

종묘방류에 따른 넙치, *Paralichthys olivaceus* 지역집단의 유전학적 구조

정달상 · 전창영*

국립수산과학원 방류종묘기술센터

Genetic Variability and Population Structure of Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* from Stocked Areas Using Microsatellite DNA Markers by Dal Sang Jeong and Chang Young Jeon* (Marine Seed Releasing Technology Center, NFRDI, Wando 537-806, Korea)

ABSTRACT Five microsatellite DNA markers were used to investigate genetic diversity and population structure of olive flounder *Paralichthys olivaceus* collected from four locations (YD, SC, GJ, WD) where hatchery-based seeds of the flounder have been released. The average of observed (H_o) and expected heterozygosity (H_e) ranged from 0.833 to 0.871, and from 0.842 to 0.876, respectively. The average number of alleles per locus ranged from 12.4 to 17.8. The proportion of stocked flounder ranged from 20.0% to 95.8% for wild-caught populations with a decreasing tendency of alleles per locus following a higher proportion of stocked flounder. There is need to implement a more careful stock-enhancement program of hatchery-based seeds and to monitor its genetic effects on wild populations to ensure conservation of natural flounder resources.

Key words : Flounder, Microsatellite DNA marker, Genetic variation, Population structure

서 론

최근 줄어드는 수산생물자원의 회복, 관리 및 지속적인 이용을 위하여 세계적으로 많은 노력을 하는 가운데 자연 생태계의 보전을 고려한 수산생물자원의 조성에 관심이 높아지고 있으며, 수산종묘의 방류도 하나의 중요한 요소로 적용되고 있다. 우리나라에는 현재 약 40종의 수산종묘가 방류되고 있으며, 넙치 종묘는 2003년부터 2006년까지 연평균 4백만 마리 이상이 방류되었으며, 일본에서는 1998년에 약 26 백만 마리가 방류되었다(Sekino *et al.*, 2003; MO-MAF, 2007).

고감도의 Microsatellite DNA marker를 이용하여 유용 수산자원에 대한 집단별 유전학적 구조와 친자감별에 의한 방류종묘의 유전학적 평가 등에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(Perez-Enrique *et al.*, 1999; Norris *et al.*, 2000; Evans *et al.*, 2004; Jeong *et al.*, 2006, 2007). 특히 넙치의 경우, 집단의 유전학적 구조(Liu *et al.*, 2005), 친자감별(Hara

and Sekino, 2003; Sekino *et al.*, 2003), 방류종묘의 유전자 표지(Sekino *et al.*, 2005), 자연집단과 양식집단의 유전학적 차이(Yoshida *et al.*, 2000; Sekino *et al.*, 2002), 종묘방류를 위한 어미집단의 유효크기 평가(Jeong *et al.*, 2006) 등의 연구가 진행되고 있다. 이러한 연구결과들은 인공적으로 종묘 생산을 위해 사용된 어미집단은 자연집단에 비해 아주 적은 유전자원(gene pool)을 가지고 있으며, 이들 어미로부터 생산된 종묘는 자연집단 뿐 만 아니라 어미집단보다 유전자 빈도 및 대립유전자수가 감소하게 된다고 보고하고 있다(Perez-Enrique *et al.*, 1999; Norris *et al.*, 2000; Yoshida *et al.*, 2000; Sekino *et al.*, 2002, 2003; Hara and Sekino, 2003; Jeong *et al.*, 2006, 2007). 이와 같이 유전적으로 다양성이 떨어진 인공종묘들이 자연생태계에 대량으로 방류되면 그 지역에 서식하고 있는 자연집단의 유전학적 다양성은 감소되고 자연집단의 유효크기를 감소시킬 것으로 예상되고 있다. 특히 Tessier *et al.* (1997)은 이와 같은 종묘의 지속적인 대량방류로 인하여 대서양 연어의 유효 집단크기를 50% 감소시킨다고 보고하였다. 이에 따라 종묘방류의 개념은 유전특성을 이용하여 정의되어야 한다고 주장하고 있으며, 생

*교신저자: 전창영 Tel: 82-61-552-5097, Fax: 82-61-554-9294,
E-mail: cyjeon2@naver.com

태계의 영향을 고려하는 종묘방류가 요구되고 있다(FAO, 1993; Booke, 1999; Evans *et al.*, 2004). 따라서 그 지역에 오랫동안 서식하고 있는 자연집단과 종묘방류에 따른 집단의 유전학적 다양성의 파악은 수산자원의 관리를 위한 아주 중요한 과정이 되었다.

