

## 동해 강도다리(*Platichthys stellatus*) 2개체군의 형태 및 분자변이

정용태 · 백혜자 · 김진구<sup>1\*</sup>

대화감정평가법인, <sup>1</sup>부경대학교 자원생물학과

### Morphological and Genetic Variation of Two Populations of *Platichthys stellatus* (Pleuronectidae, PISCES) from the East Sea

Yong Tae Jeong, Hea Ja Baek and Jin-Koo Kim<sup>1\*</sup>

Daehwa Appraisal Co., Ltd., Busan 614-716, Korea

<sup>1</sup>Department of Marine biology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Morphological and genetic variation of two populations of *Platichthys stellatus* were investigated based on 30 individuals each, collected from Uljin (seedling release area) and Pohang (control) in Korea. Morphological analyses demonstrated that the two populations of *P. stellatus* were well distinguishable in body color of the blind side and fin shape. Mitochondrial DNA control region analysis indicated no significant differences between the two populations ( $F_{ST} = -0.00849$ ,  $P > 0.05$ ). We also analyzed microsatellite DNA loci of the two populations using six markers. Observed heterozygosity ( $H_o$ ) and expected heterozygosity ( $H_e$ ) were 0.550 and 0.592, respectively, in *P. stellatus* from Uljin, but 0.700 and 0.737 in *P. stellatus* from Pohang. An index of differentiation in genetic structure revealed significant differences between the two populations ( $F_{ST} = 0.0208$ ,  $P < 0.05$ ). Our results suggest that the Uljin population may be comprised of released *P. stellatus*, whereas the Pohang population may be wild *P. stellatus*, highlighting the necessity of continuous monitoring of the two populations.

Key words: *Platichthys stellatus*, Mitochondrial DNA, Microsatellite loci, Morphological variation, East Sea

## 서론

전 세계적으로 수산자원 관리의 방향은 감소된 수산자원의 회복에 초점을 맞추고 있으며, 이를 위해 다양한 수산자원조성 프로그램이 실시되고 있다(Bell et al., 2008). 국내의 경우 1980년대 후반 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 인공종묘생산 기술 개발 이후 참돔(*Pagrus major*), 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*) 등의 종묘생산 기술이 확보됨에 따라 자원회복과 바다목장 사업이 1998년부터 남해안(통영)을 중심으로 시작되었다. 최근에는 이러한 수산 자원 관리의 유효성을 평가하는데 관심과 연구가 증가하고 있다(Sekino et al., 2002; Liu et al., 2005; Ortega-Villaizán et al., 2006; Gonzalez et al., 2008; Kitada et al., 2010). 수산자원 관리의 유효성을 평가하는 방법중 하나인 유전적 다양성 평가는 생물 집단의 환경 적응에 대한 지표로서 매우 중요하며, 나아가 수산자원 관리 측면에서 필수적인 사항이 되었다

(Norris et al., 2000).

강도다리(*Platichthys stellatus*)는 가자미목(Pleuronectiformes), 가자미과(Pleuronectidae) 어류로 우리나라 및 중국에서 넙치보다 고급 어종으로 평가받고 있으며, 강도다리 수효는 매년 증가 추세이지만, 자원량의 감소와 어획 시기의 제한 등으로 수요를 충족시키지 못하는 실정이다. 강도다리 자원 조성의 일환으로 2004년 강도다리의 인공종묘생산 기술이 성공함으로써 2006년부터 현재까지 경북 울진에서 연간 50만 마리 이상의 강도다리 인공종묘개체들이 방류되고 있다(Byun et al., 2008). 하지만 국내에서 진행 된 강도다리에 대한 연구는 강도다리의 난발생과 자치어 형태발달(Byun et al., 2007), 담수 순치시 삼투압 조절에 미치는 갑상선호르몬의 영향(Lim et al., 2009), 실내 사육한 강도다리의 성성숙과 생식주기(Min et al., 2007)에 관한 연구만 있을 뿐 강도다리의 방류집단 및 야생집단의 형태 및 유전적 다양성에 관한 연구는 부족한 실정이다.

#### Article history;

Received 11 December 2013; Revised 10 February 2014; Accepted 10 February 2014

\*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5927 Fax: +82. 51. 629. 5931

E-mail address: taengko@hanmail.net

Kor J Fish Aquat Sci 47(1) 052-058, February 2014

<http://dx.doi.org/10.5657/KFAS.2014.0052>

pISSN:0374-8111, eISSN:2287-8815

© The Korean Society of Fisheries and Aquatic Science. All rights reserved

집단간 유전적 다양성에 관한 연구에는 미토콘드리아DNA (mtDNA) 내 치환속도가 가장 빠른 control region이 주로 사용되며, 양쪽 성의 유전특성을 반영하는 동시에 돌연변이율이 높고 민감도가 우수하여 개체수준에서 식별 가능한 마이크로세틀라이트 DNA (msDNA) 마커가 활발히 사용된다(Sekino et al., 2002; Gonzalez et al., 2008, 2010).

