

동해 온배수와 심층수 활용에 기반을 둔
해양식량어류자원의 유전적 관리체계 구축

Genetic management of marine fish resources
based on utilization of effluent cooling water and deep sea water

2014. 2

한국해양과학기술원

동해 온배수와 심층수 활용에 기반을 둔
해양식량어류자원의 유전적 관리체계 구축

Genetic management of marine fish resources
based on utilization of effluent cooling water and deep sea water

2014. 2

한국해양과학기술원

제 출 문

한국해양과학기술원장 귀하

본 보고서를 『동해 온배수와 심층수 활용에 기반을 둔 해양식량어류 자원의 유전적 관리체계 구축』의 요약보고서로 제출합니다.

2014년 2월

총괄연구책임자 : 노충환

참여연구원 : 김종만, 오승용, 최희정, 박용주
최문정, 박서윤, 양현성, 윤성진

위탁연구책임자 : 남윤권(부경대학교)

참여연구원 : 이상윤, 김병수, 홍승균, 이종민
Vo Thi Yhu Em

요 약 문

I. 제 목

동해 온배수와 심층수활용에 기반을 둔 해양 식량어류자원의 유전적 관리체계 구축

II. 연구개발의 필요성 및 목표

1. 연구개발의 필요성

- 미래학자들은 해양식량자원의 개발 및 확보가 인류복지를 위한 필수대안이 될 것으로 예측하고 있음
 - 이에 따라 선진국들은 미래 해양식량자원의 독점 (또는 우점)을 위해 첨단 생명공학기술에 연구 투자를 더욱 증가시키고 있음
 - 이로부터 얻어지는 기술과 산물을 독점화함으로써 기술 후진국들을 종속화하고 있음
 - * 육상식량자원에는 이미 다국적 소수의 기업이 전세계 시장을 독점하고 있음
- 동해연구소는 인근에 위치한 울진원자력발전소에서 배출되는 온배수와 해양 심층수를 이용하여 연중 인위적인 산란, 번식, 사육이 가능하므로 국내에서 생명공학을 이용한 해양어류 식량자원의 연구개발의 최적지임
- 따라서 동해연구소의 입지 조건을 활용하여 해양식량자원 개발 및 확보를 위한 새로운 첨단 생명공학기법의 확보가 시급함

2. 연구개발의 목표

- 다양한 해수자원을 활용할 수 있는 동해연구소의 입지 조건에 부합하는 해양식량어류자원의 유전적 관리기반을 마련하기 위하여 해양어류 식량자원의 육종기술을 개발함

III. 연구개발의 내용 및 범위

- 우리나라 대표적 인 온수성 어종인 참돔과 동해 특성 냉수성 어종인 강도다리를 대상으로 아래와 같이 구성되어 있음
- 대상집단의 생리특성 파악
 - 생산성 관련 유전자 표지 확보
 - 유전자표지를 적용한 우량집단 확보 및 적용

IV. 연구개발의 결과

1. 대상집단의 생리특성 파악

○ 참돔

- 일정 수온(15°C, 20°C, 25°C)에서의 기초대사량
 - 수온이 높아질수록 증가하며, 동일 수온에서 속성장 집단이 낮음
- 수온 변화(15°C→20°C→25°C)에 따른 기초대사량
 - 수온 변화에 따라 속성장 집단의 대사율이 높음
- 속성장 집단의 성장률 향상 효과를 생리특성 분석을 통해 확인가능하였으며, 육종 효과를 높이기 위해서는 안정적인 수온 유지가 필요하고, 육종품종의 성장 극대화를 위해서는 수온 급변 시기에 적절한 영양공급이 필요함

○ 강도다리

- 일정 수온(4°C, 7°C, 10°C, 13°C, 16°C, 19°C)에서의 기초대사량
 - 참돔과 동일하게 수온이 높아질수록 증가하며 동일 수온에서 속성장 집단이 낮음
- 수온 변화(4°C→7°C→10°C→13°C→16°C→19°C)에 따른 기초대사량
 - 일정한 경향성은 없으며, 10°C→13°C에서 가장 낮고 13°C→16°C 높은 경향을 보임
- 사육 적수온은 13°C~16°C 범위에 있을 것으로 예상됨. 또한 암모니아 배설 결과로부터 강도다리는 halibut과 turbot 보다는 높고 넙치보다는 낮을 것으로 추정할 수 있음

2. 생산성 관련 유전자표지 확보

○ SCD-b 와 CKM1 유전자 표지

- 속성장 집단과 대조 집단의 genotyping 결과
 - 성장이 빠른 집단에서 특이적으로 관찰되는 유전자형을 발굴하였으며, 이를 통해 참돔의 성장관련 유전자 표지 2개를 확보함

○ 유전자 표지의 후대전달 능력 검증

- 유전자 표지를 적용하여 선발한 친어로부터 생산한 후대의 표현형과 유전형을 분석한 결과
 - 표지선발 후대의 자손에서 친어가 보유한 유전자형이 그대로 관찰됨에 따라 유전자 표지의 후대전달 능력을 확인하였음

3. 유전자표지를 적용한 우량집단 확보 및 적용

- SCD-b 유전자 표지를 이용한 선발친어 집단 확보
 - ※ CKM1 유전자 표지는 재현성이 부족하여 제외함
 - 372마리의 기초집단(평균체중 2,645g)으로부터 132마리를 선발(평균체중 2,829g) 하여 친어로 확보함
- 선발에 따른 부작용 조사(번식력을 중심으로)
 - 수정란 생산 : 선발 653.8 eggs /우BW vs. 비선발 628.7 eggs/우BW
 - 초기생존율 : 선발 15.6% vs. 비선발 13.4% (60일령 기준)
- 유전자표지 선발의 효과 검증
 - 상업적 수준에서 후대 생산하여 유전자표지의 효율성을 검증함(선발에 따른 성장 향상 효과 : 15.3%)
- 선발자손 집단의 사육특성
 - 일일성장률 : 선발 1.91%/day vs. 비선발 1.84%/d
 - 사료효율 : 선발 98.19% vs. 비선발 59.96%

V. 연구개발 결과의 활용계획

- 본 사업의 결과로부터 국가연구개발사업(Golden Seed 프로젝트) 2건 유치
 - 사업명
 - 수출용 붉바리 유전육종프로그램 개발
 - 수출용 아열대 바리과 교잡종자 및 육종프로그램 개발
 - 사업기간 : '13년 7월~'22년 5월(9년간)
- 한울원자력발전소 온배수를 이용한 해양어류자원의 유전적 관리장 구축
 - '13년 현재 온배수 취수 및 인입시설 예산 20억 확보
 - 향후 신한울원자력발전소 3, 4호기 건설 시기에 맞춰 유전적 관리장(온배수 양식장) 본 건물 건설 추진 중

목 차

제 1 장 서 론	1
제1절. 연구개발의 필요성	1
제2절. 연구개발의 목표 및 내용	6
제 2 장 연구개발의 수행내용 및 결과	8
제1절. 연차별 연구수행 내용 및 방법	8
제2절. 연구수행 결과	10
I. 대상어종의 생리특성	13
II. 유전자 표지 탐색	24
III. 유전자 표지 확보	49
IV. 유전자 표지 검증	59
V. 유전자 표지 적용	68
제 3 장 연구개발결과의 활용계획	88
참고문헌	91

제 1 장 서 론

제 1 절 연구개발의 필요성

1. 연구개발의 경제·사회 기술적 필요성

가. 기술적 측면

- 해양 동·식물 자원은 육상 동·식물에 비할 바 없는 고급 단백질 공급원이며, 소득 수준의 향상에 따라 소비가 급격히 증가하고 있음(2025년 기준 1인당 예상 수요량 : 19.1kg)
- 이에 따라 선진 각국은 미래 해양 식량 자원 시장을 독점 (또는 우점)하기 위하여 첨단 기술 개발의 연구 투자를 더욱 증가시키고 있으며, 이로부터 얻어지는 기술과 산물을 독점화함으로써 기술 후진국들을 종속화하고 있음
- 이의 방편으로 외국에서는 어류의 지속적인 유전 형질 개선을 위하여 LGB (living gene bank) 운영을 통해 양식 어류의 유전적 관리 체계를 구축하고 있음
- 따라서 해양 어류 식량 자원 분야에 있어, 선진국에의 기술과 시장의 종속화를 방지하고 신규 부가가치의 창출과 생산성을 극대화시키기 위한 생명공학기술의 개발이 시급함

나. 경제·산업적 측면

- 해양 어류 식량 자원에 대한 생명공학 산업은 2012년 기준으로 우리나라 전체 해양바이오 산업 시장의 약 5%를 점유할 것으로 예상
* 6.8조원(2010년 기준 전체 해양바이오 산업 시장) × 0.05 = 3,400억원
- FTA 등으로 인해 외국의 품종 및 기술이 도입될 경우 관련 시장이 선점 당할 우려가 큼
- 동해연구소는 인근에 위치한 울진원자력 발전소에서 배출되는 온배수와 해양 심층수의 이용이 가능하므로, 공공의 이익을 위해 이러한 수자원의 활용이 필요함
- 따라서 국내 시장을 외국의 자본으로부터 보호하기 위해서 우리 기술에 의한 국내 시장의 보호가 필요함

