



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

이 학 석 사 학 위 논 문

강도다리 (*Platichthys stellatus*)
방류산과 자연산의 형태 및 분자
변이 비교



2012년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

해 양 생 물 학 과

정 용 태

이 학 석 사 학 위 논 문

강도다리 (*Platichthys stellatus*)
방류산과 자연산의 형태 및 분자
변이 비교

지도교수 김 진 구

이 논문을 이학석사 학위논문으로 제출함



2012년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

해 양 생 물 학 과

정 용 태

정용태의 이학석사 학위논문을 인준함.

2012년 2월 24일



주 심 이학박사 백혜자



위 원 이학박사 곽우석



위 원 이학박사 김진구



목 차

요약	ii
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	5
1. 실험표본 및 조사방법	5
2. 형태 분석	7
3. Mitochondrial DNA 분석	8
가. Genomic DNA 추출	8
나. 중합효소연쇄반응	9
다. 자료 분석	10
4. Microsatellite DNA 마커를 이용한 집단 분석	11
가. Genomic DNA 추출	11
나. 중합효소연쇄반응	12
다. 유전자다양성분석	14
III. 결과	15
1. 형태분석	15
2. Mitochondrial DNA 분석	22
3. Microsatellite DNA 분석	29
IV. 고찰	33
1. 형태분석	33
2. MtDNA 분석을 이용한 집단 간 유전자 다양성 차이	35
3. Microsatellite DNA marker를 이용한 집단 분석	37
V. 참고문헌	41
감사의 글	48

Comparison of morphological and genetic variation in
wild and released, *Platichthys stellatus*

Yong Tae Jeong

Department of Marine Biology
Pukyong National University

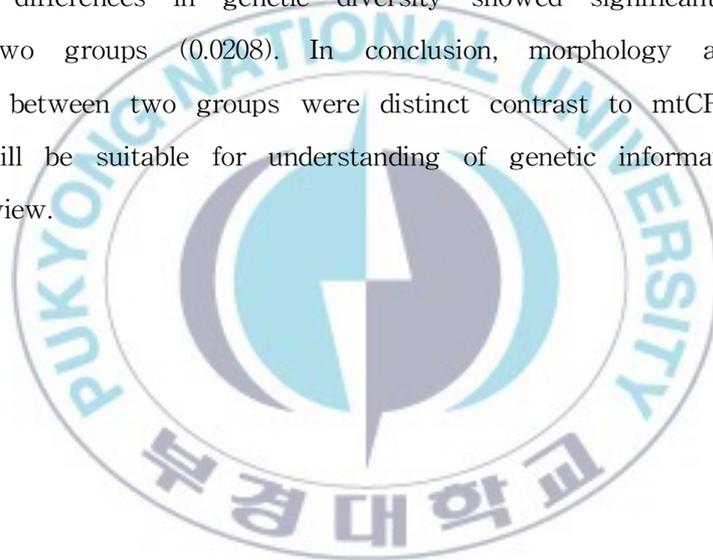
Abstract

Starry flounder, *Platichthys stellatus*, family Pleuronectidae is benthic species and distributed in Northern middle East Sea through all over the North Pacific.

Starry flounder has a royal reputation for raw fish not only in Korea but also China than olive flounder. Even though demand is increasing, supply does not reach it due to the reduction of resources and closing season. Thus over 500,000 seeds has been releasing for recover since 2006. However, used individual for producing artificial seeds should be considered how they effect wild environment due to their limited gene pool. Therefore, this research is about comparing two groups in morphology, genetic diversity of mtDNA control region and MS DNA.

The result of morphological modification analyzation for each 30 released and wild individuals from Ul-jin and Po-hang, East Sea of Korea between 2009 December and 2010 November showed distinct blackening in blind side and deformation in anal fin ray. According to mtDNA control region analysis result, genetic distance in released group was 0%~1.4%, wild group was 0%~1.1% and between two groups were 0%~1.4%. There were no significant differences in intra and intergroup. Two groups mixed well in NJ-tree. There

was no significant differences in intergroup genetic diversity as well as low F_{ST} (-0.00849) value($p>0.05$). Size of msDNA alleles analyzed by 6 markers ranged 188-266bp. Total number of alleles(A_T) were 5.5 in released group and 7 in wild group. Number of allelic richness(A_R) ranged 5.0-8.0, wild group (7.0) was 21.43% lower than released (5.5) group. Observed heterozygosity(H_O) and expected heterozygosity(H_E) for released group 0.550 and 0.592 were lower than wild group 0.700 and 0.737. Average inbreeding coefficient(F_{IS}) was higher in released group; released group was 0.073 and wild group was 0.045. F_{ST} , degree of differences in genetic diversity showed significant differences between two groups (0.0208). In conclusion, morphology and msDNA differences between two groups were distinct contrast to mtCR. Therefore, msDNA will be suitable for understanding of genetic information through ecological view.



I. 서론

강도다리(*Platichthys stellatus*)는 가자미목(Pleuronectiformes), 가자미과(Pleuronectidae)에 속하는 저서성 어류로서 북태평양의 전 해역에 광범위하게 분포하며, 우리나라에는 동해 중부 이북에 주로 분포한다. 동해 연안 근처 수심 200m 내에 서식하며, 연안성 어류지만 산란을 하기위해 민물과 바닷물이 만나는 기수지역이나 강 하구까지 올라오는 행동 습성을 가진다(Byun *et al.*, 2008).

전 세계적인 수산자원 관리의 방향은 감소된 수산자원을 어떻게 안정적인 수준으로 회복을 시키는가에 초점이 맞추어져 가고 있으며, 이를 근거로 하여 다양한 방법을 이용한 marine stock enhancement (MSE) program이 이루어지고 있다(Bell *et al.*, 2008).

일본의 경우, 1974년부터 양식산 참돔(*Pagrus major*)방류를 시작으로 감성돔(*Acanthopagrus schlegelii*), 넙치(*Paralichthys olivaceus*)등 다양한 해산어류를 대상으로 한 수산 자원 관리 프로그램 (MES)이 이루어지고 있으며, 특히 참돔의 경우 전 세계적으로 가장 큰 자원관리 프로그램으로서 진행이 되어졌다(Sekino *et al.*, 2002; Kitada & Kishino, 2006; E. Blanco Gonzalez *et al.*, 2008; Kitada *et al.*, 2009).

국내의 경우 1980년대 후반 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 인공종묘생산 기술이 개발되었으며, 이후 참돔(*Pagrus major*), 돌돔(*Oplegnathus fasciatus*)등의 상업어종을 대상으로 한 종묘생산 기술이 확보됨에 따라 자원회복과 바다목장에 관한 사업을 1998년부터 남해안 (통영)을 중심으로 수행되어져 오고 있다.

강도다리는 우리나라뿐만 아니라 중국에서도 넙치에 비해 고급 상업어종

으로 평가를 받고 있으며, 이에 따른 강도다리의 수요는 매년 증가하고 있는 추세이지만, 자원량의 감소와 어획 시기 제한 등으로 인해서 수요를 충족시키지 못하고 있는 실정이다. 그러나 2004년 강도다리의 인공종묘생산 기술이 성공함으로써 2006년부터 현재까지 연간 50만 마리 이상의 강도다리 인공종묘개체들이 자원 회복 및 조성용으로 방류되고 있다(변 등., 2008).

하지만 최근에 들어 이러한 수산 자원 관리의 유효성을 평가하는데 있어서 방류집단들이 자연 생태계 내 집단에게 미치는 유전적 영향에 대한 것에 초점이 맞춰지기 시작하였다(Ortega-Villaizán *et al.*, 2006; Blanco Gonzalez *et al.*, 2008).

앞서 언급한 자원 관리의 유효성 평가에 대한 연구로 넙치 집단의 유전학적 구조(Liu *et al.*, 2005), 양식집단의 유전적 다양성 감소(Sekino *et al.*, 2002), 참돔 방류집단이 자연집단에게 미치는 유전적 영향(Kitada *et al.*, 2010), 자원관리 프로그램으로 이루어진 감성돔의 방류가 자연산 집단에게 미치는 유전적 영향에 대한 모니터링(Blanco Gonzalez *et al.*, 2008)등이 이루어지고 있으며, 이러한 연구 결과들은 인공종묘생산을 위해 이용된 어미 집단들은 자연 집단에 비해 적은 유전자원(gene pool)을 가지고 있으며, 이들로 부터 생산된 종묘개체들은 자연집단뿐만 아니라 어미집단보다 유전자 빈도 및 대립유전자의 감소가 나타나게 된다고 보고하고 있다(Norris *et al.*, 2000; Sekino *et al.*, 2002; Kitada *et al.*, 2010; Jeong & Jeon., 2008).

이러한 유전적 다양성 평가는 생물 집단의 환경 적응에 대한 지표로서 아주 중요하며, 이러한 유전적 다양성을 평가하고 파악하는 것은 수산자원관리에 있어서 아주 중요한 과정이 되었다(Norris *et al.*, 2000).