본 연구는 종묘방류의 많은 비중을 차지하고 있는 넙치를 대상으로 종묘방류에 의해 자연집단의 유전학적 다양성에 어느 정도 영향을 주었는지를 파악하기 위해 어획된 지역집단의 다양성을 5개의 microsatellite DNA marker를 이용하여 검토하였다.

재료 및 방법

넙치종묘의 방류에 따른 자연집단의 유전학적 조성과 다양성에 미치는 영향을 분석하기 위하여 전장 5~7 cm 내외의 종묘를 방류한 영덕(YD), 서천(SC), 거제(GJ), 그리고 완도(WD) 연안의 4개 지역집단을 조사하였다(Table 1, Fig. 1). 지역집단은 정치망, 자망에서 어획된 것으로 방류된 넙치와 자연 넙치가 섞여 있는 것을 무작위로 구입하여 총

Table 1. Number of samples and population constituents used in this study

Population	Number of samples	Mean size (cm ± sd)	Composition (%)	
			Released	Wild
Yeongdeok (YD)	71	29.8 ± 5.0	69.0	31.0
Seocheon (SC)	100	37.7 ± 1.3	20.0	80.0
Geojae (GJ)	63	39.5 ± 7.1	88.9	11.1
Wando (WD)	118	33.4 ± 4.6	95.8	4.2

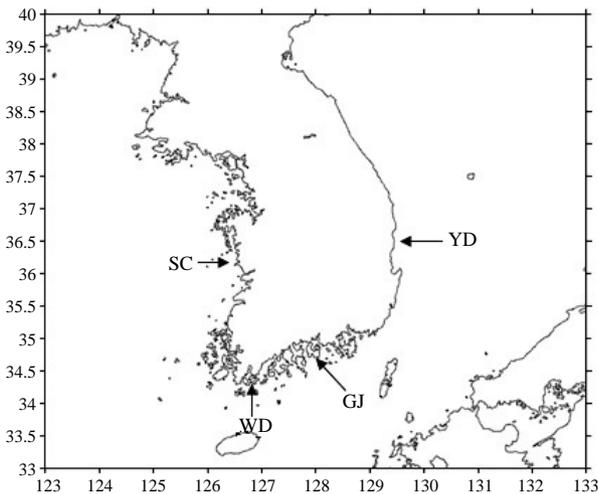


Fig. 1. Map showing sampling locations of the olive flounder *Paralichthys olivaceus* YD, Yeongdeok; SC, Seocheon; GJ, Geojae; WD, Wando.

352마리를 분석하였다. 또한 인공종묘생산 시에 나타나는 무안축의 검은 반점의 유무로 자연어와 방류어를 구분하여 방류어의 혼획율을 조사하였으며, SC 집단과 YD 집단은 방류집단(released population)과 자연집단(wild population)을 구분하여 SC-R 집단, SC-W 집단, YD-R 집단, YD-W 집단으로 나뉘어 유전학적 다양성을 비교 분석하였다.

각 집단별 유전학적 다양성을 분석하기 위한 DNA 시료는 현장에서 살아있는 상태에서 크기를 측정된 후 가슴지느러미의 일부를 채취하여 100% 알코올의 1.5 mL tube에 보관하였다. DNA 추출은 Chelex (Bio-rad)를 이용하였고, microsatellite loci는 Kim *et al.* (2003) 및 Jeong *et al.* (2006)의 방법에 의해 추출된 5개(Kop18, Kop21, Kop22, Kop26, Kop3)를 사용하였으며, 각 시료의 genotype는 DNA 염기서열 분석기(US/ABI Prism 3100, Applied Biosystems)를 이용하여 분석하였다. 집단별 유전적 다양성을 파악하기 위하여 대립유전자수(the number of allele per locus), 이형접합체율(heterozygosity), PIC (polymorphism information content) 등을 Cervus software를 이용하여 분석하였다. 각 유전자좌에 대하여 AMOVA에 의한 Hardy-Weinberg test를 Arlequin software v1.1을 이용하였으며, 유연관계 분석은 Fst와 genetic distance를 Tamura and Nei (1993) 모델에 적용하여 Phylip software를 이용하여 UPGMA dendrogram을 작성하였다.