따라서 본 연구는 강도다리 종묘를 지속적으로 방류해 온 울진과 그렇지 않은 포항의 2개 지역을 선정하여 이들 지역에서 채집된 강도다리의 형태적 차이를 분석하고, 서로 다른 유전자 마커를 이용하여 지역 집단 간의 유전적 다양성을 비교하고자 한다.

## 재료 및 방법

### 채집

2009년부터 2010년까지 경상북도 울진연안에서 저인망으로 강도다리 30개체 및 경상북도 포항 형산강 하구에서 자망으로 강도다리 36개체를 각각 채집하였다. 채집 후 즉시 99% ethanol에 고정하여 사용하였다.

### 형태 분석

강도다리는 집단별로 27개체를 대상으로 형태 분석을 실시하였으며, 넙치나 가자미 종류의 인공 종묘에서 흔히 관찰되는 무안측의 검은 반점이나 손상된 지느러미 등 외부형태 특징을 중점적으로 조사하였다. 계수 및 계측은 Hubbs and Lager (2004)의 방법을 따라 버니어 캘리퍼스로서 몸의 각 부위를 0.1 mm 단위까지 측정하였다. 계수형질로는 등지느러미 줄기수(Dorsal fin rays) 등 총 12개의 형질을 조사하였고, 계측 형질로는 체장(Standard length) 등 총 19개의 형질을 조사하였다. 척추골수 및 골격 이상 현상은 soft X-ray (SOFT HA-100, Japan)를 이용하여 확인하였다.

### 분자 분석

분자분석은 강도다리 울진 집단 23개체와 포항 집단 36개체를 대상으로 mtDNA control region 염기서열 분석을 실시하였으며, msDNA분석은 집단별 30개체를 이용하여 실시하였다. Genomic DNA는 Chelex 100 resin (Bio-rad, USA) 150  $\mu$ L가 들어있는 PCR튜브에 소량의 근육을 넣은 후, Thermal cycler (Bio-rad MJ mini PTC-1148, USA)에 넣은 후 60 $^{\circ}$ C와 99 $^{\circ}$ C에 각각 20분, 25분간 두었다. 추출된 Genomic DNA는 4 $^{\circ}$ C에서 냉장 보관하였다.

MtDNA 분석은 Tinti et al. (1999)의 방법에 따라 forward primer: 5'-TTC CAC CTC TAA CTC CCA AAG CTA G-3' 및 Reverse primer: 5'-CCT GAA GTA GGA ACC AGA TGC CAG-3'를 이용하여 증폭시켰다. PCR은 10X PCR buffer 2.5  $\mu$ L, 2 mM dNTP 2  $\mu$ L, forward primer 1  $\mu$ L, reversal primer

1  $\mu$ L, FR taq polymerase 0.25  $\mu$ L (Biomedic, Korea)를 섞은 혼합물에 genomic DNA 2  $\mu$ L를 첨가한 후, 총 25  $\mu$ L가 될 때까지 3차 증류수를 넣고 Thermal cycler (Bio-rad MJ mini PTC-1148, USA)를 이용하여 다음과 같은 조건으로 수행하였다. [Initial denaturation 95 $^{\circ}$ C에서 4분; PCR reaction 34 cycle (denaturation 95 $^{\circ}$ C에서 30초, annealing 60 $^{\circ}$ C에서 30초, extension 72 $^{\circ}$ C에서 1분); final extension 72 $^{\circ}$ C에서 10분]. 염기서열은 ABI 3730XL sequencer (Applied Biosystems, USA)에서 ABI BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit v3.1 (Applied Biosystem, USA)를 이용하여 다음과 같은 조건으로 Cycle sequencing하여 얻었다: PCR reaction 30cycles (Denaturation 96 $^{\circ}$ C에서 10초, Annealing 50 $^{\circ}$ C 10초, Extension 60 $^{\circ}$ C 3분).

MsDNA분석은 Miao et al. (2009)이 고안한 12개 좌위 중에서 6개의 정보를 사용하여 primer (Plst3, Plst8, Plst9, Plst13, Plst19, Plst37)를 제작하였다. PCR은 10X PCR buffer 2.5  $\mu$ L, 2 mM dNTP 2  $\mu$ L, forward primer 10 pmol, reverse primer 10 pmol, FR taq polymerase 0.15  $\mu$ L (Biomedic, Korea)를 섞은 혼합물에 genomic DNA 2  $\mu$ L를 첨가한 후, 총 25  $\mu$ L가 될 때까지 3차 증류수를 넣고 Thermal cycler (Bio-rad MJ mini PTC-1148, USA)를 이용하여 다음과 같은 조건으로 수행하였다. [초기 denaturation 94 $^{\circ}$ C에서 4분; PCR reaction 29 cycle (denaturation 94 $^{\circ}$ C에서 30초, annealing 57 $^{\circ}$ C에서 40초, extension 72 $^{\circ}$ C에서 40초); final extension 72 $^{\circ}$ C에서 7분]. PCR 완료 후 1% Agarose gel에 PCR product와 10X loading buffer (Takara, Japan)를 섞은 혼합물을 넣은 후, 전기영동기(Mupid-One Mupid-exU, Japan)를 100 voltage에서 30분 동안 작동시켜 밴드의 유무를 판독하였다. 각 개체의 유전적 다형도는 PCR 산물에서 형광 염색된 대립유전자 절편의 크기를 ABI PRISM 3130XL automated sequencer (Applied Biosystems, USA)의 GeneMapper version 3.7을 이용하여 분석하였다.

