	3320	f	13.5	13.3	
16	667	3516	m	14.3	13.3	
17	744	5138	m	13.9	14.5	
18	691	3814	m	9.9	11.4	
19	663	3556	m	10.0	11.0	
20	630	2965	m	10.3	10.3	
<b>average</b>	<b>672</b>	<b>3684</b>		<b>12</b>	<b>11.7</b>	
<b>std</b>	<b>36</b>	<b>635</b>		<b>2</b>	<b>1.8</b>	

(Appendix III-3.1, continued)

<b>1999</b>		<b>Canada</b>				
<b>chum</b>	<b>salmon</b>	<b>length(mm)</b>	<b>round weight(g)</b>	<b>sex</b>	<b>otolith-weight(1)-mg</b>	<b>otolith-weight(2)-mg</b>
1		747	4802	m	12.4	11.6
2		749	5297	m	14.5	
3		743	5520	f	11.2	12.7
4		758	5267	m	9.9	10.8
5		719	4435	f	13.9	14.6
6		739	4465	m	10.3	9.9
7		787	6224	m	19.3	19.1
8		729	3025	m	13.5	11.2
9		748	5027	f	12.8	12.7
10		703	4473	f	10.9	9.2
11		735	4942	f	12.3	12.5
12		732	5079	m	12.2	13.8
13		673	3553	m	12.9	12.4
14		715	4320	f	14.8	13.2
<b>average</b>		<b>734</b>	<b>4745</b>		<b>12.9</b>	<b>12.6</b>
<b>std</b>		<b>27</b>	<b>804</b>		<b>2.4</b>	<b>2.5</b>

(Appendix III-3.1, continued)

<b>2001</b>		<b>Canada</b>			
chum salmon	length(mm)	round weight(g)	sex	scale sample	Number of otoliths
1	695	4170	m	FR01	2
2	800	6400	m	FR02	2
3	705	4660	f	FR03	1
4	740	4870	m	FR04	2
5	715	4500	m	FR05	2
6	695	4140	f	FR06	2
7	720	4750	m	FR07	2
8	710	4720	f	FR08	2
9	715	4860	m	FR09	2
10	690	4140	m	FR10	2
11	725	5100	f	FR11	2
12	710	4550	m	FR12	2
13	715	5250	f	FR13	2
14	675	4150	m	FR14	2
15	695	3840	f	FR15	1
16	680	3990	f	FR16	1
17	715	4390	m	FR17	2
18	735	4740	f	FR18	2
19	745	5010	f	FR19	2
20	665	3900	f	FR20	2
<b>average</b>	<b>712</b>	<b>4607</b>			
<b>std</b>	<b>29</b>	<b>589</b>			

(Appendix III-3.1, continued)

<b>1997</b>	<b>Japan</b>	
chum salmon	length(mm)	otolith-weight(1)-mg
1	598	6.8
2	685	6.4
3	692	9.9
4	690	3.8
5	683	4.8
6	762	10.5
7	735	9.1
8	711	11.4
9	705	8.0
10	726	8.5
11	645	6.8
12	685	6.6
13	685	6.9
14	760	7.8
15	625	5.9
16	670	6.8
17	685	6.2
18	635	9.0
19	660	10.8
20	665	8.5
21	695	8.1
22	690	10.7
23	680	9.0
24	675	8.6
25	630	6.5
27	725	6.7
28	750	11.9
29	680	7.4
30	720	9.0
<b>average</b>	<b>681</b>	<b>8.0</b>
<b>std</b>	<b>36</b>	<b>1.7</b>



(Appendix III-3.1, continued)