다. 사회·문화적 측면

- 식물의 예(미스킴 라일락 등) 처럼 우리나라 식물자원을 외국에서 생명공학 기법을 적용하여 생산한 품종이 국내에 반입될 수 있음

- 해양 어류에서도 이러한 예가 발생하면 우리 먹거리를 전적으로 외국의 자본과 기술에 의해 지배받을 수 있으며, 국민적 상실감이 우려됨
- 따라서 신토불이의 전통적 사고에 부합하기 위한 기술 개발의 노력이 필요함

2. 연구소 고유기능 발전과의 연관성

- 우리 원은 국가해양과학기술정책을 근거로 “해양 과학 기술 개발을 통한 미래가치 창출”이라는 비전을 제시한 바 있으며, ‘해양자원개발·이용’을 중점 연구 분야의 하나로 육성하고 있음
- 본 사업은 생명공학 기법을 해양 어류에 적용하여 미이용 유전자원의 활용성을 극대화하고, 새로운 해양 부가가치 창출을 꾀하고 있음
- 따라서 본 사업은 중과제인 『해양생물자원 탐사개발 연구』 사업에 부합하며, 우리 원의 고유 기능 발전에 일익을 담당할 수 있음

3. 국내·외 연구개발동향

가. 국내·외 연구개발동향

- 선진국들은 담수 및 해양 어류에 생명공학기술의 접목을 통해 자국의 식량 자원의 확보를 시도해왔으며, 이미 유전적으로 개량된 품종들을 이용한 생산성 증대 효과를 가시화 시키고 있음
 - 송어류, 차넬메기, 틸라피아, 잉어, 베스 등 담수 어종 중심으로 산업화 달성
 - 해산어류에 있어서는, 대서양연어가 가장 대표적인 산업화 사례
- 나아가 선진각국은 미래 세계 해양 식량 자원 시장을 선점하기 위하여 첨단 기술(유전체 분석 및 조작 등)의 연구 투자를 더욱 더 증가시키고 있으며, 이로부터 얻어지는 기술과 산물을 독점화함으로써 여타 국가들을 종속화 하고 있음
 - 2001년 이후 전세계적으로 매년 2,000 여건의 특허가 출원되고 있음
- 국내에는 분야에 따라 외국기술과 대등 또는 우월한 원천 기술들이 확보되어 있음에도 불구하고 개발된 기술들을 산업화할 수 있는 실용화 지원 체계가 미흡함
- 현재 전세계적으로 유전적으로 조작된 어류(LMO 또는 GMO)에 대해서는 안정성 문제로 인해 상품 경쟁력이 낮음. 이에 중 특이적으로 내재되어 있는 유전자의

개량을 통한 품종만이 산업화 되어 있음

- 외국에서는 어류의 지속적인 유전 형질 개선을 위하여 LGB (living gene bank) 운영을 통해 양식 어류의 유전적 관리 체계를 구축하고 있음

나. 지금까지의 연구 개발 현황

- 전암컷 무지개송어 품종
 - 목적 : 수컷에 비해 성장이 월등히 빠른 전암컷 자손 집단을 생산하여 양식
 - 생산 기법 : 성전환 기법을 통해 생산한 성전환 수컷(XX)과 정상 암컷을 단순 교배시켜 전 암컷 자손 집단을 생산 (영국, 캐나다, 미국 등에서 산업화)
- 전암컷 3배체 무지개송어, 브라운송어 품종
 - 목적 : 성숙시기 동안 성장이 둔화되는 단점과 육질 저하를 극복하여 상품성 향상
 - 생산 기법 : 성전환 기법을 통해 생산한 성전환 수컷(XX)과 정상 암컷(XX)을 수정 시킨 수정란(전 암컷)에 3배체 유도 기법을 적용 (북미와 유럽에서 산업화)
- 전수컷 나일틸라피아 품종
 - 목적 : 암컷에 비해 성장이 월등히 빠른 전수컷 자손 집단을 생산하여 양식
 - 생산 기법 : 성전환 기법을 통해 생산한 초수컷(YY)과 정상 암컷(XX)을 단순 교배시켜 전 수컷(XY) 자손 집단을 생산 (아열대성 국가에서 산업화)
- 배스 잡종 품종
 - 목적 : 다양한 환경 조건에서 생존력이 강하고 성장이 빠른 배스 품종 생산
 - 생산 기법 : 종간 및 종내 잡종 (미국, 이스라엘에서 산업화)
- 대서양연어 선발 품종
 - 목적 : 성장이 빠르고, 사료 이용성이 뛰어난 품종 생산
 - 생산 기법 : 계통간 잡종 및 선발 (노르웨이, 칠레 등에서 산업화)
- 참돔 선발 품종
 - 목적 : 성장이 빠르고, 사료 이용성이 뛰어난 품종 생산
 - 생산 기법 : 선발 (일본에서 산업화)
 - ※ 일본에서 개발한 참돔 선발 품종은 활어로 수입한 후 국내에서 양식 생산을 시도하였음. 그러나 고수온 환경에 적합하여 우리나라에서는 육종 효과가 낮음

다. 타 사업과의 차이점 (해양 식량자원 관련 주요 사업)

- 바다목장 사업과의 차이점

- 바다목장은 잡는 인공 어초 등 어류 서식지 조성과 어류 방류를 통해 어업 자원의 증대 및 관리를 꾀하고자 하는 사업임
- 방류용으로 사용하는 우량 집단(또는 품종)은 토착 자연 집단과 유전적으로 다르지 않은 집단을 일컬으며, 양식용 우량 집단은 경제적으로 유용한 형질(성장, 내병성, 환경 저항성 등)을 가진 집단을 의미하므로, 양식용과 방류용 우량 집단은 차이가 있음
- 심층수 사업과의 차이점
 - 심층수 사업 중 세부 사업으로 ‘심층수를 이용한 유용 어류의 양식’이 있음
 - 위 사업은 수온이 낮은 심층수를 활용하여 지금까지 연중 양식이 어려웠던 냉수성 어종의 양식 산업화를 꾀하고자 하는 사업으로서, 형질 개량 목적인 본 사업과는 차이가 있음
- 넙치의 선발육종 사업 (수산과학원)
 - 2004년부터 수행된 위 사업은 넙치를 대상으로 선발 육종에 의해 개량 품종을 생산하는 사업임
 - 해양 어류를 대상으로 양식용 개량 품종을 생산하는 점에서는 본 사업과 동일함. 그러나 핵심 기술로서 위 사업은 표현 형질을 대상으로 하는 전통적 선발육종 기법(선발 및 가계/계통간 교배)을 사용하므로, 장기간이 소요되고(3~4년/세대 × 4~5세대) 형질 개량 효과가 낮음
 - 그러나 본 사업은 어류에 내재된 성장관련 유전자(근육/지방 대사 관련 유전자)의 발현량을 대상으로 하므로 전통적 방법에 비해 적은 세대 수로도 형질 개량 효과가 큼. 또한 발굴된 유전자는 차세대 상용화 육종 기술인 유전자 조작에 그대로 활용될 수 있다는 점에서 고도의 부가가치를 지님

다. 형질전환 어류와의 차이점

- “형질전환(GMO =LMO, Genetic Modified Organism)” 품종은 다른 생물체 또는 동종으로부터 확보한 특정 형질에 관련된 유전자를 인위적으로 주입하여 생산한 어류임
- “유전 형질 개량” 품종은 그 어종이 보유하고 있는 특정 형질에 관련된 유전자를 더 많이 보유하거나 발현량이 많은 개체 또는 집단을 생산하는 것임
- 따라서 “유전 형질 개량” 품종은 인위적인 유전자 조작이 없으므로 “형질전환” 품종과는 차이가 있으며, 현시점에서 식품 안정성이 확보된 생물체임

라. 현기술 상태의 취약성

- 우리나라는 해양 어류 식량 자원의 중요성은 널리 인식하고 있으며 분야에 따라 외국 선진 기술에 필적하는 기술들이 개발되는 등 많은 잠재력을 가지는 것으로 평가받고 있음
- 관련 선진 국가에서는 1980년대 후반부터 생명공학 기법을 이용한 해양 식량 어류 자원의 유전 형질 개량 연구가 진행되어왔으며, 일부 괄목할 연구 성과가 도출되었음
- 우리나라에서도 1990년대 후반부터 연구가 이루어져 일부 어종에 대해 연구 성과가 있었으나, 주로 담수어류를 중심으로 실시되었으며, 산업화된 연구 결과는 도출된 바 없음
- 해산어류의 경우 현재 국립수산과학원에서 넙치의 선발육종 프로그램을 운영하고 있으나, 전통적 선발육종 방법에 의존하고 있음
- 따라서 부가가치가 높은 해양 어류를 대상으로 기존의 전통적 선발 육종 방법에 최신 생명공학 기법의 적용을 통한 육종 기술의 개발이 필요함

제 2 절 연구개발의 목표 및 내용

1. 연구개발의 목표

다양한 해수자원을 활용할 수 있는 동해연구소의 입지 조건에 부합하는 해양식량 어류자원의 유전적 관리기반을 마련하기 위하여 해양어류 식량자원의 육종기술을 개발함