현재까지 이루어진 강도다리에 대한 연구로는 강도다리의 난발생과 자치어 형태발달(Byun *et al.*, 2007), 담수 순환시 삼투압 조절에 미치는 감상

선호르몬의 영향(Lim *et al.*, 2009), 실내 사육한 강도다리의 성숙속과 생식 주기(Min *et al.*, 2007) 등 주로 초기 생활사 및 생리학적 연구만 이루어져 있을 뿐 강도다리의 방류산 및 자연산의 형태 및 유전적 다양성에 관한 연구는 전무한 실정이다.

특히 유전적 다양성 분석을 위해 다양한 방법들이 제시가 되고 있는데, 최근에 들어 분자적 기술이 발전함에 따라 집단 유전자 다양성을 평가하는데 있어서 Mitochondrial DNA (mtDNA)와 핵 DNA 내에 존재하는 Microsatellite DNA (MS) 마커가 광범위하게 이용되어지고 있다.

Mitochondrial DNA (mtDNA)는 어류의 집단 유전학 연구에 있어서 유용한 마커로 이용되어 지고 있으며(Bal *et al.*, 2007, Saito *et al.*, 2008; Hamasaki *et al.*, 2010), 특히 mtDNA 내에 존재하는 control region (CR)은 모계 유전(maternal-inheritance)을 하며, 기능적으로 non-coding되어 있기 때문에 유전자위의 진화속도가 급격히 일어나는 영역으로서 mtDNA 내 영역들 중 집단 유전을 연구하는 분자 마커로서 널리 이용되어지고 있다(Avise *et al.*, 2000).

Microsatellite DNA (MS)마커는 해양 및 수산 양식 생물의 집단 유전학, 어미집단의 유전자 관리 등의 연구에 이용되어지고 있으며, MS 마커를 이용하여 양식집단과 자연산집단의 유전자 다양성 비교, 자원관리 프로그램의 유전적 영향에 대한 모니터링, 유효 개체군 증가를 위한 어미집단 관리 등의 연구가 활발히 이뤄지고 있다(Sekino *et al.*, 2002; Blanco Gonzalez *et al.*, 2008, 2010).

Microsatellite (MS)마커는 핵DNA 염기서열 상에서 2-6개의 염기가 반복적으로 나타나는 DNA로서 공우성(codominant)으로 allozyme 및 mitochondrial DNA에 비해 변이 정도가 크기 때문에 집단유전학에서 강력한 유전자 마커로서 이용되어지고 있다(Avise *et al.*, 2000). 따라서 본 연

구에서는 강도다리 방류산과 자연산 두 집단의 형태적인 변이를 비교하여 두 집단을 구분 짓고, 집단유전학에서 유용하게 이용되어지고 있는 각기 다른 두 유전자 마커를 이용, 두 집단 간의 유전적 다양성을 비교하여 자연산집단들의 유전적 다양성을 보전하고 파악함으로써 강도다리의 자원관리를 함에 있어서 유용한 기초 자료를 제공하는데 있다.



II. 재료 및 방법

1. 실험표본 및 조사 방법

2009년부터 2010년까지 울진연안에서 저인망으로 채집된 방류산 38개체와 포항에서 채집된 자연산 50개체 중 형태 변이 분석은 각 집단별로 27개체를 이용하였다(Fig. 1). 방류산과 자연집단의 구분은 인공종묘생산 시에 나타나는 무안측의 검은 반점의 유무와 돌연변이의 유무로서 두 집단을 구분하였다.



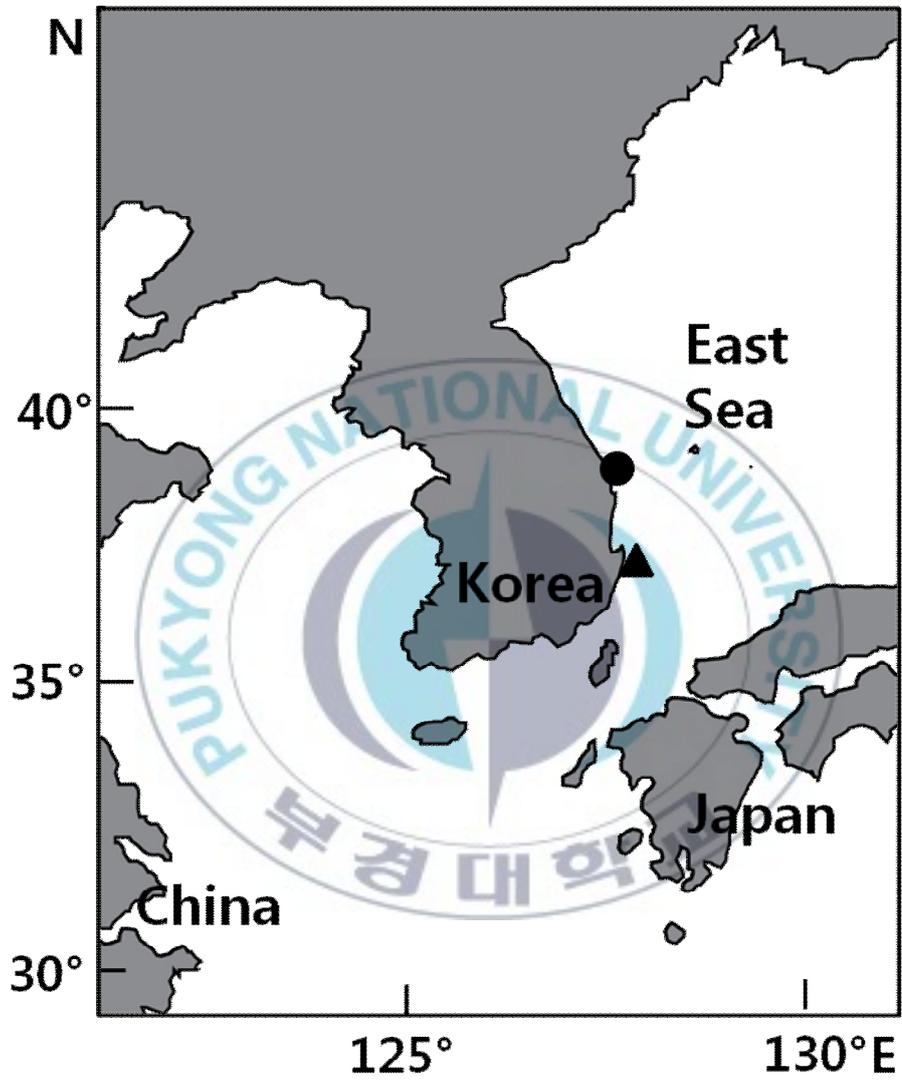


Fig. 1. Sampling site of released (●) and wild (▲) *Platicthys stellatus* from marine ranching area.

2. 형태 분석

계수 및 계측은 Hubbs and Lager (2004)의 방법을 따라 버니어 캘리퍼스로 몸의 각 부위를 0.1 mm 단위까지 측정하였다. 계수형질은 등지느러미 연조수(Dorsal fin rays), 유안측 가슴지느러미 연조수(Pectoral fin rays on ocular side), 무안측 가슴지느러미 연조수(Pectoral fin rays on blind side), 유안측 배지느러미 연조수(Pelvic fin rays on ocular side), 무안측 배지느러미 연조수(Pelvic fin rays on blind side), 뒷지느러미 연조수(Anal fin rays), 복추골(abdominal vertebrae), 미추골(Caudal vertebrae), 척추골수(total vertebrae), 상엽의개수(Gill rakers, upper limb), 하엽의개수(Gill rakers, lower limb)로 총 11개를 이용하였으며, 계측 형질은 체장(Standard length)의 19개를 이용하였다.

계수 형질에 의한 형태분석은 SPSS 10.1 프로그램을 이용하여 Kruskal-Wallis test를 실시하였으며, 이들 집단 간 계측형질을 이용하여 각 개체가 속하는 집단을 예측하고, 집단 간 차이 유무를 파악하기 위하여 동일 프로그램을 이용하여 판별분석을 실시하였다. 척추골수 및 골격 이상 현상은 soft X-ray (SOFT HA-100, Japan)를 이용하여 확인 및 계수하였다.

3. Mitochondrial DNA 분석

가. Genomic DNA 추출

실험에 사용된 시료는 2009년 12월부터 2010년 11월까지 동해안 울진 지역에서 저인망으로 채집된 방류산 23개체와 경북 포항 형산강연안에서 채집된 자연산 36개체를 대상으로 mtDNA 분석을 실시하였다. 채집한 후, 99.9% ethanol에 고정하여 사용하였다. Genomic DNA는 Chelex 100 resin (Bio-rad, USA) 150 μ 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.

나. 증합효소연쇄반응

미토콘드리아 DNA control region 영역은 Tinti *et al.* (1999)의 방법을 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. 10X PCR buffer 2.5 μ l, 2 mM dNTP 2 μ l, primer A primer 1 μ l, primer H primer 1 μ l, FR taq polymerase 0.25 μ l (Biomedic, Korea)를 섞은 혼합물에 genomic DNA 2 μ l를 첨가한 후, 총 25 μ l가 될 때까지 3차 증류수를 넣고 Thermal cycler (Bio-rad MJ mini PTC-1148, USA)를 이용하여 다음과 같은 조건으로 PCR을 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. PCR 완료 후 1% Agarose gel에 PCR product 와 10X loading buffer (Takara, Japan)를 섞은 혼합물을 넣은 후, 전기영동기 (Mupid-One Mupid-exU, Japn)를 100 voltage에서 30분 동안 작동 시켜 밴드의 유무를 판독하였다.