결 과

조사된 지역집단에서 방류넙치의 혼획율은 YD 집단 69.0%, SC 집단 20.0%, GJ 집단 88.9%, WD 집단 95.8%로 나타났다(Table 1). 각 유전자좌별 대립유전자수는 SC 집단의 Kop26에서 22개로 가장 많았으며 Kop3에서는 5개로 가장 적게 나타났다. 지역집단의 평균 대립유전자수의 범위는 12.4~17.8개이며, 방류어의 비율이 낮은 SC 집단에서 가장 많았으며 방류어의 비율이 높은 GJ 집단이 가장 적었다. 무안축의 흑반점으로 방류어를 구분하여 YD 집단과 SC 집단 내에서 방류집단과 자연집단의 대립유전자수를 비교한 결과, YD 집단의 자연(YD-W) 집단과 방류(YD-R) 집단의 평균 대립유전자수는 각각 12.0개와 12.6개로 YD-R 집단이 YD-W 집단보다 약간 높게 나타났으나, SC 집단의 자연(SC-W) 집단과 방류(SC-R) 집단은 각각 17.6개와 11.2개로 SC-R 집단이 적게 나타났다. 또한 YD-R 집단과 SC-R 집단의 대립유전자수는 방류어의 비율이 가장 높은 WD 집단과 커다란 차이가 없었다(Table 2).

본 조사에서 관측된 이형접합체율(Ho: observed heterozygosity)의 범위는 0.500~0.950이었다. 지역집단의 평균 Ho의 범위는 0.833~0.871으로 GJ 집단이 높았고 WD 집단이

Table 2. Genetic variability of five microsatellite loci in four populations of the olive flounder *Paralichthys olivaceus*

Locus	YD			SC			GJ	WD
	Total	Wild	Released	Total	Wild	Released		
Kop18								
S	71	22	49	100	80	20	63	85
N(a _e)	16 (8.2)	12 (5.7)	15 (7.3)	20 (10.8)	19 (9.7)	14 (10.8)	18 (9.9)	14 (8.9)
Ho	0.887	0.909	0.878	0.910	0.900	0.950	0.889	0.894
He	0.885	0.844	0.872	0.912	0.903	0.931	0.907	0.893
PIC	0.868	0.808	0.852	0.900	0.889	0.900	0.892	0.878
Kop21								
S	71	22	49	100	80	20	63	85
N(a _e)	18 (7.2)	14 (9.4)	13 (6.2)	21 (13.4)	21 (14.0)	12 (5.7)	16 (8.3)	15 (7.8)
Ho	0.915	0.909	0.918	0.920	0.913	0.950	0.889	0.882
He	0.869	0.914	0.847	0.930	0.935	0.845	0.887	0.877
PIC	0.851	0.885	0.822	0.921	0.924	0.805	0.869	0.860
Kop22								
S	71	22	49	100	80	20	63	85
N(a _e)	15 (7.0)	14 (9.3)	12 (5.9)	21 (11.5)	21 (11.6)	12 (9.1)	14 (8.6)	13 (8.0)
Ho	0.901	0.864	0.918	0.890	0.875	0.950	0.841	0.882
He	0.863	0.913	0.840	0.918	0.920	0.913	0.891	0.880
PIC	0.844	0.884	0.814	0.907	0.908	0.880	0.873	0.863
Kop26								
S	71	22	49	100	80	20	63	85
N(a _e)	21 (9.4)	15 (6.9)	18 (10.0)	22 (11.4)	22 (11.7)	13 (6.7)	20 (9.2)	15 (7.0)
Ho	0.873	0.818	0.898	0.900	0.925	0.800	0.889	0.824
He	0.900	0.875	0.910	0.917	0.921	0.872	0.898	0.863
PIC	0.886	0.845	0.893	0.906	0.909	0.836	0.883	0.845
Kop3								
S	71	22	49	100	80	20	63	85
N(a _e)	5 (3.3)	5 (3.3)	5 (3.1)	5 (3.3)	5 (3.4)	5 (2.5)	5 (3.4)	5 (3.3)
Ho	0.620	0.591	0.633	0.650	0.688	0.500	0.746	0.682
He	0.702	0.714	0.688	0.703	0.710	0.621	0.710	0.697
PIC	0.645	0.649	0.629	0.643	0.649	0.560	0.651	0.633
Average								
N(a _e)	15.0 (7.0)	12.0 (6.9)	12.6 (6.5)	17.8 (10.1)	17.6 (10.1)	11.2 (7.0)	14.6 (7.9)	12.4 (7.0)
Ho	0.839	0.818	0.849	0.854	0.860	0.830	0.871	0.833
He	0.844	0.852	0.831	0.876	0.878	0.836	0.859	0.842
PIC	0.819	0.814	0.802	0.855	0.856	0.796	0.834	0.816