2. 연구개발의 내용

가. 연차별 세부목표 및 내용

구 분	목 표	내 용 및 범 위
1차년도 (2011)	생산성관련 유전자 표지 확보	<ul style="list-style-type: none"> • 생산성관련 유용유전자 bank 구축 • 생산성관련 유전자표지 확보 • 기확보 유전자표지의 어종 공용 적용가능성 탐색
	우량친어집단의 에너지 이용특성 파악	<ul style="list-style-type: none"> • 우량 유전자 보유 친어집단의 먹이이용효율, 먹이섭취율, 일간성장률 및 체성분 분석을 통한 에너지 이용 효율 파악
2차년도 (2012)	유전자표지를 적용한 우량집단 확보	<ul style="list-style-type: none"> • 유전자표지 CKM1을 적용한 우량집단 확보 • 유전자표지 PVALB을 적용한 우량집단 확보
	우량친어의 번식생리 특성 파악	<ul style="list-style-type: none"> • 친어집단의 제2차 생산력(산란량, 부화율) 조사 • 자손집단의 생존율 조사
3차년도 (2013)	어종별 유전적 관리체계 마련	<ul style="list-style-type: none"> • 어종별 우량집단 확보를 위한 유전자표지 적용 매뉴얼 작성 • 우량품종 사육관리 매뉴얼
	우량집단의 사육특성 파악	<ul style="list-style-type: none"> • 우량집단의 수온별 보상성장력 조사

1차년도 : 기반 I

사육관련 생리특성 구명 및 생산성(성장)과 관련된 유용 유전자 탐색

4차년도 : 개발 II

후보 유전자표지 추가 확보 및 다른 어종 적용 가능성 탐색

2차년도 : 기반 II

생산성 관련 유용 유전자 발굴 및 후보 유전자표지 확보

5차년도 : 적용 I

유전자표지 적용 우량친어 집단 확보 및 자손검정

3차년도 : 개발 I

유전자표지를 적용한 우량 친어 선발 및 후보 유전자표지 확보

6차년도 : 적용 II

유전자표지를 적용한 후대생산 및 유전적 관리 기반 마련

다. 연구개발의 흐름도



제 2 장 연구개발의 수행내용 및 결과

제 1 절 연차별 연구수행 내용 및 방법

수행내용	수행방법
- 1차년도	
대상 어종의 생리 특성 파악	수온별(치사 하한~상한 수온) 대상 어종의 호흡 특성을 측정
생산성과 관련된 유전자 탐색 : 근육/지방 대사 관련 유전자	·성장이 빠른 개체 또는 집단을 선발하고 대조군과 발현량 차이를 나타내는 유전자 탐색함 ·접근방법으로서 대상 개체 또는 집단의 조직 시료로부터 total RNA 분리 정제 후, 합성된 cDNA를 주형으로 differential screening에 적합한 primer로 PCR 실시하며, 발현량 차이를 나타내는 clone을 대상 유전자로 선정함
이용 가능한 후보 유전자 표지 탐색	·대상어종의 유전적 특성 파악 후 개체간 다형성을 분석함 ·접근방법으로서 대상어종의 genomic DNA를 사용하여 기본적인 유전정보 조사하고, 염기변이 및 다형성 패턴을 조사함
- 2차년도	
최적 사육 수온 조건 규명	·강도다리를 대상으로 1차년도의 결과를 활용하여, 최적 성장 수온을 조사함 ·접근방법으로서 수온 10, 13, 16, 19, 22°C 조건에서 8주 이상 사육하면서 성장과 에너지 이용 효율을 조사함
사육 적수온에서의 생산성 관련 유전자 발현 양상 파악	·Differential screening으로 확보한 생산성 관련 클론의 염기서열을 결정하고 대조구와 비교를 통해 발현양상 분석함 ·접근방법으로서 DEG 클론의 염기서열을 결정하고 기능을 추정. 발현량 비교분석에 적합한 PCR primer 및 조직 시료를 선정. 대조구의 cDNA를 사용하여 유용 형질 관련 유전자의 발현양상을 분석함
생산성 관련 유용 유전자 확보 및 정보화	·RT-PCR을 이용한 발현양상 분석결과를 토대로 생산성 관련 유용 유전자를 확보하고, GenBank에 등록함 ·대조구의 수를 증가시켜 정량적인 RT-PCR 수행한 후, 생산성 관련 형질을 토대로 유용 유전자를 확보한다. 유용 유전자의 전체 cDNA 단편을 클로닝하고 염기서열을 GenBank에 등록함
이용 가능한 후보 유전자 표지 발굴	·대상어종의 유전적 특성 파악 후 개체간 다형성 분석결과 활용 ·접근방법으로서 염기변이 및 다형성 양상을 개체(또는 집단)간 비교함

수행내용	수행방법
- 3차년도	
유용 유전자를 보유한 우량 친어 확보	<ul style="list-style-type: none"> - 유용 유전자 보유 친어 선별 ·생산성 관련 유전자의 발현량이 높은 친어 개체 또는 집단 확보 ·접근방법으로서 표현형질을 기초로 한 친어 개체 또는 집단을 선정 후 DNA typing으로 유전적 다양성 보유 여부 분석. RT-PCR 기법으로 생산성 관련 유용 유전자의 발현양상을 분석하여 우량 친어집단을 확보 - 자손 검정을 통한 우량 친어 판정 ·생산성 관련 유용 유전자를 보유한 친어의 자손을 생산 후 우량 여부 판정 ·접근방법으로서 우량 친어로부터 생산된 자손의 유전특성을 DNA typing과 RT-PCR 기법으로 분석하여 멘델의 유전 양식을 조사함
유전자 표지의 표준화	<ul style="list-style-type: none"> ·실제 적용 가능한 유전자 표지 발굴을 위해 자손 검정 및 효과 판정 결과를 활용함 ·자손의 유전 특성을 친어 그리고 자손 개체간 비교 분석하고, DNA typing 등 적합한 유전자 표지 적용 기술을 매뉴얼로 작성함
- 4차년도	
우량친어집단의 에너지 이용특성 파악	<ul style="list-style-type: none"> - 2011년 동일시기에 각각 생산된 강도다리와 참돔 치어를 대상으로 높은 성장률을 보이는 선발군 (평균 무게: 강도다리 1.83 g, 참돔 14.29 g)과 일반적인 성장률을 보이는 비선발군 (강도다리 1.12 g, 참돔 5.53 g)으로 선별하여 각각 8주간과 31일간 실험 수행 ·사육조 (40×40×60cm, 90L), 생물여과조 그리고 포말분리기로 구성된 소형 순환여과식 사육 시스템에서 이루어졌으며, 사육조 내 강도다리는 각각 25마리씩 총 150마리, 참돔은 각각 15마리씩 총 90마리를 수용 ·먹이는 시판 해산어 사료를 하루에 세 번 (09:00, 13:00 그리고 17:00) 만복 공급. 실험기간 동안의 사육수조 내 수온은 19 ~ 20°C 범위였고, 용존산소 6.5 mg/L 이상, 염분 30.0 ~ 33.2 psu 그리고 pH 7.9 ~ 8.3 범위 ·성장률 조사는 증체량 (weight gain, WG), 일간성장률 (specific growth rate, SGR), 사료효율 (food efficiency) 그리고 사료섭취율 (feed intake) 을 수행 ·성장에 따른 크기 변동(size variation)을 조사하기 위해 수용된 모든 강도다리와 참돔의 전장과 무게를 각각 측정하여 전장과 무게에 대한 coefficient variation (CV)과 이를 통한 CV change(%)를 계산. 모든 조사 항목은 Independent-samples T-test를 통해 95% 신뢰수준에서 검증

수행내용	수행방법
- 4차년도(계속)	
<p>○생산성관련 유용유전자 bank 구축 : 근육/지방 대사 관련 유전자</p>	<p>- 생산성관련 유용유전자 bank는 1단계 연구에서 확보한 성장관련 후보유전자의 정보를 활용 ·강도다리와 참돔을 포함한 다양한 어종에서 대상 유전자를 클로닝한 후, 염기서열 정보를 확보 ·유전자 정보를 검색하여 기능을 추정하고, 생산성 관련 유전자표지 개발에 활용이 가능한지 조사</p>
<p>○생산성관련 유전자표지 개발</p>	<p>- 성장관련 후보유전자의 유전자 정보를 조사하고, 발현양상을 분석하여 생산성 관련 유전자표지 개발 대상 유전자를 확보 ·동일한 사육 조건에서 사육된 강도다리 집단 및 볼락 집단은 체장과 체중 지표에 근거하여 성장이 빠른 L (large) 그룹과 S (small) 그룹으로 나누었으며, 생산성 관련 유전자표지 개발 대상 유전자를 이용하여 분석 ·성장관련 후보유전자를 이용하여 개발 가능한 어류의 생산성관련 유전자표지가 넙치류, 돛류, 볼락류 등 주요 food fish 종에 공통으로 적용 가능한지 여부를 분석하였다.</p>
<p>기확보 유전자표지의 어종 공용 적용가능성 탐색</p>	<p>- creatine kinase 1 (CKM1, muscle type creatine kinase) 유전자 표지를 넙치류, 돛류, 볼락류를 포함한 다양한 어종에 적용하기 위하여 어종별 CKM1 유전자를 클로닝하여 유전자 정보를 조사</p>
- 5차년도	
<p>유전자 표지를 적용한 어종별 우량집단 확보</p>	<p>- 우량집단 선발 : 기 개발한 생산성 관련 유전자표지를 적용하여 우량 집단을 확보하기 위하여 통영 MRC에서 사육관리 중인 6년생(336마리, 평균체중 2,095±626.1g)을 참돔 기초집단으로 하였음 ·혈액과 지느러미를 채취하여 유전자 분석에 사용하였으며, 각 개체 식별을 위하여 RFID chip을 등 근육에 삽입 ·표지 보유 확인을 위해 참돔은 CKM1 genomic 영역을 증폭한 후 PCR-RFLP 분석(Dde I, Sca I, Xsp I 제한효소 절단패턴 확인) 또는 CKM1 전사조절 영역 증폭 후 PCR-RFLP 분석(PvuII 절단패턴 확인)을 실시 ·강도다리는 CKM1 ORF 영역을 증폭한 후 염기서열 분석(250번 염기 G) 또는 CKM1 전사조절영역 증폭 후 제한효소(py99I) 절단패턴을 분석. 표지 분석이 끝난 후 자연 산란기간 직전인 4월에 RFID chip을 확인한 후 선발군과 비선발군을 구별하였다.</p>