확인 된 PCR product는 ExoSAP-IT (United States Biochemical Corporation, USA)에 섞은 후, Thermal cycler (Bio-rad MJ mini PTC-1148, USA)에 넣고 37 $^{\circ}$ C에서 10분, 80 $^{\circ}$ C에서 15분 동안 두었다. 염기서열은 ABI bigdyeterminator cycle sequencing ready reaction kit v3.1 (Applied Biosystems Inc., USA)를 이용하여 다음과 같은 조건으로 cycle sequencing하여 얻었다: PCR reaction 35cycles (denaturation 96 $^{\circ}$ C; 10초, annealing 55 $^{\circ}$ C; 10초, extension 60 $^{\circ}$ C; 3분)

다. 자료 분석

미토콘드리아 DNA control region 염기서열은 BioEdit version 7.0.0 (Hall, 1999)의 ClustalW (Thompson *et al.*, 1994)를 이용하여 Full multiple alignment 하였다. 염기 서열 간 유전거리는 Mega 4 (Tamura *et al.*, 2007)의 Pairwise distance를 Kimura-2-parameter모델 (Kimura, 1980)로 계산하였다. 구해진 유전자거리를 Neighbor joining (NJ) 방법을 이용하여 분지도를 작성하였다. Bootstrap은 1000번 수행하였으며, 외집단으로 NCBI (National Center for Biotechnology Information)에 등록된 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)와 도다리(*Pleuronichthys cornutus*)의 DNA 염기서열을 비교 분석하였다.

집단 유전학적 분석은 Arlequin 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005) 프로그램을 이용하였다. 두 집단 간 유전적 분화정도를 추정하기 위해 Pairwise F_{ST} 값을 구하였으며(Slatkin and Hudson, 1991), F_{ST} 값의 유의성 검증을 위하여 10,000번의 random permutation을 실행하였다.

유전적 다양성(genetic diversity)의 정도를 검증하기 위해 Haplotype diversity (H)와 Nucleotide diversity (π)를 구하였으며, 유전자형 (Haplotype)을 결정한 후 TCS 1.21 (Clement *et al.*, 2000)을 이용하여 Haplotype 네트워크를 작성하였다.

4. Microsatellite DNA 마커를 이용한 집단 분석

가. Genomic DNA 추출

실험에 사용된 시료는 2009년 12월부터 2010년 11월까지 동해안 울진 지역에서 저인망으로 채집된 방류산 30개체와 경북 포항 형산강연안에서 채집된 자연산 30개체를 대상으로 실시하였다. 채집 후 즉시 99.9% ethanol에 고정하여 사용하였다. 강도다리 genotype 분석을 위한 genomic DNA 분리는 Chelex 100 resin (Bio-rad, USA) 150 μ 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.

나. 중합효소 연쇄반응

Microsatellite (MS) DNA 마커는 Miao *et al* (2009)이 고안한 6개의 marker를 사용하였다(Table 1). PCR은 10X PCR buffer 2.5 μ l, 2 mM dNTP 2 μ l, primer A primer 1 μ l, primer H primer 1 μ l, FR taq polymerase 0.15 μ l (Biomedic, Korea)를 섞은 혼합물에 genomic DNA 2 μ l를 첨가한 후, 총 25 μ 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 product 와 10X loading buffer (Takara, Japan)를 섞은 혼합물을 넣은 후, 전기영동기(Mupid-One Mupid-exU, Japn)를 100 voltage에서 30분 동안 작동 시켜 밴드의 유무를 판독하였다.

Table 1. Characterization of two polymorphic microsatellites isolated from *Platichthys stellatus*. The number of alleles (A), annealing temperature (Ta), GenBank accession number.

Locus	Repeat sequence	Primer sequence (5'-3')	T _a (°C)	N _a (size range, bp)	H _o	H _E	P	Accession
Plst9	(GT) ₁₉	CCAGGTGCCAGCCAGAGTAG AGAGAGCAGAGCCGACAAA	53	6 (255 - 297)	0.8000	0.7667	0.7337	EU563863
Plst37	(AC) ₉	TGTAGACATGTTAGCGCGGA CGTCAGTCAGGGGAAGAAGA	53	3 (250 - 262)	0.7143	0.6435	0.0012*	EU563891
Plst19	(AC) ₉	GCCAGACGACCGATGATGTGA AATCGTCAAAAACCCACCG	53	2 (265-267)	1.0000	0.6576	0.0000*	EU563873
Plst13	(AC) ₂₁	AGATAGACACGGGAATGAA CCTGGAACGTGGCTAATAAAA	53	3 (288-296)	0.4815	0.6457	0.0365	EU563867
Plst8	(GT) ₁₉	ATGGGTTGGCAAGTCAGAGA GCCCGATTTTGCTTACGAAA	53	3 (240-250)	0.7667	0.6198	0.0947	EU563862
Plst3	(GT) ₁₀ N ₂₅ (TG) ₅	TAAATCCGATGGCATAGAGT ATTGGAGTTTGGGCAGAGG	54	4 (228-240)	0.6207	0.6068	0.0305	EU563857

T_a, Annealing temperature; N_a, observed number of alleles; H_o, observed hetero zygosity; H_E, expected hetero zygosity; * indicated significant deviation from HWE after bonferroni correction (adjust P-value = 0.0042)

다. 유전자 다양성 분석

분석에 사용한 6개의 microsatellite DNA 마커를 이용, 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_0), 기대치 이형접합률(H_E), 집단 크기를 보정한 대립유전자수(allelic richness)를 비교하였다. GENEPOP ver. 3.4 프로그램을 사용하여, 집단 내에서 Hardy-Weinberg expectation (HWE)의 유무를 조사하기 위해 근친 교배수(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 FSTAT를 이용하여 F_{ST} 수치를 측정하였으며, 유의성 검정을 위해 마찬가지로 random allelic permutation 과정을 최소한 10,000번 이상 거쳐 수행하였다(Weir and Cockerham, 1984).

Ⅲ. 결 과

1. 형태 분석

경북 울진 연안에서 채집된 강도다리 방류산 27개체(전장 156.9mm~296.3 mm) 및 경북 포항에서 채집된 자연산 27개(전장 195.4mm~332.9mm)의 형태 변이를 분석 한 결과, 무안 측의 흑화 현상이 방류산 집단 전 개체에서 관찰되었으며(Fig. 2), 특히 뒷지느러미 및 꼬리지느러미 기초의 기형 현상이 두드러지게 나타났다. 지느러미 기초의 기형 현상이 나타난 방류산 집단을 X-ray를 이용한 척추골 관찰 결과 이 중 2개체에서 미추골 중앙부의 척추골융합현상이 관찰되었다.

두 집단의 11개의 계측형질을 이용한 Kruskal-Wallis test를 실시 결과, 총 7개의 계측형질(등지느러미 연조수, 유안측 가슴지느러미 연조수, 무안측 가슴지느러미 연조수, 미추골, 척추골수, 상엽의 개수, 하엽의 개수)에서 유의한 차이를 보였다($p<0.05$) (Table 4). 두 집단 간 계측형질을 이용한 판별분석 결과 통계적으로 유의한 평균 차이를 나타내었으며, 두 집단이 구분되었다($p<0.05$). 판별 분석에 이용된 총 20개의 계측형질 중 두 집단을 구분하는 데 있어 기여하는 형질은 2개(최대 뒷지느러미 연조길이, 유안측의 가슴지느러미 길이)로 나타났으며 통계적으로 유의한 차이를 나타내었으나($p<0.05$), 나머지 18개 형질에서는 유의한 차이를 나타내지 않았다($p>0.05$) (Tables 2, 3). 각 집단 간 함수 집단중심점은 0.593이며 중심점을 기준으로 실제 집단에서 판별분석에 의해 오판될 확률은 자연산에서

1개체, 방류산에서 4개체로 나타남으로써 구분되었다(Fig. 3). 판별적중률은 각각 자연산에서 96.3%, 방류산에서 85.2%로 전체 90.7%의 높은 판별 적 중률을 보였으며 오판률은 0.093 (=5/54)으로 나타났다. 정준상관계수는 0.949로 1에 가까운 계수 값을 나타내고 통계적으로 유의한 값($p < 0.05$)을 보였다. 계수 및 계측형질을 이용한 Kruskal-Wallis test와 판별분석 결과로 보아 형태형질로서 두 집단 간 잘 구분되는 것을 볼 수 있었다.