S, sample size; N, number of alleles; a_e, effective number of alleles; Ho, observed heterozygosity; He, expected heterozygosity; PIC, polymorphism information content.

Table 3. Markov chain procedure test (Hardy-Weinberg Equilibrium) in four populations of the olive flounder *Paralichthys olivaceus*

	Kop18	Kop21	Kop22	Kop26	Kop3
YD	0.402±0.001	0.031±0.000*	0.804±0.001	0.193±0.000	0.227±0.001
SC	0.484±0.001	0.589±0.001	0.527±0.001	0.198±0.000	0.128±0.001
GJ	0.526±0.001	0.838±0.001	0.111±0.001	0.311±0.001	0.504±0.001
WD	0.829±0.001	0.461±0.001	0.130±0.001	0.598±0.001	0.455±0.002

*Significant level at P<0.05.

낮았다. 지역별 방류집단의 Ho는 SC-R 집단이 0.830였으며, YD-R 집단이 0.849였다(Table 2). 각 집단별 대립유전자의 빈도는 Fig. 2에 나타내었으며, 특히 방류어의 비율이 높은 GJ 집단과 WD 집단의 대립유전자빈도는 비슷한 경향을 보였다.

각 유전자좌에 대한 Markov chain procedure test에 의해 지역집단이 Hardy-Weinberg Equilibrium (HWE)에 따르는

지를 비교해 본 결과 YD 집단의 Kop21에서 P<0.05 수준의 유의적인 차이를 보였다(Table 3). 집단간 유전학적 거리의 범위는 0.026~0.232로서 WD 집단과 GJ 집단간에서 가깝고, SC-R 집단과 YD-W 집단간에서 가장 멀게 나타났다. 유전적 분화도(Fst)는 GJ 집단과 WD 집단이 -0.002로 가장 낮았고, YD-R 집단과 SC-W 집단이 0.028로 가장 높게 나타났다. SC-W 집단은 YD 집단, WD 집단, YD-W 집단,