### 통계 분석

집단 간 계측형질을 이용하여 각 개체가 속하는 집단을 예측하고, 집단 간 차이 유무를 파악하기 위하여 SPSS 10.1 프로그램을 이용하여 정준판별분석을 실시하였다. 또한, 계수형질의 집단 간 차이 유무를 파악하기 위하여 SPSS 10.1 프로그램을 이용하여 Mann-Whitney U test를 실시하였다.

MtDNA control region 염기서열은 BioEdit version 7.0.0 (Hall, 1999)의 ClustalW (Thompson et al., 1994)를 이용하여 Full multiple alignment 하였다. 염기서열 간 유전거리는 Mega 4 (Tamura et al., 2007)의 Pairwise distance를 Kimura-2-parameter모형(Kimura, 1980)로 계산하였다. 집단 유전학적 분석은 Arlequin 3.1 (Excoffier et al., 2005) 프로그램을 이용하여, Haplotype diversity (H)와 Nucleotide diversity ( $\pi$ )를 구하였고, 두 집단간 유전적 분화정도를 추정하기 위해 Pairwise  $F_{ST}$

Table 1. Comparison of counts between Uljin and Pohang populations of *Platichthys stellatus*

Gill rakers, upper limb	6	7	8	9	10									
Uljin	2	14	9	2										
Pohang		4	13	7	3									
Dorsal fin rays	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65	66	67	...	71
Uljin						5	3	1	8	6	2	1		1
Pohang	2	6	4	7	6	2								
Total vertebrae	33	34	35	36	37									
Uljin		2	5	12	6	2								
Pohang				10	16	1								
Caudal vertebrae	22	23	24	25	26									
Uljin		2	4	10	10	1								
Pohang				10	16	1								

값을 구하였으며(Slatkin and Hudson, 1991),  $F_{ST}$  값의 유의성 검정을 위하여 10,000번의 random permutation을 실행하였다.

6개의 msDNA 마커를 이용하여 집단별 유전적 다양성을 파악하기 위하여 FSTAT version 2.9.3 (Goudet, 2001)과 GENEPOP 3.4 (Rousset and Raymond, 1995), Alequin 3.11 프로그램을 사용하여 대립유전자수(the number of allele per loci; A), 대립유전자 크기(product size range; S), 관찰치 이형접합률( $H_o$ ), 기대치 이형접합률( $H_e$ ), 집단 크기를 보정한 대립유전자수(allelic richness)를 비교하였다. GENEPOP 프로그램을 사용하여, 집단 내에서 Hardy-Weinberg expectation (HWE)의 유무를 조사하기 위해 근친 교배지수(inbreeding coefficient;  $F_{IS}$ )를 구하였으며(Weir and Cockerham, 1984), 유의성 검정을 위하여 markov-chain method를 사용하여 random allelic permutation 과정을 최소한 10,000번 이상 수행하였다. 집단 간 유전적 다양성을 파악하기 위해 FSTAT 프로그램을 이용하여  $F_{ST}$  수치를 측정하였으며, 유의성 검정을 위해 마찬가지로 random allelic permutation 과정을 최소한 10,000번 이상 수행하였다(Weir and Cockerham, 1984).

## 결 과

### 형태분석

경북 울진 연안에서 채집된 강도다리 27개체(전장 156.9-296.3 mm) 및 경북 포항에서 채집된 강도다리 27개체(전장 195.4-332.9 mm)의 형태 변이를 분석한 결과, 무안측의 흑화 현상이 울진 집단의 전 개체에서 관찰되었으며, 특히 뒷지느러미 및 꼬리지느러미 기형 현상이 뚜렷하게 관찰되었다. 지느러미 기조의 기형 현상이 나타난 울진 집단의 척추골을 X-ray 조사 결과, 2개체에서 미추골 중앙부의 척추골 융합현상이 관찰되었다.