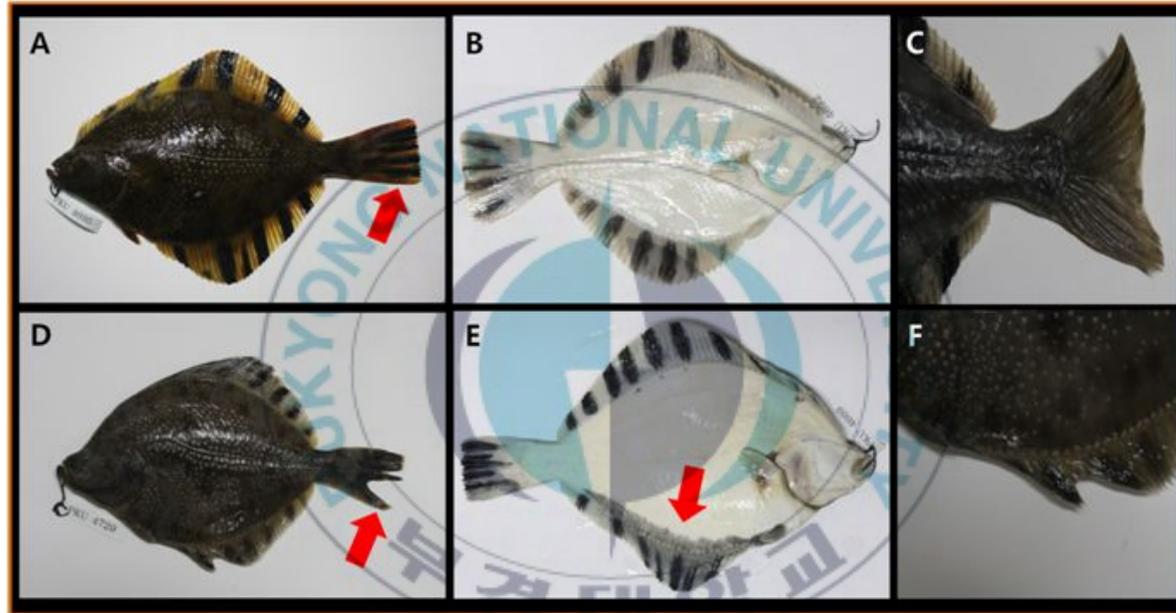


Fig. 2. Photos of released and wild *Platichthys stellatus*. (A–B: wild, D–E: released, C and F: released specimens showing deformed caudal fin and anal fin). The arrows indicated deformation of caudal fin (A–D) and blackening (E).

Table 2. Comparison of counts and measurements of released and wild *Platichthys stellatus*.

Characteristics	Released population	Wild population
No. of fish specimens	27	27
Standard length(mm)	156.9 – 296.3	195.4 – 332.9
In % of standard length		
Head length	28.9 – 33.8 (30.7, 27)	28.4 – 34.5 (30.1, 27)
Body depth	55.2 – 68.8 (60.7, 27)	52.5 – 64.1 (56.1, 27)
Body width	9.5 – 13.4 (11.4, 27)	8.5 – 13.0 (10.6, 27)
Predorsal length	5.6 – 9.2 (7.7, 27)	5.7 – 8.5 (7.3, 27)
Prepectoral length	28.1 – 34.1 (30.3, 27)	28.0 – 34.2 (29.9, 27)
Preventral length	28.5 – 35.2 (31.4, 27)	28.2 – 37.6 (31.6, 27)
Preanal length	33.5 – 44.4 (37.7, 27)	30.9 – 42.1 (37.0, 27)
Caudal peduncle length	8.9 – 13.0 (11.3, 27)	9.3 – 14.0 (10.7, 27)
Dorsal fin base length	78.8 – 91.6 (85.4, 27)	80.8 – 96.1 (85.0, 27)
Anal fin base length	55.3 – 71.4 (60.6, 27)	56.6 – 68.7 (60.9, 27)
Length of the Maximum dorsal fin	10.7 – 18.6 (14.8, 27)	12.8 – 16.9 (15.0, 27)
Length of the Maximum anal fin	7.2 – 17.0 (13.5, 27)	13.6 – 17.0 (15.4, 27)
Pectoral fin length on ocular side	7.1 – 17.4 (13.8, 27)	12.6 – 17.2 (14.7, 27)
Pectoral fin length on blind side	10.2 – 16.8 (12.8, 27)	10.2 – 13.4(11.5, 27)
Pelvic fin length on ocular side	9.3 – 14.3 (10.5, 227)	8.2 – 11.6 (10.4, 27)
Pelvic fin length on blind side	8.8 – 11.4 (10.5, 27)	8.5 – 11.9 (10.5, 27)
In % of Head length		
Eye diameter	13.3 – 18.0 (16.5, 27)	13.8 – 18.7 (15.9, 27)
Snout length	14.5 – 22.1 (19.0, 27)	16.5 – 21.5 (19.5, 27)
Upper jaw length	24.7 – 30.6 (28.1, 27)	24.2 – 29.2 (27.0, 27)
In % of dorsal fin base length		
Anal fin base length	64.0 – 82.6 (70.5, 27)	67.3 – 76.4 (71.7, 27)

Min ~ max (Mean and sample size in parentheses)

Table 2. continued

Count		
Abdominal vertebrae	10 - 12	10 - 12
Caudal vertebrae	22 - 26	24 - 26
Total vertebrae	33 - 37	35 - 37
Gill rakers, upper limb	6 - 9	7 - 10
Gill rakers, lower limb	3 - 5	3 - 5
Dorsal fin rays	61 - 71	56 - 61
Pectoral fin rays on ocular side	10 - 13	9 - 11
Pectoral fin rays on blind side	9 - 12	9 - 11
Pelvic fin rays on ocular side	5 - 6	5 - 6
Pelvic fin rays on blind side	6	6 - 7
Anal fin rays	39 - 47	40 - 45



Table 3. Comparison of counts of released and wild *Platichthys stellatus*.

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

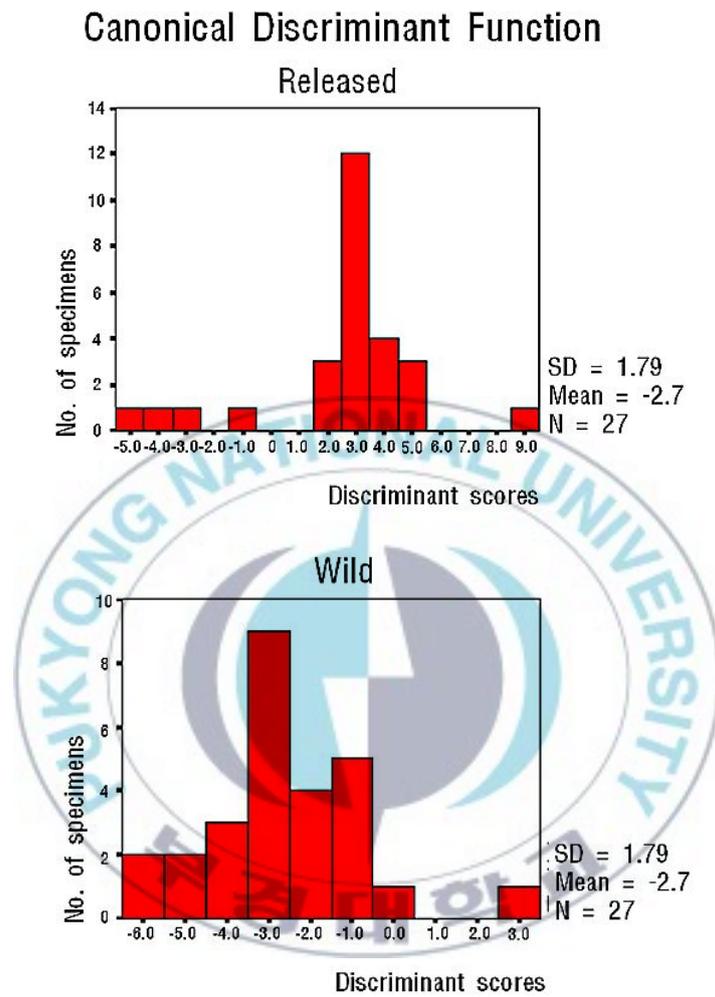


Fig. 3. Result of canonical discriminant analysis between released (A) and wild (B) *Platichthys stellatus*.

2. Mitochondrial DNA 분석

2009년 12월부터 2010년 11월까지 경북 울진 연안에서 저인망으로 채집된 방류산 23개체와 경북 포항 형산강연안에서 자망으로 채집된 자연산 36개체를 대상으로 실시한 mitochondrial DNA 분석 결과, PCR을 통해 증폭시킨 control region은 총 375 base-pairs를 얻었다. 총 375bp 중 염기의 치환(substitution)은 12개로 나타났으며, 염기의 결실(indel)은 나타나지 않았다. 유전자형은 총 7개이며, 이중 유전자형 Hap 1이 두 집단에서 가장 많이 관찰되었으며(자연산: 56% vs 방류산: 61%), 자연산 집단에서는 총 6개의 유전자형이 관찰되었으며(Hap1, Hap2, Hap3, Hap4, Hap5, Hap6), 방류산 집단에서는 총 5개의 유전자형이 관찰되었다(Hap1, Hap3, Hap4, Hap5, Hap7). 총 7개의 유전자형 중 4개의 유전자형이 두 집단에서 나타났으며, 2개의 유전자형(Hap2, Hap6)은 자연산에서만 관찰되는 반면에 방류산에서는 1개의 유전자형(Hap7)만이 관찰이 되었다(Table 5). 이들 유전자형 네트워크를 작성한 결과, 두 집단 모두 최우점하는 Hap1을 중심으로 6개의 유전자형이 방사형태로 나타났으며(Fig. 4), 이들 유전자형의 집단 내 유전적 거리는 방류산이 0%~1.4%, 자연산이 0%~1.1%였고, 두 집단 간에는 0%~1.4%로 집단 내, 집단 간 유전적 차이는 거의 없이 유사하였다. 유전적 다양도(haplotype diversity, H)는 방류산집단과 자연산 집단이 각각 0.65와 0.61로 차이가 없이 낮은 유전적 다양도를 나타내었다. 염기 다양도(nucleotide diversity, π)는 방류산 집단이 0.0038, 자연산이 0.0045로 염기 다양도 역시 낮게 나타났다(Table 6). 두 집단의 염기서열을 이용하

여 작성한 NJ-tree에서는 두 집단이 구분되지 않고 고루 섞여 나타났다 (Fig. 5). 두 집단간 유전적 차이 유무를 파악할 수 있는 F -통계량은 -0.00849 로 매우 낮았으며, p -value 또한 0.41 로 통계적으로 유의한 차이가 없는 결과를 나타내었다(Table 7).