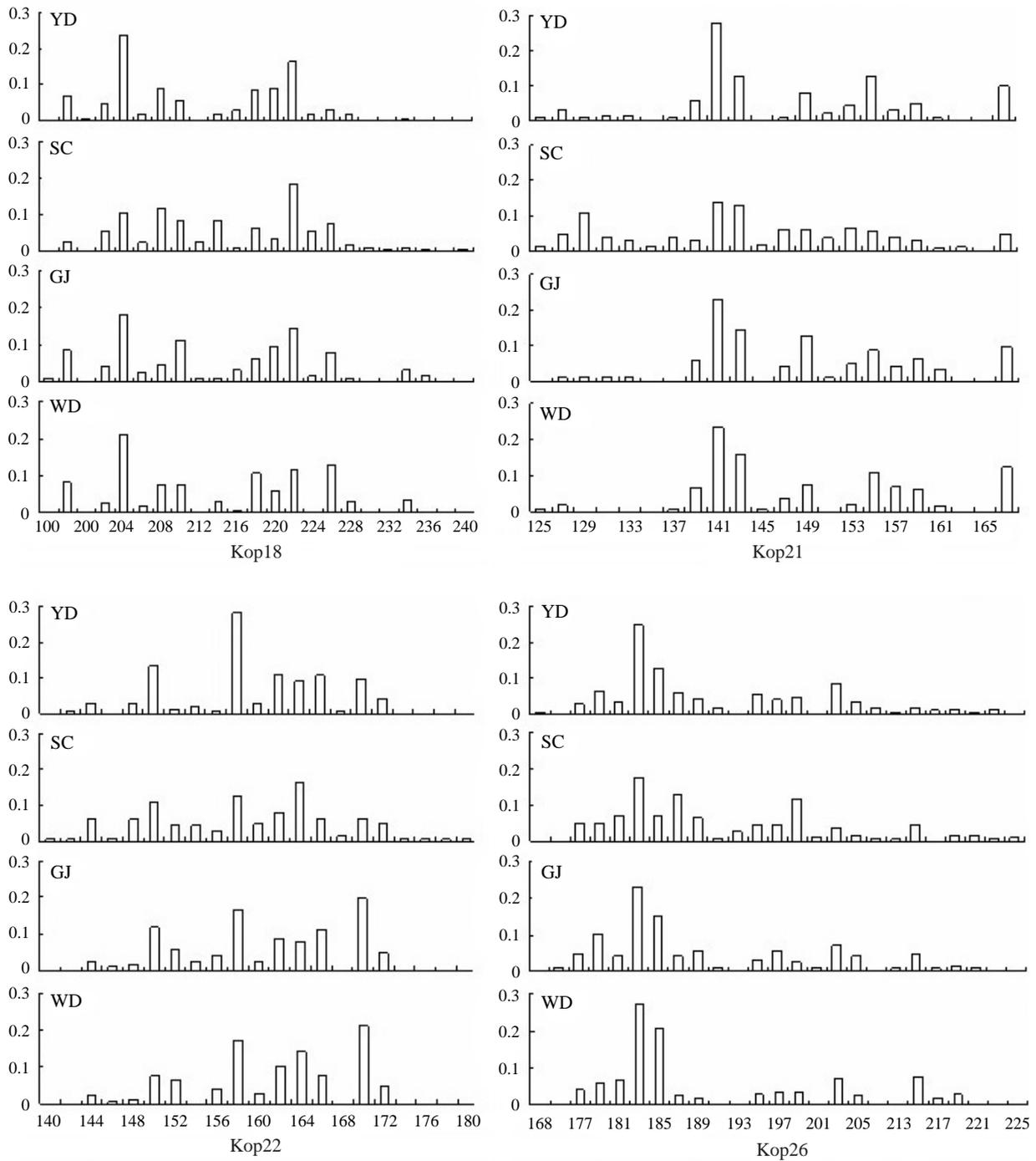


Fig. 2. Allele frequency distributions of four microsatellite loci for four populations of the olive flounder *Paralichthys olivaceus*.

YD-R 집단 그리고 SC-R 집단들과 유전적 분화도가 높게 나타났다. 또한 방류어의 혼획율이 높았던 WD 집단과 GJ 집단 그리고 방류어 집단인 YD-R 집단과 SC-R 집단 간에는 유전적 분화도가 낮게 나타났다 (Table 4). 유전적 거리에 기초한 각 집단별 UPGMA dendrogram에서는 GJ 집단, WD 집단, YD-R 집단 그리고 SC-R 집단이 유연관계가 가

까운 집단으로 나타났고, SC-W 집단과 YD-W 집단이 별도의 유연관계를 나타냈다 (Fig. 3).