<b>1998</b>		<b>Japan</b>			
<b>chum</b>	<b>salmon</b>	<b>length(mm)</b>	<b>weight(g)</b>	<b>sex</b>	<b>otolith-weight(1)-mg</b>
1		640	2740	f	9.2
2		635	2660	f	9.7
3		635	2650	f	6.9
4		590	2060	f	7.9
5		710	3960	m	10.6
6		695	3100	m	9.2
7		710	4040	m	6.5
8		630	2720	f	8.2
9		670	3150	f	7.8
10		640	2860	f	9.8
11		580	2000	m	5.9
12		665	3160	m	10.5
13		600	2300	m	10.2
14		585	2020	m	6.0
15		675	3200	m	9.6
16		585	2240	f	7.7
17		665	3280	f	12.9
18		585	2300	f	5.8
19		635	2670	f	7.4
20		665	2720	m	8.7
21		640	2940	m	7.8
22		555	1870	m	7.0
23		585	2270	m	7.2
<b>average</b>		<b>634</b>	<b>2735</b>		<b>8.3</b>
<b>std</b>		<b>44</b>	<b>579</b>		<b>1.8</b>

(Appendix III-3.1, continued)

<b>2000</b>		<b>Japan-Hakodate hatchery</b>		
<b>chum salmon</b>	<b>length(mm)</b>	<b>weight(g)</b>	<b>sex</b>	
1	798	5400	f	
2	654	3255	f	
3	640	3040	f	
4	724	4590	f	
5	728	4640	f	
6	656	2810	f	
7	706	4420	f	
8	654	2990	f	
9	625	2690	f	
10	704	3940	f	
11	736	4210	m	
12	736	4200	m	
13	742	4660	m	
14	692	3560	m	
15	704	4010	m	
16	696	3290	m	
17	706	4180	m	
18	692	3540	m	
19	632	2630	m	
20	672	3760	m	
<b>average</b>	<b>695</b>	<b>3791</b>		
<b>std</b>	<b>43</b>	<b>763</b>		

(Appendix III-3.1, continued)

<b>2000</b>		<b>Japan-Shokanbetsu river</b>		
chum salmon	length(mm)	weight(g)	sex	
1	690	3700	f	
2	650	3400	f	
3	660	3500	f	
4	650	3300	f	
5	680	3500	f	
6	670	3400	f	
7	660	3200	f	
8	670	3600	f	
9	630	2900	f	
10	560	2100	f	
11	620	3000	m	
12	700	3800	m	
13	690	3600	m	
14	720	3800	m	
15	630	2900	m	
16	690	3700	m	
17	610	2700	m	
18	690	2700	m	
19	620	2700	m	
20	620	2600	m	
21	570	2100	f	
22	550	1800	f	
23	510	1100	m	
24	510	1400	m	
25	520	1600	m	
26	580	2200	m	
<b>average</b>	<b>629</b>	<b>2858</b>		
<b>std</b>	<b>62</b>	<b>792</b>		

(Appendix III-3.1, continued)

<b>2001</b>		<b>Japan-Shokanbetsu river</b>		
chum salmon	length(mm)	weight(g)	sex	
1	660	2650	f	
2	695	3400	f	
3	620	2450	f	
4	665	3100	f	
5	670	2900	f	
6	620	2500	f	
7	650	2450	f	
8	610	2500	f	
9	680	3100	f	
10	700	3400	f	
11	640	2550	f	
12	680	3250	f	
13	675	3050	f	
14	685	3450	f	
15	675	3250	f	
16	725	3650	f	
17	655	2550	f	
18	650	2450	f	
19	700	3450	f	
20	670	3200	f	
21	7200	4500	m	
22	7750	5450	m	
23	6850	3800	m	
24	7200	5200	m	
25	6750	3150	m	
26	6800	3700	m	
27	6400	3350	m	
28	6950	3900	m	
29	7250	4450	m	
30	7200	4500	m	
31	7050	4150	m	
32	6350	3050	m	
33	6550	3200	m	
34	6950	4100	m	
35	5700	2000	m	
36	6700	3500	m	
37	5800	2100	m	
38	6950	4200	m	
39	6500	3350	m	
40	5650	2050	m	
<b>average</b>	<b>6728</b>	<b>3685</b>		
<b>std</b>	<b>546</b>	<b>953</b>		

여 백

Appendix III-7.1. The COIII-ND3-ND4L sequences of the salmon samples investigated