Table 4. Results of Kruskal–Wallis test for meristic characters between wild and released of *Platichthys stellatus*.

Character	Wild	Released
Abdominal vertebrae	11.0	10.9
Caudal vertebrae [*]	24.7	24.1
Total vertebrae [*]	35.7	34.9
Upper limb of gill rakers [*]	8.3	7.4
Lower limb of gill rakers [*]	4.4	3.5
Dorsal fin rays [*]	58.6	64.1
Pectoral fin rays on ocular side [*]	10.2	10.9
Pectoral fin rays on blind side [*]	10.0	10.3
Pelvic fin rays on ocular side	5.9	6.0
Pelvic fin rays on blind side	6.1	6.0
Anal fin rays	42.5	43.2

Note: superscript letters (*) indicate significant difference ($p < 0.05$).

Table 5. The haplotype frequencies of control region in *Platichthys stellatus*.

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



Table 6. Genetic diversity indices of released and wild *Platichthys stellatus*.

Genetic diversity indices	Wild	Released
No. of specimens	36	23
No. of haplotype	6	5
No. of polymorphic sites	6	6
No. of observed transitions	5	6
No. of observed transversions	1	0
No. of observed indels	0	0
H	0.6508±0.0730	0.6126±0.1040
π	0.0038±0.0026	0.0045±0.0031

H, haplotype diversity; π , nucleotide diversity

Table 7. Pairwise F_{ST} (below diagonal) and associated P values (above diagonal) for two groups of *Platichthys stellatus*.

	Released	Wild
Released	-	0.52252
Wild	-0.00849	-

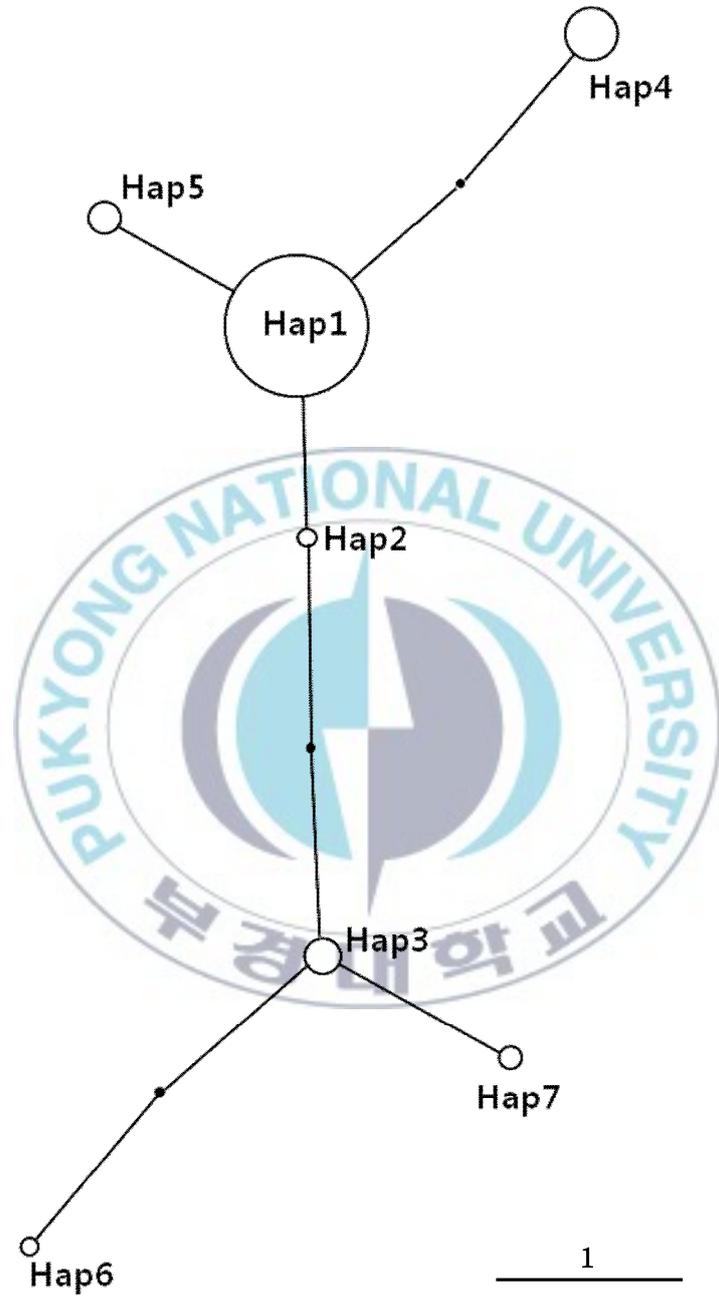


Fig. 4. A single minimum spanning tree of the 7 mtDNA haplotype of *Platichthys stellatus*. Circle size reflect haplotype abundances. Bars reflect a 1-nucleotide difference.

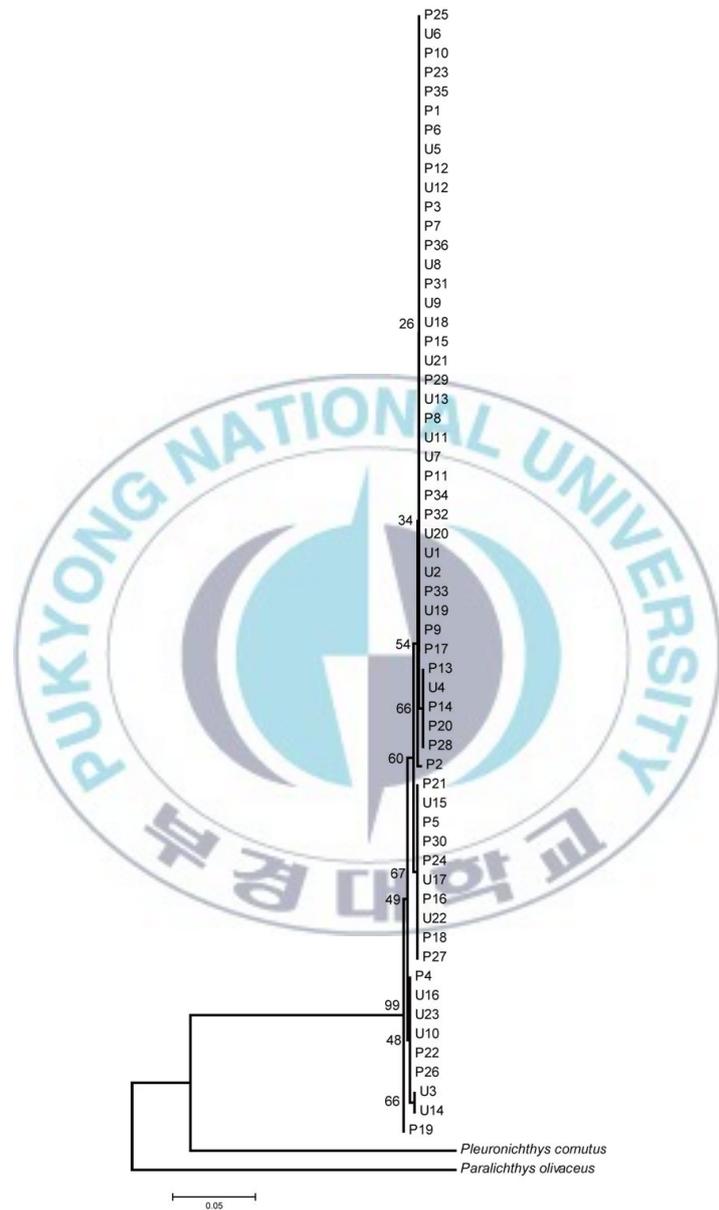


Fig. 5. Neighbor joining tree based on partial mtDNA control region sequences showing the relationships among released and wild *Platichthys stellatus* and 2 outgroups. Bar indicates genetic distance of 0.05. (U: released, P: wild)

3. Microsatellite DNA 분석

경북 포항에서 채집된 자연산 30개체와 울진에서 채집된 방류산 30개체를 대상으로 microsatellite (MS) DNA maker 6개를 이용하여 유전자형을 분석한 결과, 대립유전자 크기는 188-315 base-pair 범위에 있었다. 방류산과 자연산에서 전체적으로 37개의 다른 대립유전자가 관찰되었으며(Table 8), 유전자좌당 평균 대립유전자수(A_T)는 방류산이 4.5개이며, 자연산이 7개로 자연산이 높게 나타났다.