고찰

집단의 유효크기는 임의교배를 하는 이상적인 집단의 개

Table 4. Pairwise comparison of *F_{st}* (under) and genetic distance (upper) in six populations of the olive flounder *Paralichthys olivaceus*

	GJ	WD	YD-W	YD-R	SC-W	SC-R
GJ	—	0.026	0.147	0.062	0.161	0.086
WD	-0.002	—	0.159	0.069	0.181	0.092
YD-W	0.010*	0.013*	—	0.177	0.186	0.232
YD-R	0.004	0.006*	0.017*	—	0.229	0.093
SC-W	0.015*	0.021*	0.017*	0.028*	—	0.222
SC-R	0.003	0.005	0.020*	0.003	0.023*	—

*Significant level at $P < 0.05$.

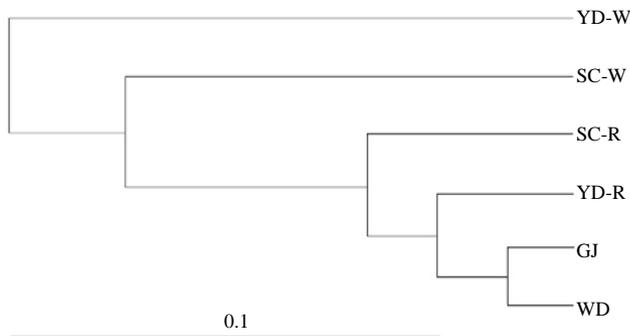


Fig. 3. A UPGMA dendrogram of four populations of the olive flounder *Paralichthys olivaceus* based on Nei's genetic distance.

체수로 나타내며 집단의 생존을 위한 최소의 크기를 의미하기 때문에 그 크기를 높게 유지하는 것이 중요하다. 그러나 유전학적 다양성이 떨어지는 종묘가 대량으로 방류된다면 자연집단의 유전학적 조성과 집단의 다양성에 영향을 주며 집단의 유효크기를 감소시킨다. 이에 따라 FAO (1993)은 자연생태계의 다양성 보전과 방류에 의한 영향을 최소화하는 방류종묘를 위하여 유효어미집단 크기는 50 마리 이상이고 근교계수 (inbreeding coefficient)는 0.010 이하를 유지하는 기준을 권고하고 있다.

현재 양식용이나 방류용으로 생산된 넙치 종묘는 실내 수조에서 수 십 마리 내외의 어미로부터 자연 산란된 수정란을 이용하여 생산되고 있으나, 실제로 수조내의 모든 어미가 산란에 참여하지는 않는다. 따라서 생산된 종묘의 유전학적 다양성은 수조내의 어미의 다양성에 영향을 받기 때문에 다양성이 높은 어미의 수를 많이 유지하여야 한다. 최근의 microsatellite DNA marker를 이용한 주요 양식생물의 친자감별의 결과에서 종묘의 유전학적 다양성은 어미집단에 비해 참돔의 경우는 평균 25.5% 감소하며, 감성돔은 20.0%, 넙치는 23.5% 감소하는 것으로 나타났으며, 또한 이들 종묘는 자연집단에 비해 전복은 75.0%, 넙치는 47.2% 떨어진다고 보고하고 있다 (Perez-Enrique *et al.*, 1999; Sekino *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2004; Jeong *et al.*, 2006, 2007). 현재 우리나라에서 넙치의 종묘생산에 이용되는 어미는 1980년

대 중반 이후 생산된 종묘로부터 수 세대에 걸쳐 어미로 이용되고 있는 것으로 알려져 유전학적 다양성이 매우 떨어져 있을 것으로 추정된다. 실제로 Jeong *et al.* (2006)이 본 연구와 같은 microsatellite DNA marker를 이용하여 83 마리의 양식산 어미로부터 생산된 종묘의 근교계수를 추정 한 결과를 보면 근교계수는 0.023로 FAO (1993)의 기준보다 2.3배 높았다. 그러나 Sekino *et al.* (2003)이 14 마리의 자연산 어미를 이용한 친자감별실험에서 한 마리의 수컷이 종묘생산에 99% 관여하는 결과와 같이 한 쌍의 어미로부터 생산된 종묘의 수를 보정할 경우에는 근교계수가 FAO 기준보다 훨씬 더 높을 것으로 추정된다.