수행내용	수행방법
- 5차년도(계속)	
<p>후대생산을 통한 유전자표지의 효용성 검증</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 선발과 비선발 친어군 : 확보한 우량집단(6년생, 평균 체중 2,343.7±502.1g)에서 60마리(♂ 30 : ♀ 30)를 선별하여 선발 친어군(평균 체중 2,392±588.6g)으로 사용하였으며, 이의 대조군으로 앞서의 기초집단에서 선발되지 않은 집단(평균체중 1,912.0±647.1g)에서 선별하여 비선발 친어군(평균 체중 2,366±431.6g)으로 사용하였다. 어체 크기에 따른 선발효과를 방지하기 위하여 선발 친어군과 비선발 친어군의 평균 체중이 유사하도록 각 친어군의 크기를 조정하였음 ·후대 생산 및 사육 : 통영 MRC에서 보관 중인 선발과 비선발 친어군은 경남수산자원연구소의 산업적 규모의 수조(15톤 용량)에 수용한 후 생산한 수정란을 사용하였으며, 60일간 사육 ·생산된 후대 개체들은 크기 증가에 따라 수조 크기를 달리하며 3개월간 육상수조에서 사육하였다. 사육 결과로부터 선발과 비선발 친어군간 성장을 비교하였으며, 선발 효과를 추정
<p>우량친어의 번식생리 특성 파악</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 생식소 속도 지수 : 자연산란 시기에 다다른 선발(6마리)과 비선발(7마리) 암컷을 대상으로 생식소를 적출하여 조사 - 교배 <ul style="list-style-type: none"> ·자연교배 : 후대생산을 위해 사용하였던 선발과 비선발 친어군을 대상으로 조사하였으며, 수정란 생산기간(4월 29일~6월 21일) 동안 수온은 자연수온을 그대로 적용 ·자연교배를 통해 생산된 수정란의 생산기간, 생산량, 수정란 크기, 유구 수 및 미세흑포 출현 비율, 부화율과 부화자어의 크기 그리고 초기 생존율(부화 후 60일)을 조사 ·인공교배 : 선발과 비선발 친어 각 4마리(♂ 4마리, ♀ 4마리)를 대상으로 난 성숙 및 배란 호르몬(LHRH-salmon, HCG)을 주사한 후 난과 정액을 채취한 후 수정을, 부화율, 초기 생존율(난황흡수기까지)을 조사
- 6차년도	
<p>참돔, 강도다리의 CKM1 유전자 변이 재검증 및 친어 집단의 유전자형 조사</p>	<ul style="list-style-type: none"> - 개체 별 핵산 분리 및 PCR을 이용한 CKM1의 구조 유전자, 프로모터 영역 분리 ·염기서열 분석 및 신규 유전자 변이 영역의 탐색 ·유전자 형과 개체 크기 정보와의 비교 ·Coding 영역 중 주요 유전자 변이 영역의 선정 ·유전자 표지 판독의 효율성(간편성)을 높이기 위한 선정된 목적 영역의 분리 및 분석 조건 최적화 ·후대 생산용 친어집단의 유전형 조사

수행내용	수행방법
- 6차년도(계속)	
자손의 CKM1 유전형 분석 및 성장 형질과의 연관성 평가	<ul style="list-style-type: none"> - 자손 집단 어류 시료의 확보 : 친어 그룹으로부터 생산된 후대 종묘 시료의 확보 및 성장 계측(전장, 체장, 무게, 비만도) - 자손의 genotyping 실시 · CKM1 유전자의 특정 영역 분리 및 염기변이 정보 조사 · 개체별 염기서열 정보와 성장 형질 정보와의 연관성 유무 검토
CKM1 유전형 그룹(자손)의 관련 유전자 발현 특징 평가	<ul style="list-style-type: none"> - 성장 관련 발현유전자 선정 및 분석조건 확립 · GH; growth hormone / · CKM1: muscle-type creatine kinase · PVALB: parvalbumin / · SCD-b: stearyl CoA desaturase b · PPAR-B: peroxisome proliferator-activated receptor beta - 유전자 발현 분석 · 부화 5개월령에서 large 그룹(평균 23.7 g)과 small 그룹(평균 10.2 g) 치어의 개체별 genotyping · 조직별 total RNA 분리, cDNA 합성, RT-PCR 분석
후대생산을 통한 유전자표지의 효용성 검증	<ul style="list-style-type: none"> - 유전자표지를 적용하여 우량집단(6년생, 평균 체중 2,828.6g, 132마리)를 선발하였으며, 이 중 41마리를 선별하여 후대생산에 사용 · 어체 크기에 따른 선발효과를 방지하기 위하여 선발 친어군과 비선발 친어군의 평균 체중이 유사하도록 두 친어군의 크기를 조정 · 후대생산은 경남수산자원연구소의 산업적 규모의 수조(15톤 용량)에서 수행
우량친어의 번식생리 특성 파악	<ul style="list-style-type: none"> - 자연교배와 인공교배를 통하여 GSI, 수정란 생산량, 초기생존율을 조사

제 2 절 연구수행 결과

I. 대상어종의 생리특성

1. 참돔의 산소소비율

가. 시간당 평균 산소소비율의 일간 변화

참돔 선발 및 비선발 집단의 산소 소비율은 수온 상승에 따라 증가하였고 선발 집단에 비해 비선발 집단이 높게 나타나, 수온($P<0.001$), 집단($P<0.001$), 그리고 두 인자의 교호작용($P<0.001$) 역시 산소 소비율에 유의적으로 영향을 미치는 것으로 나타났다.

나. 수온에 따른 대사에너지 소비율

선발 및 비선발 집단의 대사 에너지 소비율은 모두 수온이 높아질수록 유의하게 증가하였고($P<0.001$), 15°C와 25°C에서는 선발 집단보다 비선발 집단의 대사 에너지 소비율이 높았지만($P<0.001$), 20°C의 경우 선발과 비선발 집단간의 차이가 없었다(그림 1, $P>0.05$).

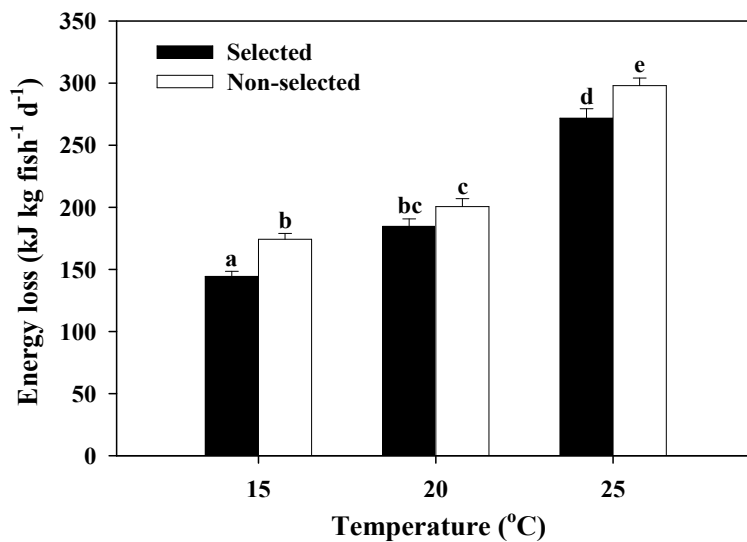


그림 1. 참돔 선발(selected) 및 비선발(non-selected) 집단의 수온에 따른 대사 에너지 손실. 서로 다른 윗첨자를 가진 값(평균±SE)은 유의적으로 다름($n=3$).

다. 수온변화에 따른 온도 민감성(Q_{10})

참돔 선발 및 비선발 집단의 수온 변화에 따른 Q_{10} 값은 1.32-2.20 범위를 보여 유사하였으나, 15-20°C 구간과 20-25°C 구간의 Q_{10} 값은 선발 집단이 비선발 집단에 비해 높게 나타났다. 이것은 선발 집단이 비선발 집단보다 각 실험 수온에서 낮은 산소 소

비율을 보인 반면, 특정 온도 구간의 변화에 따른 반응 정도는 선발 집단이 더 높은 것으로 나타났다. 그러나 전 실험 수온 범위(15-25°C)의 Q_{10} 값은 선발 및 비선발 집단 모두 2.17과 2.20로 거의 유사하였다.

2. 강도다리 산소 소비율

가. 시간당 평균 산소소비율의 일간 변화

소형어(1.0~2.1g)와 중형어(34.1~38.3g) 모두 수온이 높아질수록 시간당 평균 산소 소비율은 유의하게 증가하였으며, 모든 수온에서 소형어가 중형어보다 높은 소비율을 보여, 체중($P<0.001$), 수온($P<0.001$), 그리고 두 인자의 교호작용($P<0.001$) 역시 산소 소비율에 유의적으로 영향을 미치는 것으로 나타났다.