모든 loci 분석에서 집단의 크기를 보정한 대립유전자수인 A_R 은 방류산 집단의 Plst 3에서 최소 3개의 대립유전자를 나타냈으며, 자연산 집단의 Plst 13 마커에서 최대 10.7개가 확인이 되었다.

6개의 MS DNA marker를 이용한 결과, 마커 별 대립유전자의 특징에 대해 살펴보면, Plst 9는 총 8개의 대립유전자가 관찰되었으며, 이 중 주요 대립유전자는 206, 200, 194이며, 방류산에서는 나타나지 않는 2개의 대립유전자 (188, 208)가 자연산에서 관찰되었다. Plst 37은 6개의 대립유전자가 관찰되었으며, 이 중 주요 대립유전자는 256이며, 방류산에서 관찰되지 않은 대립유전자가 자연산에서 관찰되었지만, 방류산에서도 자연산에서 나타나지 않는 하나의 대립유전자를 가지는 것으로 확인되었다. Plst 19는 총 7개의 대립유전자가 관찰 되었으며, 주요 대립유전자는 269이며, 방류산에서 관찰되지 않는 대립유전자가 3개(251, 257, 273)가 관찰되었다. Plst13은 사용된 6개의 마커 중 대립유전자의 수가 10개로 가장 많이 관찰되었으며, 방류산에서 나타나지 않는 대립유전자의 수도 5개(285, 297, 301, 313, 315)

로 가장 많았다. Plst8은 사용 된 6개의 마커 중 대립유전자가 5개로 대립 유전자의 출현빈도가 가장 적게 나타났다. 자연산과 방류산에서 새롭게 나타난 대립유전자 수는 각각 1개(자연산: 241 vs 방류산: 231)로 나타났다. Plst3은 특정 1개의 대립유전자(289)가 높은 출현 빈도를 나타내었으며, 자연산 집단에서 새롭게 나타난 대립유전자수는 4개 (267, 269, 279, 283)이고, 양식산 집단에서는 1개(291)의 대립유전자가 새롭게 관찰되었다(Fig 6). 유전자좌당 집단의 크기를 보정한 대립유전자수(A_R)는 2.9개에서 10.7개 사이였으며, 방류산의 평균 A_R 은 4.5개로 자연산의 6.9개에 비해 대립유전자의 수가 평균 34.8% 감소하는 경향을 나타내었다. 방류산의 평균 관찰치 이형접합률(H_O)과 기대치 이형접합률(H_E)은 각각 0.501과 0.550로 자연산의 평균 관찰치 이형접합률과 기대치 이형접합률(각각 0.662과 0.645)에 비해 낮은 결과를 보였다(Table 8). 방류산과 자연산 두 집단에 사용 된 모든 microsatellite marker는 Hardy-Weinberg 평형의 이탈이 관찰되지 않았다 ($p>0.05$).

방류산과 자연산 두 집단간 유전적 차이를 파악하기 위해 집단 간의 F통계량(F_{ST})을 구하였으며, 두 집단간 F 통계량은 0.0208로서 유의한 유전적 차이를 나타내었다($p<0.05$) (Table 9)

Table 8. 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}) of *Platichthys stellatus*.

Population	Plst9	Plst37	Plst19	Plst13	Plst8	Plst3	Mean
Wild							
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
Released							
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

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

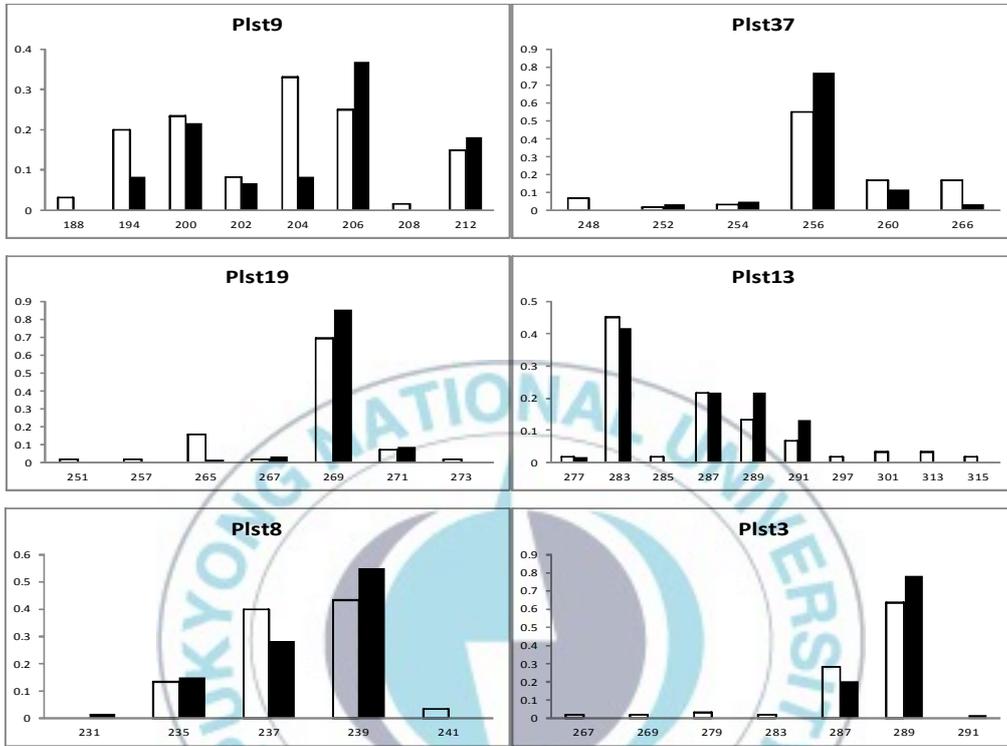


Fig. 6. Allele frequency distributions of two microsatellite loci for two populations of *Platichthys stellatus* (■: Released, Uljin, □: Wild, Pohang)

Table 9. Estimates for F_{ST} estimate between Released and Wild (p : Significant by chi-square test)

Population		Released
Wild	F_{ST}	0.0208 ($p < 0.05$)

IV. 고 찰

1. 형태 분석

경북 울진 연안에서 채집된 강도다리 방류산 27개체(전장 156.9mm~296.3 mm) 및 경북 포항에서 채집된 자연산 27개(전장 195.4mm~332.9mm)의 형태 변이를 분석 한 결과, 무안측의 흑화 현상이 출현하는 빈도가 방류산 집단 전 개체에서 관찰 되었다. 이는 유사한 생태적인 습성을 가지는 넙치의 경우에도 인공종묘 생산 시에 나타나는 뚜렷한 특징이라고 보고하고 있다 (Jeon & Jeong, 2008). 또한 두 집단을 구분하는데 있어서 돌연변이의 유무를 통해 방류산과 자연산 집단을 구분하기도 하는데, Hamasaki *et al.* (2010)의 연구 결과에 의하면 일본산 참돔의 방류산 집단에서 inter-nostril epidermis의 돌연변이(DIE)가 두드러지게 나타난다고 보고하고 있으며, 이러한 DIE는 참돔 방류산 집단에서 나타나는 독특한 형태적인 특징이며, 채집된 전체 방류산 개체들 중 약 91.4%가 DIE가 관찰된다고 보고하고 있다 (Sobajima *et al.*, 1986). 이와 유사하게 본 연구에서도 방류산 집단의 전 개체들에서 무안측의 흑화현상이 관찰 되었으며, 마찬가지로 꼬리지느러미 및 뒷지느러미 기조의 기형 현상이 방류산 집단 전 개체에서 관찰이 되었으며 이러한 결과를 미루어 보아 방류산 집단의 형태적 변이로 인해 두 집단이 구분되는 것을 알 수 있었다.

개체의 형태 형질은 선척적으로 유전 형질에 의해 주로 좌우되기도 하지만 특히 초기생활사 기간 동안의 물리적, 화학적 환경, 먹이 등 후천적인

요인에 의해 많은 영향을 받는다고 보고되어 지고 있다(Parrish and Saville, 1965; Lindsey, 1988). 특히 인공적인 환경에서 부화, 성장한 방류산 집단 개체의 경우 형태 변이에 있어 후천적인 요인이 영향을 주었을 것으로 예상이 되며 이는 계수형질을 이용한 Kruskal-Wallis test에서도 방류산 집단의 형태적인 변이가 아주 잘 나타나고 있다. 또한 계측형질을 이용한 판별분석 역시 잘 구분이 되었는데, Matsumiya & Kanamaru (1984)의 연구에 의하면 일본산 참돔의 종묘 생산된 개체와 자연산 집단을 판별분석을 이용하여 분석한 결과 3개의 기여 형질(체고, 안경, 위턱의 길이)에 의해 두 집단이 구분되었으며, 본 연구에서도 20개의 계측형질을 이용하여 판별 분석을 실시한 결과, 2개의 형질(최대 뒷지느러미 연조길이, 유안측 가슴지느러미 길이)이 방류산 집단과 자연산 집단을 구분 짓는 기여형질로서 작용하였다. 이렇게 얻어진 결과들은 향후 종묘방류가 이루어진 후 재 포획 될 시 집단을 식별하는 데 유용한 형질로서 사용될 수 있다고 보고하고 있다(Matsumiya & Kanamaru, 1984). 따라서 본 연구에도 마찬가지로 방류 집단을 관리함에 있어서 형태형질의 판별분석을 이용한 기여형질을 이용하거나 돌연변이의 유무를 판단함으로써 재 포획될 시 집단을 구분 짓는 유용한 형질로 이용될 수 있을 것으로 생각되어지며, 이를 기초 자료를 이용하여 강도다리의 자원을 관리함에 있어서 국내 방류산 강도다리의 체형 개선을 연구하는데 있어서 유용한 기초자료로서 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

2. MtDNA 분석을 이용한 집단 간 유전자 다양성 차이

Mitochondria DNA의 control region을 이용한 방법은 다양한 해산어류의 유전자 다양성을 파악하고 집단의 구조를 분석하는데 널리 이용되어 지고 있다. 특히 최근 들어 자원조성을 목적으로 인공적으로 생산되는 해산어류를 이용하여 유전적 다양성을 평가 하는데 널리 이용되어 지고 있다 (Park *et al.*, 2010; Hamasaki *et al.*, 2010). Martin *et al.* (1992)에 연구결과에 의하면 일반적으로 mtDNA내에 존재하는 control region은 염기치환율이 CO I 에서의 변이에 비하여 10배 정도 높게 나타난다고 보고되어져 있으며, 이는 mitochondrial DNA의 모든 영역 중에서 control region은 종내 변이율이 가장 높다는 것을 반영한다.