종묘방류에 따른 지역집단의 유전학적 다양성에 미치는 영향을 파악하기 위하여 대립유전자수를 지역집단별로 비교하여 보면, 평균대립유전자수는 YD 집단 15.0개, SC 집단 17.8개, GJ 집단 14.6개, WD 집단 12.4개로 나타났다. 방류어의 혼획율이 20.0%이었던 SC 집단의 평균 대립유전자수가 가장 높았고 방류어의 혼획율이 95.8%이었던 WD 집단의 평균 대립유전자수가 12.4개로 가장 낮게 나타나 방류어의 혼획율이 높을수록 대립유전자수는 낮게 나타났다. 그러나 YD 집단에서는 YD-R 집단의 평균 대립유전자수가 12.6개로 YD-W 집단의 12.0개보다 높게 나타난 결과를 보였다. 이러한 이유는 자연어의 분석시료가 작아 대립유전자수가 적게 나타난 것으로 추정된다. 그러나 YD 집단과 SC 집단 내에서 방류어의 평균 대립유전자수는 12.6개와 11.2개로서 방류어의 비율이 높았던 WD 집단과 커다란 차이가 없었다. 따라서 지역집단의 유전학적 다양성은 종묘 방류로 인하여 커다란 영향을 받는 것으로 보인다.

각 집단간의 유전자좌별 대립유전자의 빈도는 SC 집단 이외 방류어의 혼획율이 높은 YD 집단, GJ 집단, WD 집단 간에는 커다란 차이를 보이지 않았다. 또한 유전적 거리에 기초한 각 집단별 UPGMA dendrogram에서도 방류어의 혼획율이 88.9%와 95.8%로 높았던 GJ 집단과 WD 집단 그리고 방류어로 판정된 YD-R 집단과 SC-R 집단의 유연관계가 가깝게 나타났다. 이러한 원인은 방류된 종묘를 생산하는 어미집단의 다양성에서 기인된 것으로 사료된다. 실제로 넙치 어미를 보유하고 있는 양식장의 수는 전국적으로 수 개에 불과하며 성장, 채색 등 인위적인 선발에 의해 생산된 것이 어미로 이용되어 왔으며, 이러한 어미로부터 생산된 종묘가 각 연안에 방류되어온 것으로 추정된다.

본 연구에서 microsatellite DNA marker를 이용하여 넙치 종묘의 방류에 따른 지역집단의 유전학적 다양성을 분석한 결과, 지역집단 내에 방류어의 혼획율이 높을수록 그 지역에 서식하고 있는 넙치집단의 유전학적 다양성이 떨어지는 것으로 나타났다. 따라서 자원조성을 위한 종묘방류는 그 지역에 서식하고 있는 자연집단의 유전학적 다양성을 유지하고 보전될 수 있도록 유전학적 다양성이 높은 종묘를 생

산하여 방류할 필요가 있으며, 방류 후에도 지속적인 유전학적 평가를 통한 자연집단에 대한 관리가 필요하다고 생각된다.

요 약

넙치의 자원조성을 위해 인위적으로 생산된 넙치종묘를 방류함에 따라 이들 방류에 의해 그 지역에 서식하고 있는 자연집단에 미치는 영향을 파악하기 위하여 4개 지역(YD, SC, GJ, WD)에서 어획된 넙치집단의 유전학적 구조와 다양성을 5개의 microsatellite DNA marker를 이용하여 조사하였다.

조사된 지역에서 방류넙치의 혼획율은 20.0~95.8%였다. 넙치집단의 평균 이형접합체(Ho)의 범위는 0.833~0.876이었으며, 지역집단별 평균대립유전자수는 YD 집단 15.0개, SC 집단 17.8개, GJ 집단 14.6개, WD 집단 12.4개였으며, 방류어의 혼획율이 20.0%이었던 SC 집단에서 높게 나타났고 방류어의 혼획율이 95.8%이었던 WD 집단에서 낮게 나타나 방류어의 혼획율이 높을수록 지역집단의 대립유전자의 수가 낮은 경향을 보였다. 집단간 유전학적 거리의 범위는 0.026~0.232로서 WD 집단과 GJ 집단간에서 가장 낮았고, SC-R 집단과 YD-W 집단간에서 가장 멀게 나타났다.