Table 2. The haplotype frequencies for Uljin and Pohang populations of *Platichthys stellatus* based on mtDNA control region

Haplotype	Haplotype frequency			
	Uljin	Pohang	n	%
Hap1	14	20	34	57.63
Hap2	1	1	1	1.69
Hap3	3	3	6	10.17
Hap4	3	7	10	16.95
Hap5	1	4	5	8.47
Hap6	-	1	1	1.69
Hap7	2	-	2	3.39
Total	23	36	59	100

총 11개의 계수형질을 Mann-Whitney U test 결과, 7개의 계수형질(등지느러미 줄기수, 유안측 가슴지느러미 줄기수, 무안측 가슴지느러미 줄기수, 미추골, 척추골수, 첫번째 새파의 상엽과 하엽의 개수)에서 두 집단간 유의한 차이를 보였다( $P<0.05$ ). 이중 등지느러미 줄기수(울진 집단은 61-71개, 포항 집단은 56-61개)는 실제로 두 집단을 잘 구분해 주었다(Table 1).

총 20개의 계수형질을 이용한 판별분석 결과, 두 집단은 통계적으로 유의한 평균 차이를 나타내었다( $P<0.05$ ). 판별분석에 이용된 계수형질 중 두 집단을 구분하는 데 기여한 형질은 최대 뒷지느러미 줄기의 길이 및 유안측 가슴지느러미 줄기의 길이였고 통계적으로 유의한 차이를 나타내었으나( $P<0.05$ ), 나머지 형질에서는 유의한 차이를 나타내지 않았다( $P>0.05$ ). 각 집단의 중심점을 기준으로 오판율은 포항 집단에서 1개체, 울진 집단에서 4개체로 비교적 잘 구분되었다.

### 미토콘드리아 DNA분석

미토콘드리아 DNA (mtDNA) control region 375 base pair를 이용한 분자 분석 결과, 염기의 치환(substitution)은 12개였고, 결실(indel)은 없었다. 유전자형은 총 7개로, 이중 Hap 1이 두 집단에서 가장 많이 관찰되었고(포항 집단: 56% vs 울진 집단: 61%), 포항 집단에서는 총 6개의 유전자형(Hap1-6), 울진 집단에서는 총 5개의 유전자형(Hap1, Hap3-5, Hap7)이 관찰되었다. 총 7개의 유전자형 중 4개의 유전자형은 두 집단에서 모두 관찰되었으며, 2개의 유전자형(Hap2, Hap6)은 포항 집단에서만 관찰된 반면 1개의 유전자형(Hap7)은 울진 집단에서만 관찰되었다(Table 2). 이들 유전자형의 집단 내 유전거리는 울진 집단이 0-1.4%, 포항 집단이 0-1.1%였고, 두 집단 간에는 0-1.4%로 집단 내, 집단 간 유전적 차이는 없었다. 유전적 다양도(haplotype diversity, H)는 울진 집단과 포항 집단이 각각 0.61와 0.65로 유사하게 낮았으며, 염기 다양도(nucleotide diversity,  $\pi$ )는 울진 집단이 0.0038, 포항 집단이 0.0045로 역시 낮았다(Table 3). 두 집단간 유전적 차이 유무를 알 수 있는 F-통