본 연구에서는 경북 울진 연안에서 저인망으로 채집된 방류산 23개체와 경북 포항 형산강연안에서 자망으로 채집된 자연산 36개체를 대상으로 mtDNA의 control region 영역을 이용하여 유전적 변이정도를 파악하였다.

본 연구에서 Haplotype diversity 는 0.65로서 이는 일본산 넙치의 1.00 (Sekino *et al.*, 2002), 밴댕이의 집단유전학적 연구결과 0.98(Wang *et al.*, 2008)보다 유전자 다양성이 낮은 결과를 보였다.

방류산 집단과 자연산 집단 간의 F_{ST} 값은 -0.008로 매우 낮게 나타났으며, 이들 두 집단 간의 유의한 유전적 분화정도가 나타나지 않았다 ($p>0.05$). 유전적 거리 또한 집단 내, 집단 간 0~0.1.4%로 차이가 거의 없이 유사하였다. 반면에 Hamasaki *et al.* (2010)이 연구한 일본산 참돔의 방류집단과 자연집단간의 유전적 변이와 Park *et al.* (2010)의 한국산 넙치

자연산과 방류산 집단 유전자 변이의 비교분석의 결과에서는 유의한 유전적 변이 정도가 집단 간 차이가 있다고 보고하고 있는데, 이는 본 연구 결과와는 다소 차이를 보이고 있다. 이러한 연구 결과는 일본산 참돔의 경우 종묘생산에 성공하고 방류가 행해진 기간이 30년 이상 지속되어져 왔으며, 우리나라에서 이루어지고 있는 넙치의 방류 또한 긴 기간에 이루어져 왔다. 특히 성장이 우수하거나 외형적으로 큰 종묘들만을 선발하고 이렇게 선발된 개체들이 세대를 거듭할수록 종묘를 생산하는 어미로서 이용되어 지기 때문에 유전자 다양성이 아주 낮은 상태의 개체들이 방류가 되어 진 것에 의한 결과라고 보고하고 있다(Hamasaki *et al.*, 2010; Park *et al.*, 2010). 이에 반해 강도다리의 경우 종묘생산이 성공하고 방류가 시작된 시기가 4년으로 상대적으로 짧은 기간에 걸쳐 이루어져 왔으며 넙치와 달리 종묘를 선발하여 세대를 거듭하지 않기 때문에 유전적 변이의 차이가 나타나지 않는 것으로 사료된다. 또한 본 연구에서 분석한 mtDNA control region의 증폭된 영역을 조사한 결과 상대적으로 변이율이 떨어지는 영역이 증폭되어 진 것으로 사료되어지며, 향후 변이율이 높은 영역을 이용한 추가 분석하여 비교한다면 보다 정확한 결과를 얻을 것으로 사료된다.

3. Microsatellite DNA marker를 이용한 집단 분석

6개의 microsatellite marker를 이용한 강도다리 자연산 집단과 방류산 집단의 유전자 다양성 분석 결과 방류산 집단에서 대립유전자의 감소가 나타났다. 본 연구 결과에서는 자연산과 방류산 집단의 유전자 좌별 대립유전자 수가 자연산 집단에서 4~10개로 방류산의 3~6보다 높은 결과를 보였다. 평균 대립유전자 수는 방류산이 7개, 방류산이 4.5개로 방류집단이 평균 34.8%로 자연산에 비해 대립유전자가 감소하는 경향을 나타내었다. 이러한 결과는 우리나라에서 방류되고 있는 넙치의 방류집단과 자연 집단의 대립유전자 감소율이 55.4%라는 결과와 비슷한 경향을 보여주고 있으며 (Jeong *et al.* 2009), Sekono *et al.* (2002)가 연구한 일본산 넙치에서도 66.3%의 높은 감소율을 보여주는 것과 유사한 결과를 나타내었다. 하지만 넙치의 경우 실제 방류나 양식용으로 생산되는 개체들은 실내에서 한정된 어미개체수가 산란에 참여하고, 1회 산란에 참여하는 어미의 비율에 8~23%로 낮기 때문에 유전적 다양성의 축소를 더욱 더 심화 시키는 요인으로 작용한다고 보고되어 지고 있지만 (Sekino *et al.*, 2002; Hamasaki *et al.*, 2010; Jeong *et al.*, 2008), 강도다리의 경우 이러한 어미개체의 유전자 관리, 종묘생산시의 어미개체들의 산란참여정도, 어미집단의 유효크기평가 등의 연구가 전무한 실정이어서 선행연구가 필요할 것으로 사료된다.

방류집단과 자연집단의 평균 관찰치 이형접합률 (H_O)과 기대치 이형접합률 (H_E)은 각각 0.501과 0.550로 자연산의 평균 관찰치 이형접합률과 기대치 이형접합률(각각 0.662와 0.645)에 비해 낮은 결과를 나타내었지만, 유의

한 차이를 나타내지 않는 것으로 보아 이형접합률보다 대립유전자의 차이가 이 두 집단을 비교하는데 더욱더 좋은 parameter로 이용될 수 있다고 생각된다.

Markov chain procedure test ($p < 0.05$)를 이용한 강도다리 방류산 및 자연산 집단이 Hardy-Weinberg 평형을 따르는지를 비교 한 결과, 두 집단에서 이용된 모든 마커에서 Hardy-Weinberg 평형상태를 보였으나($p > 0.05$), 넙치의 경우 방류산 집단에서는 Hardy-Weinberg 평형을 따르지 않으며($p < 0.05$), 자연산 집단에서는 HWE를 따르는 것으로 나타난 Jeong *et al.* (2009)의 연구 결과와는 차이를 나타내었다. 이러한 차이는 인공종묘생산에 의해 방류되어지는 개체들의 경우 제한된 사육수조 내에서 유전적 구성이 유사한 개체들 간의 교배와 산란이 이루어지기 때문에 유전적 평형에서 벗어나 있지만, 자연산 집단에서는 다양한 개체들이 상호 무작위적으로 산란에 참여함으로써 그 집단내의 유전적 조성이 변화 없이 유지된다고 보고되어 지고 있지만(Sekino *et al.*, 2002; Jeong *et al.*, 2009), 본 연구결과에서는 null alleles의 존재 및 근친교배율 혹은 연구에 사용된 개체수의 부족에 의한 현상으로 사료되어진다.

유전적 고정지수인 F_{ST} 는 두 집단 간 0.0208로서 유의한 유전적 차이를 나타내었다 ($p < 0.05$). 이는 Li *et al.* (2004)의 참전복 양식산과 자연산 집단간의 F_{ST} 범위가 0.059~0.243이라는 결과보다 본 연구의 결과가 더 낮게 나타났으며, Jeong *et al.* (2009)의 넙치를 이용한 연구 결과에서 자연산 집단과 방류산 집단에서 나타난 F_{ST} 범위가 0.008~0.056이라는 점에서는 유사한 결과를 나타내었다. 이는 인근 지역에서의 방류산 혹은 양식산 집단의 가입으로 인해 자연 집단의 유전적 조성에 영향을 준 것으로 보고하고 있다.

하지만 강도다리의 성숙체장 및 연령별 체장을 살펴보면, 강도다리의 성

숙연령은 2~3세로 암컷의 경우 3세, 성숙체장은 30cm 전 후이며, 수컷의 경우 2세, 22cm 전후에 산란에 참여한다고 보고되어 지고 있다(국립수산물학원, 2008). 하지만 본 연구에서 사용된 방류어의 체장 빈도는 2세~4세어가 19개체, 0~2세어는 8개체로 방류 시기 및 성숙 체장을 살펴보았을 때 본 연구에서 이용된 방류산 집단들은 현재 자연산 집단들과의 교배로 인한 개체들은 없을 것이라고 판단되어진다. 그러나 “동해(울진) 바다목장 해역 강도다리 방류집단의 번식능력 평가” 자료에 의하면 해역에 방류되어진 강도다리의 산란의 가능성이 확인되었으며, 이러한 결과를 미루어 볼 때 향후 방류산과 자연산 집단의 상호 교배가 이루어 질 가능성도 배제 할 수 없다.