	1	60
KS01	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS02	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS03	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
KS04	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
KS05	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS06	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS07	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
KS08	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
KS09	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS10	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS11	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS12	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
KS13	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS14	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS15	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS16	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS17	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS18	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS19	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS20	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
KS21	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS22	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS23	TCCACTTTCTTTGTCACCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS24	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS25	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS26	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS27	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS28	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS29	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS30	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS31	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
KS32	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACTTTT	
AS01	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
AS02	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
AS03	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
AS04	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
AS05	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
AS06	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
AS07	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
AS08	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
AS09	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	
AS10	TCCACTTTCTTTGTCGCCACAGGATTCCACGGCCTACACGTAATCATCGGCTCTACCTTT	

















































































(Appendix III-7.1. continued)

	721	744
KS01	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS02	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS03	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS04	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS05	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS06	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS07	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS08	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS09	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS10	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS11	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS12	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS13	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS14	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS15	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS16	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS17	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS18	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS19	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS20	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS21	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS22	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS23	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS24	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS25	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS26	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS27	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS28	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS29	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS30	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS31	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
KS32	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS01	CAGCCTTTATTTTAGGGCTTATAG	
AS02	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS03	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS04	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS05	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS06	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS07	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS08	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS09	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS10	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	

(Appendix III-7.1. continued)

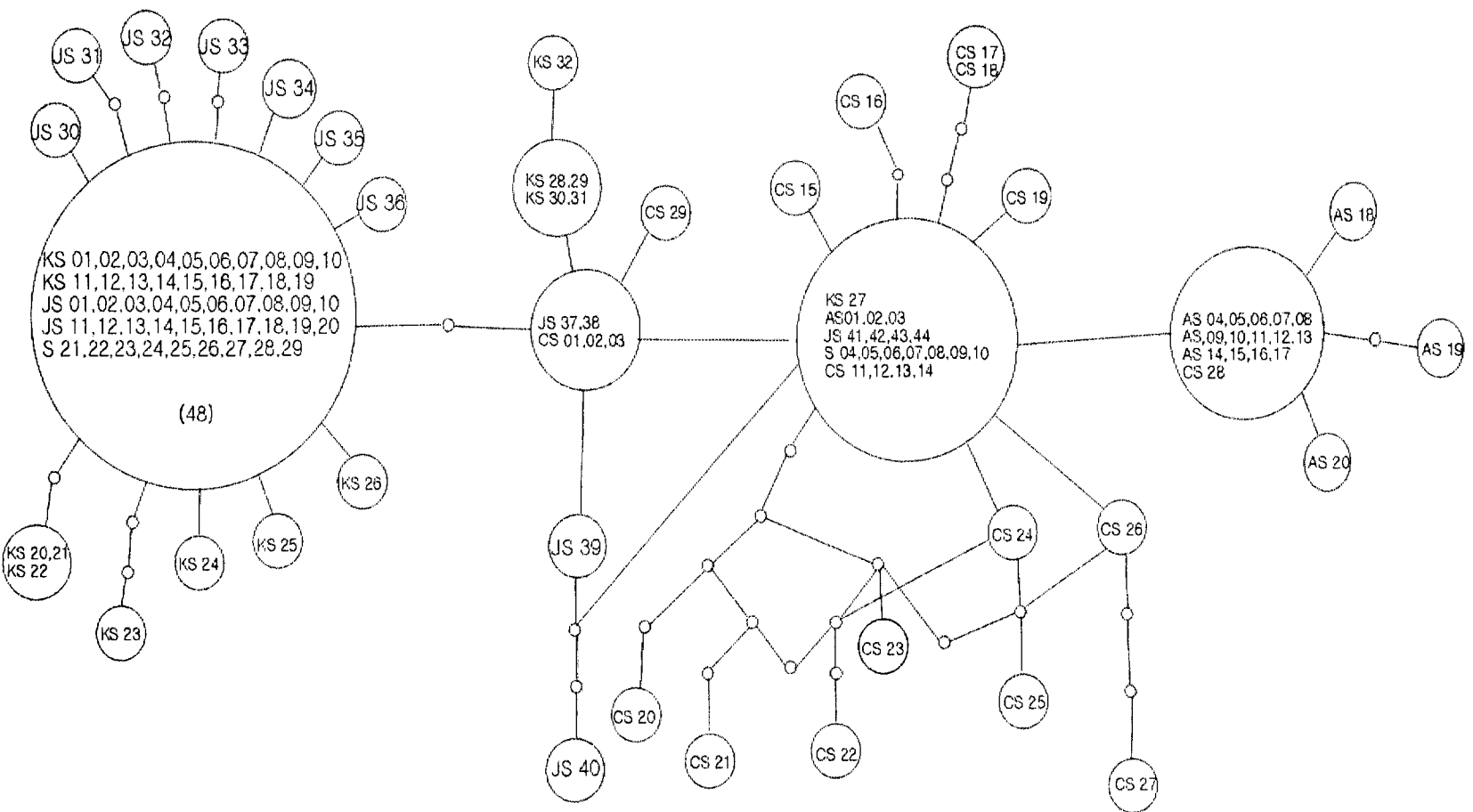
	721	744
AS11	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS12	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS13	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS14	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS15	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS16	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS17	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS18	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS19	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
AS20	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS01	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS02	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS03	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS04	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS05	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS06	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS07	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS08	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS09	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS10	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS11	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS12	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS13	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS14	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS15	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS17	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS18	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS19	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS20	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS21	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS22	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS23	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS24	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS25	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS26	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS27	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS28	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS29	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS30	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS31	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS32	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	