나. 체중과 수온에 따른 대사에너지 소비율

소형어와 중형어 모두 수온 상승에 따라 대사 에너지 소비율은 증가하였지만, 소형어는 10-13°C 사이에서, 그리고 중형어는 4-7°C, 7-10°C, 10-13°C 그리고 16-19°C 사이에서는 차이를 보이지 않았다(그림 2).

다. 수온 변화에 따른 온도 민감성(Q_{10})

소형어의 경우 13-16°C 범위에서 가장 높은 민감성을 보였다. 또한 4-7°C에서도 두 번째로 높은 민감성을 보여 낮은 수온 범위에서도 높은 대사반응의 변화를 보이는 것으로 나타났다. 반면에, 10-13°C 구간에서는 가장 낮은 Q_{10} 값을 보여 큰 대사반응의 변화가 없는 것으로 나타났다. 중형어의 경우 4-7°C와 13-16°C 범위에서 가장 높은 민감성을 보여, 소형어와 마찬가지로 동일한 수온 범위에서 높은 대사반응의 변화를 보이는 것으로 나타났다. 그러나 중형어는 13-16°C 범위에서 높은 민감성을 보여 소형어(4-7°C 범위에서 민감성이 가장 높음)와는 차이가 있었다.

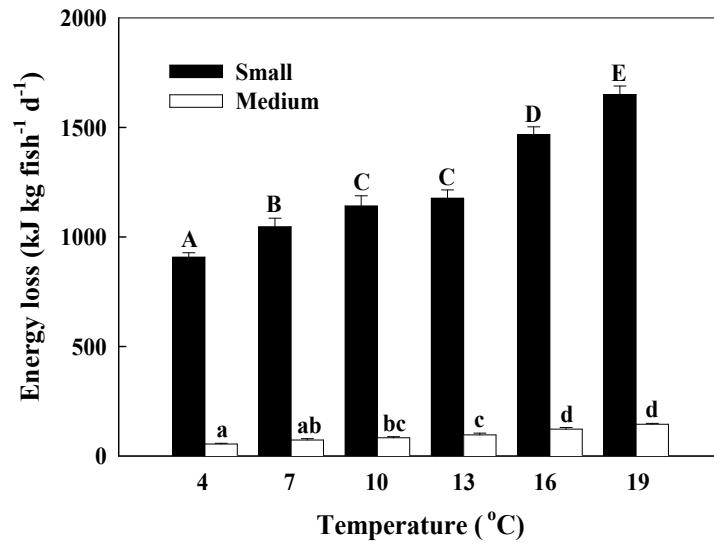


그림 2. 강도다리 체중(소형: 1.0 ~ 2.1 g, 중형: 34.1 ~ 38.3 g)과 수온에 따른 대사 에너지 손실.

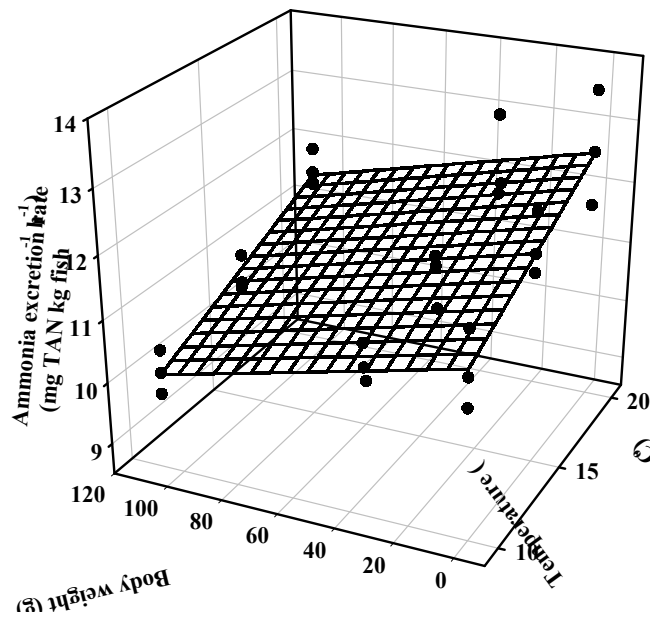


그림 3. 강도다리 체중과 수온에 따른 암모니아 배설률의 3차원 모식도.

3. 강도다리의 암모니아 배설

가. 시간당 평균 암모니아 배설률의 일간 변화

수온(T)이 높아질수록 증가하였고, 모든 수온에서 체중(W)이 증가할수록 감소하는 상관관계($Z = 9.711 + 0.1401(T) - 0.0106(W)$, $r^2 = 0.71$, $P < 0.0001$, 그림 3)를 보였다. 이상의 결과에서 수온($P < 0.001$)과 체중($P < 0.001$)이 강도다리의 시간당 평균 암모니아 배설률에 영향을 미쳤지만, 두 인자의 교호작용은 없었다($P > 0.05$).

나. 일간 평균 암모니아 배설률

모든 크기의 강도다리에서 수온 상승과 함께 일간 평균 암모니아 배설률은 증가하였고($P < 0.001$), 동일 수온에서 체중이 증가할수록 일간 평균 암모니아 배설률은 감소하는 경향을 보였다(그림 4).

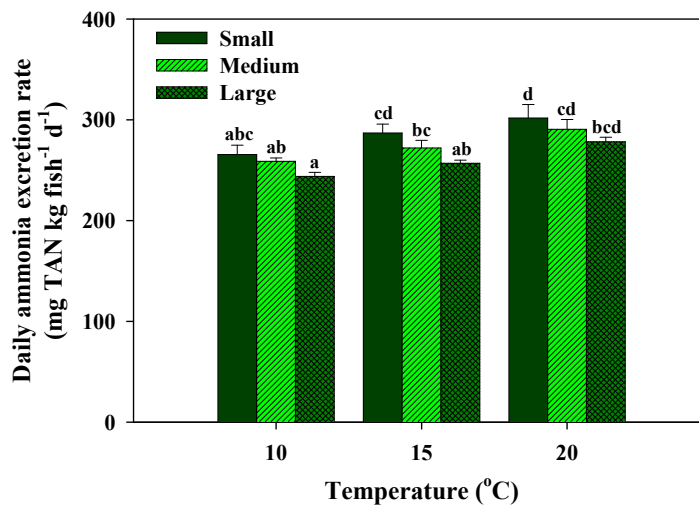


그림 4. 강도다리 체중(소형: 1.0 ~ 2.1 g, 중형: 34.1 ~ 38.3 g, large: 103.5 ~ 110.1 g)과 수온에 따른 일간 평균 암모니아 배설률.

다. 대사특성

강도다리 치어(평균 6.4 g)를 대상으로 수온 10, 13, 16, 19 그리고 22°C 조건에서 56일간 사육한 결과, 실험 종료 시 최종 평균 무게의 경우, 수온 10, 13, 16, 19 그리고 22°C에서 각각 18.3, 25.2, 30.5, 32.7, 31.2 g으로 나타나 수온 10°C와 13°C보다 16, 19 그리고 22°C가 높았다($P < 0.05$). 최종 평균 전장의 경우, 수온 10, 13, 16, 19 그리고 22°C에서 각각 103.6, 114.8, 120.6, 125.9 그리고 125.7 mm로 나타나 10°C

와 13°C 보다 19°C 와 22°C 가 높았다($P<0.05$). 최종 평균 무게와 전장 모두 19°C 가 가장 높았으나, 16°C 및 22°C 와는 유의적인 차이가 없었다($P>0.05$).

증체량(WG)의 경우, 수온 10, 13, 16, 19 그리고 22°C 에서 각각 12.0, 18.9, 24.1, 26.3 그리고 24.7 g fish⁻¹로 나타났으며, 전장 성장(TLG)의 경우, 각각 22.3, 34.3, 40.3, 46.0 그리고 45.4 mm fish⁻¹로 나타나 수온 10°C 와 13°C 보다 16, 19 그리고 22°C 에서 높았다($P<0.05$). 증체량과 전장 성장 역시 수온 19°C 조건에서 가장 높았으나, 16°C 와 22°C 와는 유의적인 차이가 없었다($P>0.05$).

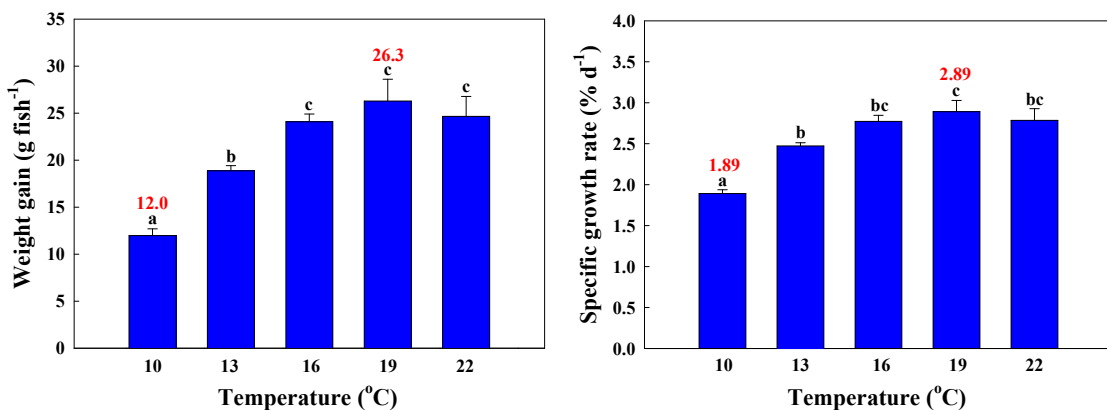


그림 1. 강도다리 치어의 사육 수온별 증체량(왼쪽) 및 일일성장률(오른쪽) 조사 결과.