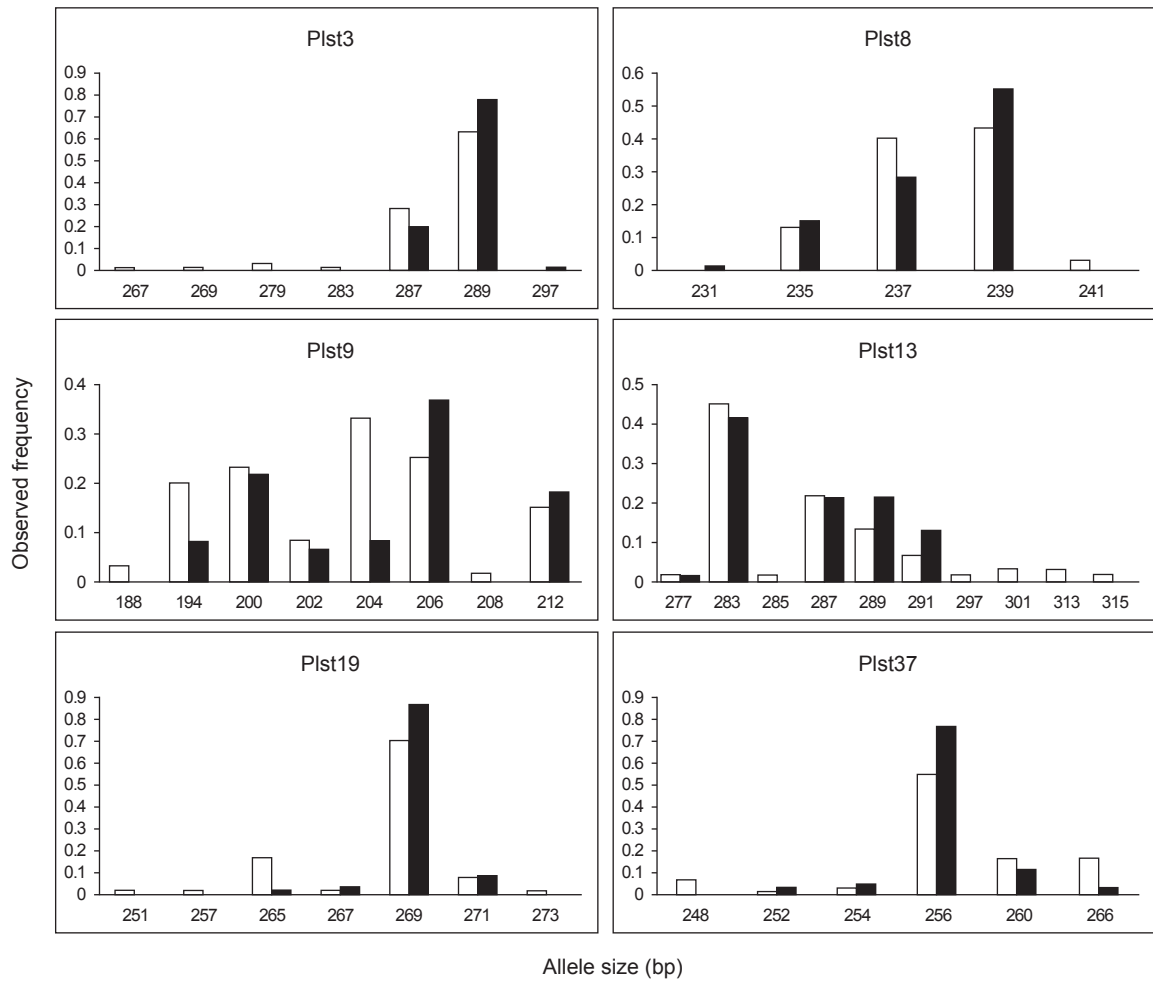


Fig. 1. Allele frequency distributions for Uljin and Pohang populations of *Platichthys stellatus* based on 6 ms loci (■: Uljin, □: Pohang).

Table 3. Genetic diversity for Uljin and Pohang populations of *Platichthys stellatus* based on mtDNA control region

Genetic diversity	Uljin	Pohang
No. of specimens	23	36
No. of haplotype	5	6
No. of polymorphic sites	6	6
No. of observed transitions	6	5
No. of observed transversions	0	1
No. of observed indels	0	0
Haplotype diversity (H)	0.6126±0.10400	0.6508±0.0730
Nucleotide diversity (π)	0.0038±0.00260	0.0045±0.00310

계량은 -0.00849로 매우 낮아 두 집단간 유의미한 차이는 없는 것으로 확인되었다.

마이크로세틀라이트 DNA 분석

마이크로세틀라이트 DNA (msDNA) 마커 6개를 이용하여 유전자형을 분석한 결과, 대립유전자 크기는 188-315 base pair 범위에 있었다. 울진 집단과 포항 집단에서 총 37개의 다른 대립유전자가 관찰되었으며, 유전자좌당 평균 대립유전자수( $A_r$ )는 울진 집단이 4.5개이며, 포항 집단이 7개로 포항 집단이 높게 나타났다(Table 4). 주요 마커별 대립유전자의 특징을 살펴보면, Plst13은 사용된 6개의 마커 중 대립유전자 수가 10개로 가장 많았으며, 울진 집단에서 관찰되지 않은 대립유전자 수는 5개(285, 297, 301, 313, 315)로 가장 많았다. Plst8은 대립유전자 수가 5개로 가장 적었으며, 포항 집단과 울진 집단에서 새롭게 관찰된 대립유전자 수는 각각 1개(포항 집단은 241, 울진 집단은 231)로 나타났다(Fig. 1).

유전자좌당 집단의 크기를 보정한 대립유전자수( $A_r$ )는 2.9개에서 10.7개 사이로, 울진 집단의 평균  $A_r$  (4.5개)은 포항 집단의 평균  $A_r$  (6.9개)에 비해 낮았다. 울진 집단의 평균 관찰치 이형접합률( $H_o$ )과 기대치 이형접합률( $H_e$ )은 각각 0.501 및 0.550으로, 포항 집단의 0.662 및 0.645에 비해 낮았다(Table 4). 울



Table 4. Total number of alleles ( $A_T$ ), size in base pair of alleles (S), allelic richness ( $A_r$ ), observed ( $H_o$ ) and expected ( $H_e$ ) heterozygosities, probability of deviation from Hardy-Weinberg proportions ( $P_{HW}$ ) and inbreeding coefficient ( $F_{IS}$ ) for Uljin and Pohang populations of *Platichthys stellatus* based on 6 msDNA loci