(Appendix III-7.1. continued)

	721	744
JS33	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS34	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS35	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS36	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS37	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS38	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS39	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS40	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS41	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS42	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS43	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
JS44	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS01	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS02	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS03	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS04	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS05	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS06	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS07	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS08	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS09	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS10	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS11	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS12	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS13	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS14	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS15	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS16	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS17	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS18	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS19	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS20	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS21	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS22	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS23	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS24	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS25	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS26	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS27	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS28	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	
CS29	CAGCCTTTATTCTAGGGCTTATAG	

여 백

Appendix III-7.2. The phylogenetic relationship among the salmon samples based on COIII-ND3-ND4L sequences depicted by TCS program



# 여 백

Appendix III-7.3. The migration rates between populations examined by MIGRATE  
(results of several runs)

=====  
MCMC estimates (Salmon Outfile #1-1)  
=====

Population [x]	Loc.	Ln(L)	Theta [4Ne mu]	4Nm [x=receiving population]			
				1,x	2,x	3,x	4,x
1: Korea	1	12.380	0.00285	-----	1.1021	0.3133	2.81e-16
2: America	1	12.380	0.00069	6.44e-17	-----	6.76e-17	0.1079
3: Japan	1	12.380	0.05894	255.5364	2.52e-14	-----	5.88e-15
4: Canada	1	12.380	0.09784	1.92e-09	96.0737	9.33e-15	-----

Comments:

There were 10 short chains (5000 used trees out of sampled 100000)  
and 3 long chains (50000 used trees out of sampled 1000000)

=====  
MCMC estimates (Salmon Outfile #1-2)  
=====

Population [x]	Loc.	Ln(L)	Theta [4Ne mu]	4Nm [x=receiving population]			
				1,x	2,x	3,x	4,x
1: Korea	1	10.409	0.00191	-----	2.50e-13	0.8220	0.6047
2: America	1	10.409	0.00033	3.71e-13	-----	0.3120	0.3602
3: Japan	1	10.409	0.08086	528.7635	7.57e-15	-----	18.1809
4: Canada	1	10.409	0.09846	9.57e-15	159.5642	12.4934	-----

Comments:

There were 10 short chains (5000 used trees out of sampled 100000)  
and 3 long chains (50000 used trees out of sampled 1000000)

=====  
MCMC estimates (Salmon Outfile #1-3)  
=====

Population [x]	Loc.	Ln(L)	Theta [4Ne mu]	4Nm [x=receiving population]			
				1,x	2,x	3,x	4,x
1: Korea	1	9.208	0.00142	-----	6.13e-11	1.46e-16	1.0607
2: America	1	9.208	0.00013	1.26e-17	-----	2.16e-15	1.2400
3: Japan	1	9.208	0.05040	315.9044	2.90e-14	-----	53.0874
4: Canada	1	9.208	0.23024	7.2576	616.7280	2.30e-14	-----