일간성장률(SGR)의 경우, 수온 10, 13, 16, 19 그리고 22°C 에서 각각 1.89, 2.47, 2.77, 2.89, 2.78% d⁻¹로 나타나 19°C 가 10°C 와 13°C 에 비해 유의적으로 높았으나 ($P<0.05$), 16°C 및 22°C 와는 차이가 없었다($P>0.05$). 그리고 16°C 와 22°C 의 일간성장률은 13°C 와 차이가 없었다($P>0.05$).

사료계수(FCR)의 경우, 수온 10, 13, 16, 19 그리고 22°C 에서 각각 0.59, 0.58, 0.55, 0.62 그리고 0.57로서 16°C 에서 가장 낮고 19°C 에서 가장 높았지만, 수온에 따른 차이는 없었다($P>0.05$).

사료공급률(FR)의 경우, 수온 10, 13, 16, 19 그리고 22°C 에서 각각 1.02, 1.23, 1.28, 1.47 그리고 1.31% d⁻¹로서 19°C 에서 가장 높고 10°C 가 가장 낮았지만($P<0.05$), 13, 16 그리고 22°C 사이에는 차이가 없었다($P>0.05$).

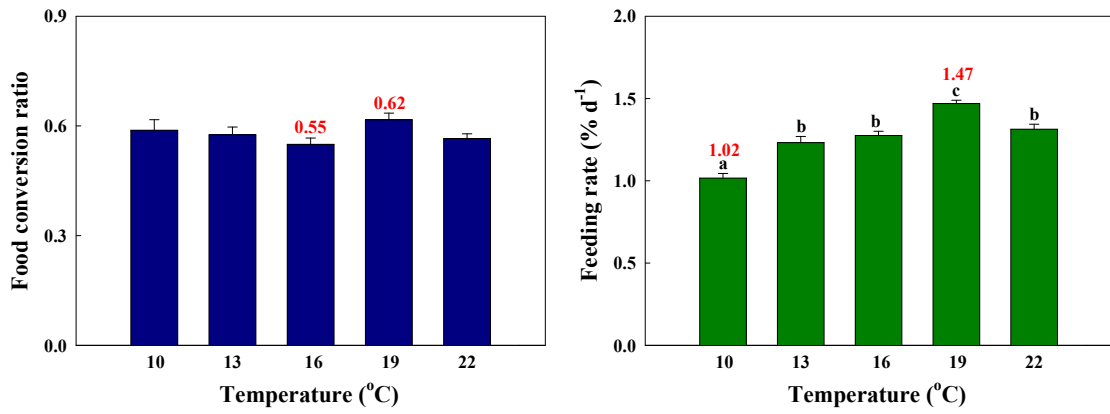


그림 2. 강도다리 치어의 사육 수온별 사료계수(왼쪽) 및 사료공급률(오른쪽) 조사 결과.

4. 우량집단의 에너지 이용효율성

가. 강도다리

강도다리 선발군과 비선발군을 대상으로 8주간 사육 후 체중과 전장 성장 결과를 그림 11에 나타내었다. 선발군의 경우 실험 시작 시 18.3 g에서 4주 후 6.27 g 그리고 8주 후 16.47 g으로 성장하였다. 비선발군의 경우 실험 시작 시 1.12 g에서 4주 후 4.34 g 그리고 8주 후 11.94 g으로 성장하였다. 전장의 경우 선발군은 실험 시작 시 52.47 mm에서 8주 후 102.19 mm로 성장하였고, 비선발군은 44.18 mm에서 92.47 mm로 성장하였다. 이상의 결과에서 4주와 8주 후 선발군은 비선발군에 비해 유의하게 높은 체중과 전장 성장을 보였다 ($P<0.05$).

강도다리 선발군과 비선발군의 증체량과 사료 효율 결과를 그림 12에 나타내었다. 증체량의 경우 첫 4주 후 선발군과 비선발군은 각각 4.44 g과 3.22 g으로 나타나 선발군이 유의하게 높았고 ($P<0.05$), 두 번째 4주 후에도 각각 10.20 g과 7.61 g으로 나타나 역시 선발군이 유의하게 높았다 ($P<0.05$). 이상의 결과에서 선발군과 비선발군의 증체량은 선발군이 유의하게 높았으며, 시간 경과에 따라 선발군과 비선발군의 차이가 더 증가하는 것으로 나타났다. 사료효율의 경우 첫 4주 후 선발군과 비선발군은 각각 138.97%과 133.73%로 나타나 두 집단 사이에는 차이가 없었으나 ($P>0.05$), 두 번째 4주 후에는 각각 130.17%와 120.47%로 나타나 선발군이 유의하게 높았으며 ($P<0.05$), 전 실험 기간 (8주) 동안 각각 132.71%와 124.14%로 나타나 선발군이 높았다 ($P<0.05$). 이상의 결과에서 선발군과 비선발군의 사료효율은 전 실험기간 동안 선발군이 높았으며, 시간 경과에 따라 선발군이 비선발군보다 높은 사료 효율을 유지하였다.

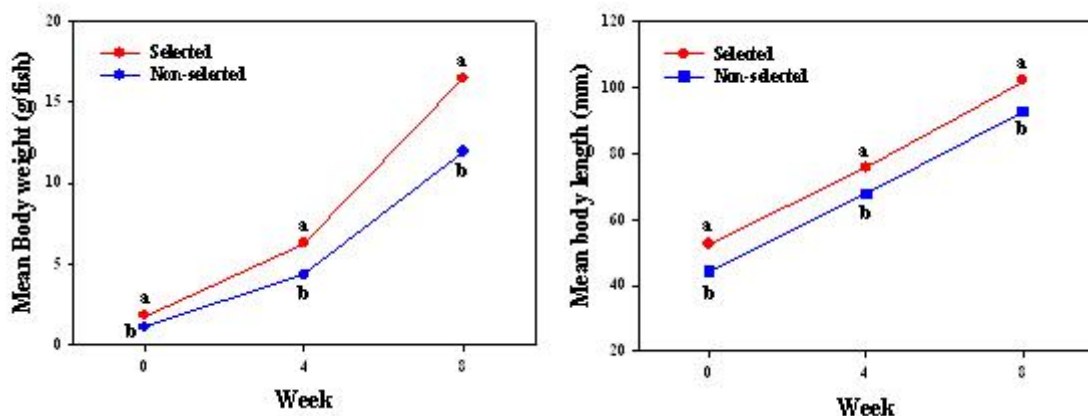


그림 11. 실험기간 동안의 강도다리 선발군과 비선발군의 체중 (좌)과 전장 변화 (우).

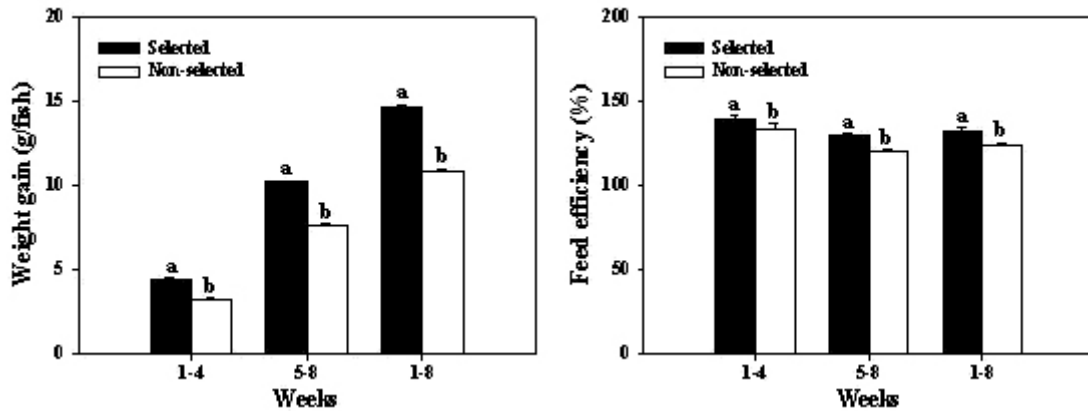


그림 12. 실험기간 동안의 강도다리 선발군과 비선발군의 증체량(좌)과 사료효율(우) 변화.

강도다리 선발군과 비선발군의 일간성장률 (SGR)과 사료섭취율 (FI) 결과를 그림 13에 나타내었다. 일간성장률의 경우 첫 4주 후 선발군과 비선발군은 각각 4.4%/d와 4.83%/d로 나타나 비선발군이 유의하게 높았고 ($P < 0.05$), 두 번째 4주 후에도 각각 3.45%/d와 3.62%/d로 나타나 역시 비선발군이 유의하게 높았다 ($P < 0.05$). 전 실험기간 동안에도 비선발군 4.22%로 선발군의 3.92% 보다 유의하게 높았다 ($P < 0.05$). 이와 같은 결과는 초기 소형 개체로 사육 실험이 이루어진 비선발군이기에 때문에 선발군에 비해 높은 일간성장률을 보인 것으로 판단된다. 사료섭취율의 경우 첫 4주 후 선발군과 비선발군은 각각 2.82%/d와 3.15%/d로 나타나 비선발군이 높았고 ($P < 0.05$), 두 번째 4주 후에도 각각 2.46%/d와 2.77%/d로 나타나 비선발군이 높게 나타났다 ($P < 0.05$). 전 실험 기간 (8주) 동안의 사료섭취율은 각각 2.15%/d와 2.38%/d로 나타나 비선발군이 높았다 ($P < 0.05$). 이상의 결과에서 선발군과 비선발군의 일간성장률과 사료섭취율은 시간 경과에 따라 모두 감소하였지만, 전 실험기간 동안 비선발군이 높게 유지되었다. 이것은 선발군과 비선발군의 초기 무게 차이에 의해 기인한 것으로 생각되며, 실험 시작 시 소형 개체로 시작한 비선발군의 경우 높은 사료섭취율을 보였지만, 선발군에 비해 낮은 증체율과 사료효율을 보였다.