사 사

이 연구는 국립수산물연구원(방류용 건강종묘생산 연구, RP-2008-RE-005)의 지원에 의하여 연구되었으며, 본 연구를 위하여 시료의 채집과 정보를 제공해 주신 어업인들께 감사드립니다.

인 용 문 헌

Booke, H.E. 1999. The stock concept revisited: perspectives on its history in fisheries. *Fish. Res.*, 43: 9-11.
 Evans, B., J. Bartlett, N. Sweijd, P. cook and N.G. Elliott. 2004. Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery produced abalone in Australia (*Haliotis rubra*) and South Africa (*Haliotis midae*). *Aquaculture*, 233: 109-127.
 FAO. 1993. Report of the expert consultation on utilization and conservation of aquatic genetic resources. FAO Fish. Tech. Rep., 491: 1-58.
 Hara, M. and M. Sekino. 2003. Efficient detection of parentage in a

cultured Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* using microsatellite DNA marker. *Aquaculture*, 217: 107-114.
 Jeong, D.S., E.B. Gonzalez, K. Morishima, K. Arai and T. Umino. 2007. Parentage assignment of stocked black sea bream, *Acanthopagrus schlegeli* in Hiroshima Bay using microsatellite DNA markers. *Fish. Sci.*, 73: 823-830.
 Jeong, D.S., K.S. Kim and K.K. Kim. 2006. Evaluation of effective breeders number (Ne) for stock enhancement in olive flounder *Paralichthys olivaceus* using microsatellite DNA markers. *J. of Aquaculture*, 19: 205-209.
 Kim, W.J., K.K. Kim, J.H. Lee, D.W. Park, J.Y. Park and J.Y. Lee. 2003. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci in the olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Molecular Ecology Notes*, 3: 491-493.
 Li, Q., C. Park, T. Endo and A. Kijima. 2004. Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery strains of the Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*). *Aquaculture*, 235: 207-222.
 Liu Y., S. Chen and B. Li. 2005. Assessing the genetic structure of three Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) stocks by microsatellite markers. *Aquaculture*, 243: 103-111.
 MOMAF. 2007. Annual report of fisheries in Korea. MOMAF, 77-78.
 Norris, A.T., D.G. Bradley and E.P. Cunningham. 2000. Parentage and relatedness determination in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellite markers. *Aquaculture*, 182: 73-83.
 Perez-Enriquez, R., M. Takagi and N. Taniguchi. 1999. Genetic change and pedigrees tracing of a hatchery-reared stock of red sea bream (*Pagrus major*) used for stock enhancement, based on microsatellite NDA markers. *Aquaculture*, 173: 413-423.
 Sekino, M., K. Saitoh, T. Yamada, A. Kumagai, M. Hara and Y. Yamashita. 2003. Microsatellite-based pedigree tracing in a Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* hatchery strain: implications for hatchery management related to stock enhancement program. *Aquaculture*, 221: 255-263.
 Sekino, M., K. Saitoh, T. Yamada, M. Hara and Y. Yamashita. 2005. Genetic tagging of released Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) based on polymorphic DNA markers. *Aquaculture*, 244: 49-61.
 Sekino, M., M. Hara and N. Taniguchi. 2002. Loss of microsatellite and mitochondrial DNA variation in hatchery strains of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 213: 101-122.
 Tamura, K. and M. Nei. 1993. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 10: 512-526.
 Tessier, N., L. Bernatchez and J.M. Wright. 1997. Population structure and impact of supportive breeding inferred from mito-

chondrial and microsatellite DNA analyses in land-locked Atlantic salmon *Salmo salar* L. Mol. Ecol., 6: 735-750.

Yoshida, K., M. Takagi, M. Tanaka and N. Taniguchi. 2000. Genetic variability and divergence of wild and artificially raised

Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* inferred from microsatellite DNA analysis. Fish Gen. Breed. Sci., 29: 93-102.