	Plst9	Plst37	Plst19	Plst13	Plst8	Plst3	Mean
Uljin population							
No. specimens	30	30	28	30	30	30	
$A_T$	6	5	4	5	4	3	4.5
S	194-212	252-266	265-271	277-291	231-239	287-291	
$A_r$	6.0	5.0	4.0	4.9	3.9	2.9	4.5
$H_o$	0.667	0.333	0.286	0.667	0.567	0.483	0.501
$H_e$	0.787	0.402	0.260	0.728	0.605	0.524	0.550
$P_{HW}$	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
$F_{IS}$	0.147	0.17	-0.099	0.084	0.064	-0.042	0.077
Pohang population							
No. specimens	30	30	28	30	30	30	
$A_T$	8	6	7	10	4	6	7
S	188-212	248-266	251-273	287-315	235-241	267-289	
$A_r$	8.0	6.0	7.0	10.7	4.0	5.8	6.9
$H_o$	0.800	0.600	0.607	0.667	0.733	0.669	0.662
$H_e$	0.825	0.648	0.398	0.745	0.643	0.648	0.645
$P_{HW}$	ns	ns	ns	ns	ns	ns	
$F_{IS}$	0.031	0.074	-0.241	0.106	-0.141	-0.145	-0.047

Significance was tested at the 5% level, \*, significant, ns, not significant

진 집단과 포항 집단에 사용된 모든 msDNA marker는 Hardy-Weinberg 평형의 이탈이 관찰되지 않았다 ( $P>0.05$ ) (Table 4). 울진 집단과 포항 집단 간 유전적 분화 정도를 알기 위한  $F$  통계량은 0.0208로 유의미한 유전적 차이를 나타내었다 ( $P<0.05$ ).

## 고 찰

### 집단간 형태 비교

경북 울진 연안에서 채집된 강도다리 27개체(전장 156.9-296.3 mm) 및 경북 포항에서 채집된 27개(전장 195.4-332.9 mm)의 형태 변이를 분석한 결과, 무안측의 흑화 현상이 울진 집단에서만 관찰되었다. 무안측의 흑화현상은 넙치의 인공종묘 생산시 흔히 나타나는 특징이다(Jeon and Jeong, 2008). 또한 돌연변이의 유무를 통해 방류집단과 야생집단이 구분되기도 하는데, Hamasaki et al. (2010)의 연구 결과에 의하면 일본산 참돔의 방류집단에서만 inter-nostril epidermis의 돌연변이(DIE)가 두드러지게 나타난다고 보고한 바 있다(Sobajima et al., 1986). 본 연구에서는 울진 집단의 전 개체에서 무안측의 흑화현상이 관찰되었고 꼬리지느러미 및 뒷지느러미에도 기형 현상이 관찰된 점에서 울진 집단은 2006년부터 종묘 방류한 개

체들이 성장하여 이번 조사에서 어획된 것으로 판단된다. 이러한 방류집단에서 관찰되는 특이한 형태 변이는 어린 시기에 물리, 화학적 환경, 먹이 등과 같은 인위적인 요인 때문으로 간주되고 있다(Parrish and Saville, 1965; Lindsey, 1988). 강도다리의 경우 울진 집단에서 그러한 형태적 변이가 잘 나타나는데, 특히 등지느러미 줄기수에서 두 집단간 명확히 구분되었다(Table 1). 또한, 계측형질에서는 2개의 형질(최대 뒷지느러미 줄기 길이, 유안측 가슴지느러미 줄기 길이)이 두 집단을 잘 구분해 주는 기여 형질로 확인되었다. 이와 유사하게 일본산 참돔 인공종묘 개체와 야생 집단을 판별 분석한 결과 3개의 기여 형질(체고, 안경, 위턱의 길이)이 두 집단을 잘 구분한다고 하였으며, 이렇게 얻어진 결과는 향후 종묘방류가 이루어진 후 재 포획시 집단을 식별하는데 유용한 형태 형질로 간주된다(Matsumiya and Kanamaru, 1987).

### 집단간 미토콘드리아DNA 비교

미토콘드리아DNA (mtDNA) control region 375 base pair를 분석한 결과 울진 집단과 포항 집단 간의  $F_{ST}$  값이 -0.00849로 매우 낮아 두 집단 간 유전적 분화가 없는 것으로 추정된다 ( $P>0.05$ ). 유전거리는 집단 내, 집단 간 0-1.4%로 차이가 거의 없었다. MtDNA control region의 염기치환율은 CO I 영역에