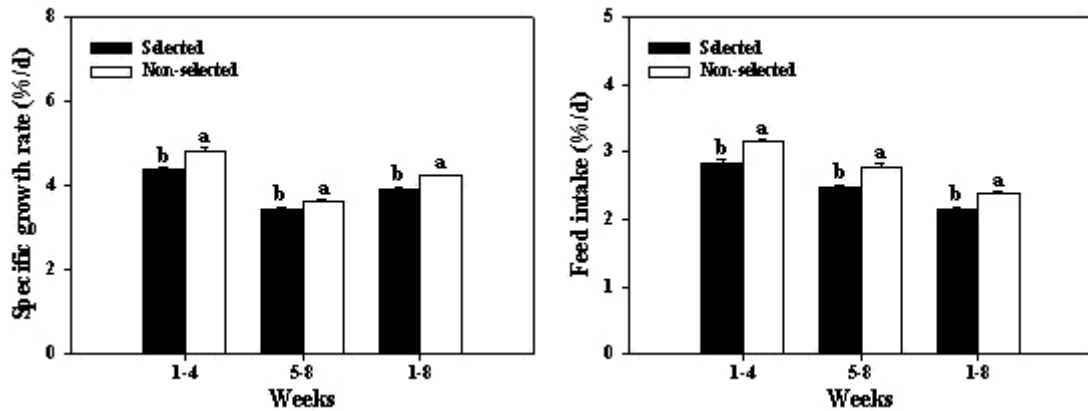


그림 13. 실험기간 동안의 강도다리 선발군과 비선발군의 일간성장률(좌)과 사료섭취율(우) 변화.

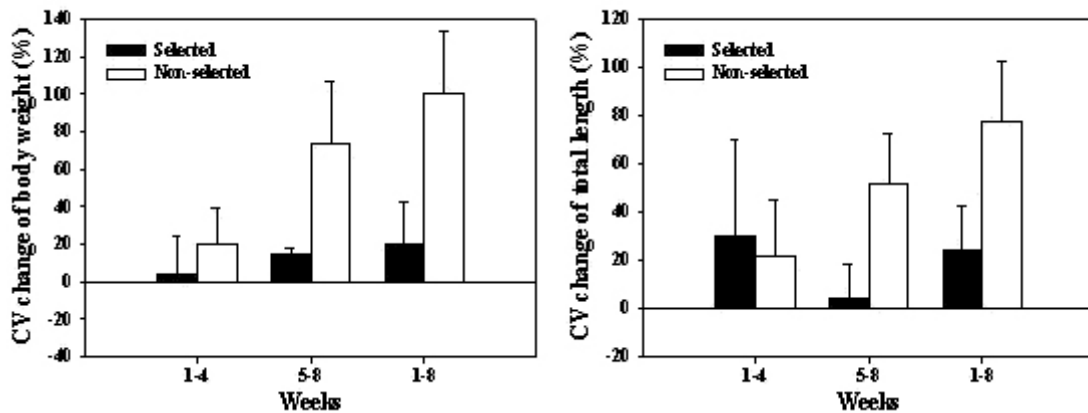


그림 14. 실험기간 동안의 강도다리 선발군과 비선발군의 개체간 체중(좌)과 전장(우) 변화율.

실험기간 동안의 강도다리 선발군과 비선발군의 개체간 체중과 전장 변화율 결과를 그림 14에 나타내었다. 개체간 체중 변화율의 경우 첫 4주 후 선발군과 비선발군은 각각 3.96%와 20.44%이었고, 두 번째 4주 후에는 각각 15.07%와 73.15% 나타나 모두 비선발군이 높았다. 전 실험기간 동안에도 비선발군 100.45%로 선발군의 19.64% 보다 높게 나타났다. 이상의 결과에서 강도다리 선발군과 비선발군의 개체간 체중 변화율은 시간 경과에 따라 증가하는 경향이었지만, 그 변화율은 비선발군에서 높은 것으로 볼 때 선발군에 비해 비선발군의 개체간 체중 차이가 성장이 이루어짐에 따라 큰 것으로 나타났다. 개체간 전장 변화율의 경우 첫 4주 후 선발군과 비선발군은 각

각 30.10%와 21.57%로 선발군이 높았으나, 두 번째 4주 후에는 각각 4.31%와 52.04%로 나타나 시간 경과에 따라 선발군은 감소한 반면 비선발군은 증가하는 반대 현상이 나타났다. 전 실험 기간 동안의 개체간 전장 변화율의 경우 역시 선발군과 비선발군은 각각 24.41%와 77.18%로 비선발군에서 높았다. 이상의 결과에서 비선발군은 성장함에 따라 선발군에 비해 개체간 체중과 전장에 높은 차이를 유발하고 균일한 성장이 이루어지지 않는 것으로 나타났다.

나. 참돔

참돔 선발군과 비선발군을 대상으로 31일간 사육한 성장 결과를 표 4에 나타내었다. 실험 종료 시 최종 평균 무게의 경우 선발군과 비선발군은 각각 25.34 g과 10.04 g이었으며, 증체량 (WG)은 각각 11.05 g과 4.50 g으로 선발군이 유의하게 높았다 ($P<0.05$).

일간성장률 (SGR)의 경우 선발군과 비선발군은 각각 1.84%/d와 1.91%/d로 나타나 비선발군이 높은 경향이었으나, 두 집단간 차이는 없었다 ($P>0.05$).

사료 효율 (FE)의 경우 선발군과 비선발군은 각각 98.19%와 59.96%로 나타나 선발군이 유의하게 높았다 ($P<0.05$).

사료 섭취율 (FI)의 경우 선발군과 비선발군은 각각 1.83%/d와 3.01%/d로 나타나 비선발군이 유의하게 높게 나타났다 ($P<0.05$). 이상의 결과에서 비선발군은 선발군에 비해 일간 더 높은 사료섭취율을 보였지만, 증체량과 사료효율이 선발군에 비해 떨어지는 것으로 나타났다.

표 4. 참돔 선발군 (Selected)과 비선발군 (Non-selected)간의 증체량 (weight gain, WG), 일간성장률 (specific growth rate, SGR), 사료효율 (feed efficiency, FE) 그리고 사료섭취율 (feed intake, FI) 비교

Parameter*	Selected	Non-selected
Initial wt. (g)	14.29±0.08	5.54±0.05
Final wt. (g)	25.34±0.74	10.04±0.60
WG (g fish ⁻¹)	11.05±0.70 ^a	4.50±0.55 ^b
SGR (% d ⁻¹)	1.84±0.09 ^a	1.91±0.17 ^a
FE (%)	98.19±5.18 ^a	59.96±5.90 ^b
FI (% d ⁻¹)	1.83±0.05 ^a	3.10±0.05 ^b

*동일 행 내 서로 다른 윗첨자를 가진 값 (평균± SE, n=3)은 유의적으로 다름 ($P<0.05$).

실험 기간 동안의 참돔 선발군과 비선발군의 개체간 체중과 전장 변화율 결과를 그림 5에 나타내었다. 개체간 체중 변화율의 경우 선발군과 비선발군은 각각 160.53%와 173.85%이었고, 개체간 전장 변화율의 경우 각각 130.27%와 131.90% 나타나 모두 비선발군이 높은 경향이었으나, 두 집단간 차이는 보이지 않았다 ($P>0.05$).

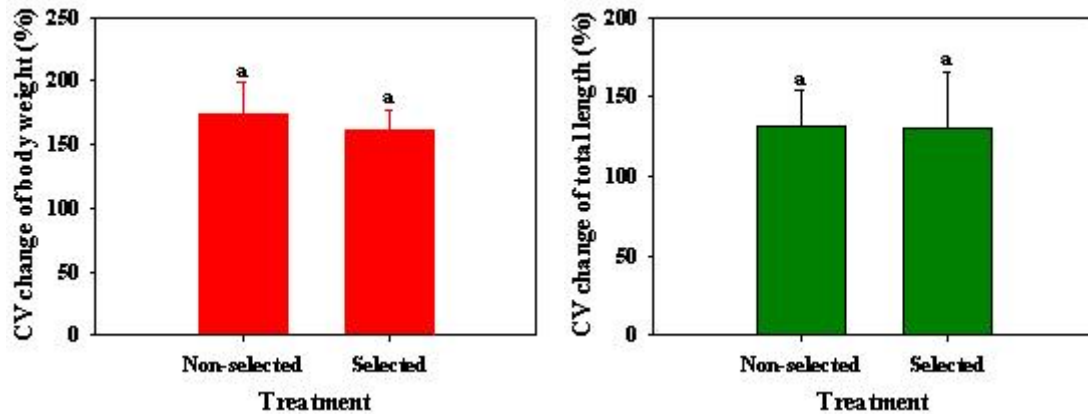


그림 15. 참돔 선발군과 비선발군 개체간 체중 (좌)과 전장 (우) 변화율

II. 유전자표지 개발

1. 생산성과 관련된 유전자 탐색

가. 발현량의 차이를 나타내는 유전자 확보

ACP-based PCR 방법으로 참돔 선발과 비선발(대조구) 집단간 발현량 차이를 나타내는 유전자를 확보하기 위하여 그림 5와 같이 screening 하였으며 DEG (differentially expressed gene)를 조사하였다. Stringency를 높여 screening을 실시하였으며, 1차적으로 선발집단에서 발현량이 많은 7개의 DEG와 대조군보다 발현량이 적은 1개의 DEG를 확보하여 염기서열을 조사하였다.