Comments:

There were 10 short chains (5000 used trees out of sampled 100000)  
and 3 long chains (50000 used trees out of sampled 1000000)



(Appendix III-7.3. continued)

=====  
MCMC estimates (Salmon Outfile #1-4)  
=====

Population [x]	Loc.	Ln(L)	Theta [4Ne mu]	4Nm [x=receiving population]			
				1,x	2,x	3,x	4,x
1: Korea	1	12.765	0.00342	-----	0.4730	3.35e-12	1.31e-11
2: America	1	12.765	0.00034	3.20e-17	-----	3.37e-17	0.3621
3: Japan	1	12.765	0.01019	94.2023	9.63e-16	-----	5.4479
4: Canada	1	12.765	0.06181	5.78e-15	85.4466	5.79e-15	-----

Comments:

There were 10 short chains (5000 used trees out of sampled 100000)  
and 3 long chains (50000 used trees out of sampled 1000000)

=====  
MCMC estimates (Salmon Outfile #1-5)  
=====

Population [x]	Loc.	Ln(L)	Theta [4Ne mu]	4Nm [x=receiving population]			
				1,x	2,x	3,x	4,x
1: Korea	1	5.991	0.00489	-----	4.58e-16	1.5347	0.8796
2: America	1	5.991	0.00054	5.05e-17	-----	1.89e-14	0.4345
3: Japan	1	5.991	0.01253	72.6673	1.18e-15	-----	9.7771
4: Canada	1	5.991	0.43586	4.11e-09	706.1200	4.14e-14	-----

Comments:

There were 10 short chains (5000 used trees out of sampled 100000)  
and 3 long chains (50000 used trees out of sampled 1000000)

=====  
MCMC estimates (Salmon Outfile #1-6)  
=====

Population [x]	Loc.	Ln(L)	Theta [4Ne mu]	4Nm [x=receiving population]			
				1,x	2,x	3,x	4,x
1: Korea	1	12.482	0.00053	-----	1.57e-12	0.5944	0.8476
2: America	1	12.482	0.00029	4.97e-17	-----	0.0719	0.1800
3: Japan	1	12.482	0.00431	166.4685	2.74e-15	-----	67.2641
4: Canada	1	12.482	0.29622	7.5127	324.7828	93.9362	-----

Comments:

There were 10 short chains (5000 used trees out of sampled 100000)  
and 3 long chains (50000 used trees out of sampled 1000000)

(Appendix III-7.1. continued)

```
=====  
MCMC estimates (Salmon Outfile #1-7)  
=====  
Population [x] Loc. Ln(L) Theta 4Nm [x=receiving population]  
[4Ne mu] 1,x 2,x 3,x 4,x  
-----  
1: Korea 1 5.360 0.00377 ----- 0.2186 0.2953 0.6569  
2: America 1 5.360 0.00013 1.27e-17 ----- 0.0699 0.6108  
3: Japan 1 5.360 0.00479 81.8725 2.70e-13 ----- 17.2313  
4: Canada 1 5.360 0.07752 8.83e-11 120.5676 2.4135 -----
```

Comments:

There were 10 short chains (5000 used trees out of sampled 100000)  
and 3 long chains (50000 used trees out of sampled 1000000)

```
=====  
MCMC estimates (Salmon Outfile #1-8)  
=====  
Population [x] Loc. Ln(L) Theta 4Nm [x=receiving population]  
[4Ne mu] 1,x 2,x 3,x 4,x  
-----  
1: Korea 1 7.037 0.00193 ----- 1.75e-10 0.1470 1.1578  
2: America 1 7.037 0.00064 5.95e-17 ----- 0.3878 0.3451  
3: Japan 1 7.037 0.00138 23.0969 3.4471 ----- 11.4413  
4: Canada 1 7.037 0.54926 5.32e-14 683.9593 277.2318 -----
```

Comments:

There were 10 short chains (5000 used trees out of sampled 100000)  
and 3 long chains (50000 used trees out of sampled 1000000)