비해 10배 정도 높은 것으로 보고되어 있어(Martin et al., 1992) 해산어류의 유전적 다양성을 파악하고 집단 구조를 분석하는데 널리 이용되고 있다. 특히 최근 자원조성을 목적으로 인공적으로 생산되는 해산어류를 대상으로 유전적 다양성을 평가하는데 이용되어 왔다(Park et al., 2010; Hamasaki et al., 2010). 강도다리 연구결과와 달리 일본산 참돔(Hamasaki et al., 2010) 및 한국산 넙치(Park et al., 2010)의 경우 야생 집단 및 방류 집단 간에 유의한 유전적 차이가 보고된 바 있다. 이는 일본산 참돔의 경우 종묘방류가 30년 이상 지속되어 왔고, 한국산 넙치 또한 오랜 기간 종묘방류가 이루어져 왔기 때문에 야생 집단과 방류 집단 간에 mtDNA에서 차이를 보인 것이 아닌가 사료된다. 특히 성장이 빠르고 외형적으로 큰 종묘가 선발되고 이렇게 선발된 개체가 오랜 기간 종묘 생산의 친어로 이용된 점에서 다양성이 낮은 종묘가 지속적으로 방류된 결과로 추정하였다(Hamasaki et al., 2010; Park et al., 2010). 이에 비해 강도다리의 경우 종묘방류가 4년이라는 비교적 짧은 기간 이루어져 왔기 때문에 두 집단간 유전적 차이가 없는 것으로 추정된다.

#### 집단간 마이크로세틀라이트 DNA 비교

6개의 마이크로세틀라이트 DNA (msDNA) 마커를 이용한 강도다리 포항 집단과 울진 집단의 유전적 다양성 분석 결과, 울진 집단이 포항 집단보다 낮은 대립유전자 빈도를 나타내었다. 평균 대립유전자 수는 포항 집단이 7개, 울진 집단이 4.5개로 울진 집단이 포항 집단보다 대립유전자 수가 적었다. 이 결과는 우리나라 넙치 방류 집단의 대립유전자 감소율이 55.4% (Jeong et al., 2009), 일본산 넙치 방류 집단의 66.3% (Sekono et al., 2002)와 유사하다. 넙치의 경우 실내에서 사육된 소수의 친어가 지속적으로 방류개체를 생산함으로써 이러한 유전적 다양성의 감소가 빠르게 진행된 것이 아닌가 사료된다(Sekino et al., 2002; Hamasaki et al., 2010; Jeong et al., 2008). MtDNA 결과와 달리 MsDNA에서는 강도다리 두 집단 간  $F_{ST}$ 가 0.0208로 집단 간 유의한 차이를 나타내었다 ( $P < 0.05$ ). 이 값은 참전복 양식산 및 야생 집단 간의  $F_{ST}$  (0.059-0.243) (Li et al., 2004)보다 낮고, 넙치 두 집단간의  $F_{ST}$  (0.008-0.056) (Jeong et al., 2009)와는 유사하였다. Jeong et al. (2009)은 이러한 유전적 차이가 인근 지역에서 방류한 개체 혹은 양식 개체의 가입으로 야생 집단의 유전적 다양성에 영향을 주었을 것으로 보고하였다.

본 연구에서 강도다리 울진 집단과 포항 집단 간 형태적 차이가 확인되었으며, 이러한 형태적 차이는 mtDNA에서는 확인되지 않았지만 msDNA에서는 잘 나타났다. 강도다리 종묘방류가 경북 울진에서 4년이라는 짧은 기간에 걸쳐 이루어졌음에도 불구하고 이 지역에서 어획된 강도다리의 형태 및 msDNA가 포항에서 어획된 강도다리 야생형과 차이를 보이는 점에서 시사하는 바가 크다. 즉, 방류 집단의 체형 개선, 유전적 다양성 유지를 위해 유전 다양성이 높은 친어 확보, 건강한 종묘생산 및 관리프로그램의 운영이 필요할 것이다.

## 사 사

본 논문을 심사해 주신 익명의 세 분 심사위원께 감사드립니다. 본 논문은 해양수산부의 R&D 연구사업 “해양어류자원 기탁등록보존기관”의 연구비 지원을 받아 수행되었습니다.