Allendorf and Ryman (1987)의 연구결과에 따르면 집단의 유전적 다양성이 10% 감소 혹은 축소되면 자연 상태에서의 산란율이 감소하고, 병원에 대한 저항력을 약화시키며, 생존율, 성장을 등에 잠재적으로 영향을 미친다고 보고되어 지고 있다. 하지만 현재 우리나라에서 방류되고 있는 해산어류의 경우, 자연에서 서식하고 있는 어미개체를 포획하여 인공적으로 환경에서 관리를 통하여 얻어진 알로 종묘생산이 이루어지고 있는 실정이다. 그리고 이를 통해 세대를 거듭하면서 어미 선발이 이루어져 왔으며, 특히 생존율이 뛰어나고 성장이 빠른 개체들만을 우선적으로 어미로 이용되고, 산란에 참여하는 어미 개체의 수 또한 제한적이기 때문에 이들의 유전적 다양성을 고려한 방류가 사실 상 어려운 실정이다(Jeong *et al.*, 2009). 본 연구에서는 방류산 집단의 형태적인 변이의 경향이 확인이 되었으며, 이러한 결과는 MS DNA 마커의 결과를 잘 지지해준다. 자연산 집단 및 방류산 집단의 체형 개선, 유전적 다양성 감소를 최소화하고 보전 하기위해서는 앞서 말한 선행연구가 이루어져야 할 것이며, 향후 지속적인 어획으로 인한 자원감소와 어미개체들의 유전자 다양성의 관리가 이루어지지 않은 무

분별한 방류가 지속된다면, 향후 방류산 집단에 의한 자연산 집단의 유전자 다양성에 부정적인 영향이 미칠 것으로 생각되어진다. 이를 해결하기 위해서는 방류산 집단들이 자연산 집단들에게 미치는 유전적인 영향에 대한 지속적인 모니터링을 통한 이들 집단 간의 유전적 다양성의 회복시키기 위한 연구가 이루어져야 할 것으로 사료된다.



V. 참고문헌

- Allendorf, F. W. and S. R. Phelps. 1980. Loss of genetic variation in hatchery stock of cutthroat trout. *Trans. Am, Fish Soc.* 109, 537-543
- Avice JC. 2000. *Phylogeography: the History and Formation of Species.* Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Ball, A. O., Beal, M. G., Chapman, R. W. & sedberry, G. R. (2007). Population structure of red porgy, *Pagrus pagrus*, in the Atlantic Ocean. *Marine Biology* 150, 1321-1332.
- Bell, J., Leber, K., Blankenship, H. L., Loneragan, N. & Masuda, R (2008). A new era for restocking, stock enhancement and sea ranching of coastal fisheries resource. *Reviews in Fisheries Science* 16, 1-9.
- Byun, S. G., Lee, B. I., Lee, J. H., Ku, H. D., Park, S. U., Yun, S. M., Hwang, S. Y., Kim, Y. C., & Han, H. G. (2007). Egg development and morphological change of larvae and juveniles of the Starry Flounder, *Platichthys stellatus*. *Korean J. Ichthyol.*, 19(4):350-359

Byun, S. G., Jeong, M. H., Lee, J. H., Lee, B. I., Ku, H. D., Park, S. U., Kim, Y. C., Chang, Y. J. (2008). Diel rhythm of oxygen consumption of the Starry Flounder *Platichthys stellatus* by water temperature. *J. Kor. Fish. Soc.*, 41(2):113-118.

Clement M, Posaka 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, M. S., 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.

Goudet, J. (1995). FSTAT (version 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *J. Heredity*, 86:485-486.

Hubbs, C. L. and K. F. Lagler. 2004. *Fishes of the Great Lakes Region*. Revised ed. Michigan Univ. Press, Ann Arbor., 332p

- Jeong, D. S., Jeon, C. Y. (2008) Genetic variability and population structure of Olive Flounder *Paralichthys olivaceus* from stocked areas using microsatellite DNA markers. *Korean J. Ichthyol.*, 20(3): 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. & Kishino, H. (2006). Lessons learned from Japanese marine finfish stock enhancement programmes. *Fisheries Research* 80, 101-112.
- Kitada, S., Shishidou, H., Sugaya, T., Kitakado, T., Hamasaki, K. & Kishino, H. (2009). Genetic effects of long-term stock enhancement programs. *Aquaculture* 290, 69-79.
- 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. *Journal of Fish Biology* (2010) 77, 2123-2136

Li, Q., Park, C., Endo, T. & Kijima, A. (2004). Loss of genetic variation at microsatellite loci in hatchery strains of the Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*). *Aquaculture*, 235:207-222.

Lindsey CC. 1988. Factors controlling variation in Fish Physiology, Ed. by Hoar WS and Randall DJ. Academic Press, New York. 197-274

Lim, H. K., & Kim, S. Y. (2007). Effect of exogenous hormones on spermiation in the Starry Flounder *Platichthys stellatus*. *J. Kor> Fish. Soc.*, 40(6):374-379.

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. & Tateishi, M. (1984) Morphometric comparison between artificially-released red sea bream and 0-age wild fish. *Bull, Jan, Soc, Sc, Fish.*, 50, 1173-1178.

Norris, A. T., D. G. Bradley and E. P. Cunnungham. 2000. Parentage and relatedness determination in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) using microsatellite markers, *Aquaculture*, 182: 73-83.

- Ortega-Villaizán Romo, M.M., Aritaki, M., Taniguchi, N., 2006. Pediree analysis of recaptured fish in the stock enhancement program of spotted halibut *Verasper variegatus*. *Fisheries Science* 72, 48-52
- Parrish, B. B., & Saville, A. 1965. The biology of the north-east atlantic herring population. *Ocean. Mar. Biol. Ann. Rev.*, 3, 323-372.
- Park, J. Y., Kim, K. K., Kim, M. J. (2010). Genetic differences between wild and cultured populations in Olive Flounder in Korea based on mitochondrial DNA analysis. *J. Life Sci.* 20(4): 614-617
- 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., & 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. *Journal of Fish Biology* 73, 1937-1945.
- Sekino, M., Hara, M. & 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. & 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 (in Japanese with English abstract).
- 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.
- Gonzalez, B. E., 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.
- Wang, M., X. Zhang, T. Yang, Z. Han, T. Yanagimoto, and T. Gao. 2008. Genetic diversity in the mtDNA control region and population structure in the *sardinella zunasi* Bleeker. *African J. Biotech.* 24, 4384-4392

Weir, B. S. & Cockrham, C. C. (1984). Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 38:1358-1370.

변순규, 남명모, 이배익, 임한규, 이종하, 김이청. (2008). Manual of starry Flounder Culture (강도다리 양식 지침서), 동해 특성화 연구센터, page 7-8.



감사의글

먼저 학부 및 석사과정 동안 어류학에 입문하여 학문을 배우고 학위논문을 완성할 수 있도록 지도해주시고 아버지처럼 따뜻하게 해주신 김진구 교수님께 깊은 감사의 말씀을 드립니다. 학위논문을 심사해주신 백혜자 교수님, 곽우석 교수님과 많은 분야의 학문을 가르쳐 주시고 논문의 완성도를 높일 수 있도록 조언해주신 유명숙 교수님, 남기완 교수님, 김수암 교수님, 오철웅 교수님, 김현우 교수님, 박원규 교수님께도 감사드립니다. 본 연구를 위하여 아낌없는 조언을 해주신 윤문근 박사님께도 감사의 말씀을 드립니다.

학부 과정 중 어류학 실험실에 들어와 잘 적응할 수 있게 따끔한 충고와 따뜻한 조언을 아끼지 않으신 박경동 박사님, 박정호 연구사님, 반태우 선배님, 연구자로서의 자세와 사람으로서의 자세를 알게 해주시고 항상 어머니와 같은 모습과 어려운 상황에서의 힘을 주셨던 유정화 박사님께도 감사의 말씀을 드립니다.

또한, 함께 동거동락하며 희노애락을 같이 한 어류학실험실원들에게 깊은 감사의 말씀을 전합니다. 가장 많이 다투었지만 그만큼 서로 힘들 때 도움이 되준 혁준이, 항상 긍정적인 성준이형, 분위기 메이커 환성이, 함께 고생한 동기 은아, 실험실의 든든한 기둥 같은 수정이형, 세심한 부분까지 잘 챙겨준 현정이 누나, 한진선배, 윤주, 세옹이, 성찬이 그리고 은정이누나, 내림이, 유미, 꽃님에게도 깊은 감사의 말씀 전합니다.

대학생활을 하는데 있어서 때로는 엄하게 때로는 힘이 되어주신 황인준 박사님, 김현우 박사님, 김보광 선배님, 남기문 선배님, 항상 힘이 되어주고 웃음을 준 08학번 후배님들에게도 깊은 감사의 말씀 드립니다.

그리고 항상 못난 아들을 끝까지 믿고 든든한 버팀목이 되어주시는 사랑하는 아버지, 하늘나라에 계시지만 항상 저의 마음속에서 웃고 계신 사랑하는 어머니께 이 논문을 바칩니다.