## References

- Ball AO, Beal MG, Chapman RW and Sedberry GR. 2007. Population structure of red porgy, *Pagrus pagrus*, in the Atlantic Ocean. *Mar Biol* 150, 1321-1332.
- Bell J, Leber K, Blankenship HL, Loneragan N and Masuda R. 2008. A new era for restocking, stock enhancement and sea ranching of coastal fisheries resource. *Rev Fish Sci* 16, 1-9.
- Byun SG, Jeong MH, Lee JH, Lee BI, Ku HD, Park SU, Kim YC, Chang YJ. 2008. Diel rhythm of oxygen consumption of the starry flounder *Platichthys stellatus* by water temperature. *J Kor Fish Soc* 41, 113-118.
- Byun SG, Lee BI, Lee JH, Ku HD, Park SU, Yun SM, Hwang SY, Kim YC and Han HG. 2007. Egg development and morphological change of larvae and juveniles of the Starry Flounder, *Platichthys stellatus*. *Kor J Ichthyol* 19, 350-359.
- Clement M, Posada D and Crandall KA. 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol Ecol* 9, 1657-1659.
- Excoffier L, Laval G and Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: an integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform* 1, 47-50.
- Fausto T, Andrea C, Maria V, Corrado P, Anna MS. 1999. Comparative analysis of a mitochondrial DNA control region fragment amplified from three adriatic flatfish species and molecular phylogenesis of Pleuronectiformes. *Mar Biotechnol* 1, 20-24.
- Gonzalez BE, Umino T, Kazuya N. 2008. Stock enhancement program for black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) in Hiroshima Bay: Monitoring the genetic effects. *Aquaculture* 276, 36-43.
- Goudet J. 1995. FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *J Heredity* 86, 485-486.
- Hamasaki K, Kitada S, Toriya S, Shishidou H, Sugaya T. 2010. Genetic effects of hatchery fish on wild population in red sea bream *Pagrus major* (Perciformes, Sparidae) inferred from a partial sequence of mitochondrial DNA. *J Fish Biol* 77, 2123-2136.
- Hubbs CL and Lagler KF. 2004. Fishes of the Great Lakes Region. Revised ed. Michigan University Press, Ann Arbor, 332.
- Jeong DS, Jeon CY. 2008. Genetic variability and population structure of olive flounder *Paralichthys olivaceus* from stocked areas using microsatellite DNA markers. *Kor J Ichthyol* 20, 156-162.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary

- rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol* 16, 111-120.
- Kitada S and Kishino H. 2006. Lessons learned from Japanese marine finfish stock enhancement programmes. *Fish Res* 80, 101-112.
- Kitada S, Shishidou H, Sugaya T, Kitakado T, Hamasaki K. and Kishino H. 2009. Genetic effects of long-term stock enhancement programs. *Aquaculture* 290, 69-79.
- Li Q, Park C, Endo T and Kijima A. 2004. Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery strains of the Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*). *Aquaculture* 235, 207-222.
- Lim HK and Kim SY. 2007. Effect of exogenous hormones on spermiation in the starry flounder *Platichthys stellatus*. *J Kor Fish Soc* 40, 374-379.
- Lindsey CC. 1988. Factors controlling variation in Fish Physiology, Ed. by Hoar WS and Randall DJ. Academic Press, New York, U.S.A., 197-274.
- Liu Y, Chen S, Li B. 2005. Assessing the genetic structure of three Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) stocks by microsatellite makers. *Aquaculture* 243, 103-111.
- Matsumiya Y, Kanamaru H, Oka M and Tateishi M. 1987. Morphometric comparison and differentiation between artificially-released and wild red sea bream (*Pagrus major*). *J Appl Ichthyol* 3, 49-55.
- Miao G, Shao C, Ma H, Liao X and Chen S. 2009. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from a dinucleotide-enriched genomic library of starry flounder (*Platichthys stellatus*) and cross-species amplification. *Conserv Genet* 10, 631-633.
- Norris AT, Bradley DG and Cunningham EP. 2000. Parentage and relatedness determination in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellite markers. *Aquaculture* 182, 73-83.
- Ortega-Villaizán Romo MM, Aritaki M, Taniguchi N. 2006. Pedigree analysis of recaptured fish in the stock enhancement program of spotted halibut *Verasper variegatus*. *Fish Sci* 72, 48-52.
- Park JY, Kim KK, Kim MJ. 2010. Genetic differences between wild and cultured populations in olive flounder in Korea based on mitochondrial DNA analysis. *J Life Sci* 20, 614-617.
- Parrish BB and Saville A. 1965. The biology of the north-east atlantic herring population. *Ocean Mar Biol Ann Rev* 3, 323-372.
- Raymond M, Rousset F. 1995. GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J Heredity* 86, 248-249.
- Saito T, Washio S, Dairiki K, Shimojo M, Ito S and Sugita H. 2008. High gene flow in *Girella punctata* (Perciformes, Kyphosidae) among the Japanese Islands inferred from partial sequence of the control region in mitochondrial DNA. *J Fish Biol* 73, 1937-1945.
- Sekino M, Hara M and Taniguchi N. 2002. Loss of microsatellite and mitochondrial DNA variation in hatchery strains of Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture* 213, 101-122.
- Slatkin M and Hudson RR. 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genet* 129, 555-562.
- Sobajima N, Munekiyo M and Funata H. 1986. Possibility of differentiation between the artificially released and the wild red sea bream by means of lack of the inter-nostril epidermis. *Bulletin of Kyoto Institute of Oceanic and Fishery Science* 10, 35-40.
- Thompson JD, Higgins DG and Gibson TJ. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucl Acid Res* 22, 4673-4680.
- Wang M, Zhang X, Yang T, Han Z, Yanagimoto T and Gao T. 2008. Genetic diversity in the mtDNA control region and population structure in the *Sardinella zunasi* Bleeker. *African J Biotech* 24, 4384-4392.
- Weir BS and Cockerham CC. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evol* 38, 1358-1370.