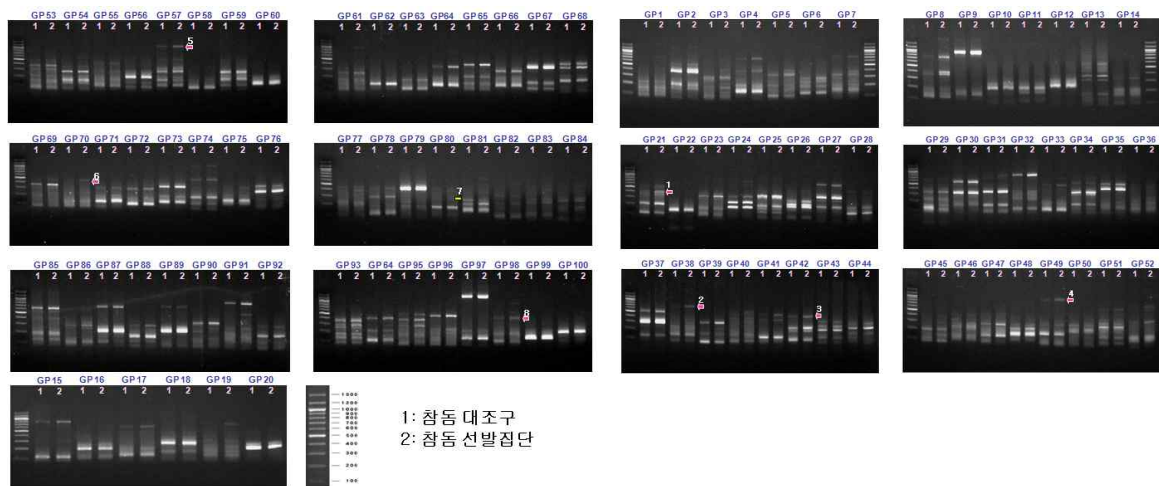


그림 5. ACP-based PCR을 이용한 참돔 근육조직에서의 발현량 차이 탐색 결과

나. 발현유전자의 특성 파악을 위한 상동성 검색

4개의 DEG(1,5,7,8)가 아직 기능이 밝혀지지 않은 유전자이었으며, DEG 4는 housekeeping 유전자인 GAPDH 유전자의 단편이었다(그림 6). DEG 2와 DEG 3은 muscle type의 creatin kinase 유전자이었으며, creatin kinase 유전자의 poly(A)+ 부근이 증폭되도록 primer를 제작하여 참돔 선발집단의 개체간 차이를 재확인하기 위하여 근육조직에서 발현양상을 real-time quantitative PCR 분석으로 확인 중이다.

DEG No.	Sequence homology search
DEG 1 (query:411)	(BLAST: nr) Similar to > gb BT027197.1 Gasterosteus aculeatus clone CFW196-D03 mRNA sequence Length=1866 Score = 399 bits (442), Expect = 4e-108 Identities = 327/398 (82%), Gaps = 21/398 (5%) Strand=Plus/Plus
DEG 2 (query:623)	(BLAST: nr) Similar to > gb AY034097.1 Oreochromis mossambicus muscle-type creatine kinase CKM1 mRNA, complete cds Length=1569 Score = 783 bits (868), Expect = 0.0 Identities = 540/609 (88%), Gaps = 6/609 (0%) Strand=Plus/Plus > gb AY161314.1 Chaenocephalus aceratus creatine kinase muscle isoform 2 mRNA, complete cds Length=1523 Score = 776 bits (860), Expect = 0.0 Identities = 541/610 (88%), Gaps = 11/610 (1%) Strand=Plus/Plus
DEG 3 (query:341)	(BLAST: nr) Similar to > gb AY034097.1 Oreochromis mossambicus muscle-type creatine kinase CKM1 mRNA, complete cds Length=1569 Score = 376 bits (416), Expect = 4e-101 Identities = 283/329 (86%), Gaps = 8/329 (2%) Strand=Plus/Plus > gb AY161314.1 Chaenocephalus aceratus creatine kinase muscle isoform 2 mRNA, complete cds Length=1523 Score = 327 bits (362), Expect = 2e-86 Identities = 271/325 (83%), Gaps = 12/325 (3%) Strand=Plus/Plus
DEG 4 (query:847)	(BLAST: nr) Similar to > dbj AB300322.1 Solea senegalensis GAPD1 mRNA for glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, complete cds Length=1383 Score = 958 bits (1062), Expect = 0.0 Identities = 743/870 (85%), Gaps = 42/870 (4%) Strand=Plus/Plus
DEG 5 (query:1006)	(BLAST: nr) No significant similarity found > emb CR660052.2 CNS0F89M Tetraodon nigroviridis full-length cDNA Length=986 Score = 780 bits (864), Expect = 0.0 Identities = 579/677 (85%), Gaps = 0/677 (0%) Strand=Plus/Plus (BLAST: EST) Similar to > gb DT989605.1 CLJ244-G02.y1d-s SHGC-CLJ Gasterosteus aculeatus cDNA clone CLJ244-G02 5', mRNA sequence. Length=1245 Score = 971 bits (1076), Expect = 0.0 Identities = 764/907 (84%), Gaps = 30/907 (3%) Strand=Plus/Plus
DEG 7 (query:343)	(BLAST: nr) No significant similarity found (BLAST: EST) No significant similarity found
DEG 8 (query:365)	(BLAST: nr) Similar to > emb CR718182.2 CNS0GH3G Tetraodon nigroviridis full-length cDNA Length=1020 Score = 199 bits (220), Expect = 8e-48 Identities = 279/379 (73%), Gaps = 27/379 (7%) Strand=Plus/Plus > gb DQ850522.1 Lithognathus mormyrus clone lmos8p08c08 mRNA sequence Length=359 Score = 219 bits (242), Expect = 8e-54 Identities = 146/157 (92%), Gaps = 7/157 (4%) Strand=Plus/Plus (BLAST: EST) No significant similarity found

그림 6. DEG 염기서열의 상동성 검색 결과.

2. 후보 유전자 표지 탐색

가. 후보 유전자 표지 선정

(1) 근육 분화 및 형성 관련 유전자

근육 분화 및 형성 관련 유전자 중 skeletal muscle growth에 있어 negative regulator로 작용하는 것으로 알려진 myostatin 유전자를 후보유전자로 선정하여 유전자 정보를 조사하고 있다.

(2) 어류 지방 관련 후보 유전자 표지

- Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs)
- Lipoprotein lipase (LPL) / - Delta-6-desaturase (d6DES)
- StearoylCoA desaturase b (SCDb) / - Glucose transporter 1 (Glut1)
- Glucose transporter 3 (Glut3) / - Leptin (LEP)

나. 후보 유전자 표지 탐색

LPL 유전자의 exon 2번을 포함하는 영역을 증폭시켜 제한효소를 사용하여 RFLP 분석으로 3개의(*Msp* I, *Alu* I 및 *Hsp92* II) 다형성을 확인하였다(그림 7, 표 1). 증폭한 PCR 산물의 크기는 1,091bp이었으며, exon 2번을 포함하는 영역의 대략적인 genomic 구조 및 다형을 나타낸 제한효소 절단부위의 위치는 그림 8에 나타내었다. 제한효소 *Msp* I 에 의한 변이를 확인하였으며, 2,235번의 염기 C가 G로 transversion이 되어 절단되지 않는 형태의 유전자형이 존재하였고, 2개의 대립 유전자에 의해 3개의 유전자형을 확인하였다. *Alu* I 인식부위의 변이는 3곳의 염기치환이 4개의 대립 유전자(A, B, C, D)를 생성하였고, 10개의 유전자형으로 표현되었다.

3개의 변이를 나타낸 *Alu* I 인식부위 염기는 1,727번, 2,319번, 2,362번 염기이었고, 1,727번 염기는 A→G, 2,319번 염기는 C→T 그리고 2,362번 염기는 T→C로 모두 transition이 일어난 형태이었다. 10개의 유전자형 중 AC와 BD는 절단된 단편의 크기가 동일한 것으로 인하여 제한효소 절단 패턴으로는 구분이 불가능하여 염기서열로 확인하였다. 제한효소 *Hsp92* II 인식부위인 염기 2,541번에 변이가 존재하였으며, 염기 T가 A로 transversion되어 있음을 확인하였다. 이상과 같이 LPL 유전자의 exon 2번 영역에서 유전자 변이를 조사하였으며, 각 변이에 의해 생성되는 대립유전자와 유전자형이 참돔의 기능형질과의 연관성이 있는지 여부를 파악하기 위하여 대립유전자의 빈도를 분석하고 있다. *Msp* I 다형성은 염기변이로 인하여 아미노산 서열의 변화는 없었으며, 기능 또한 변화가 없을 것으로 추정한다.

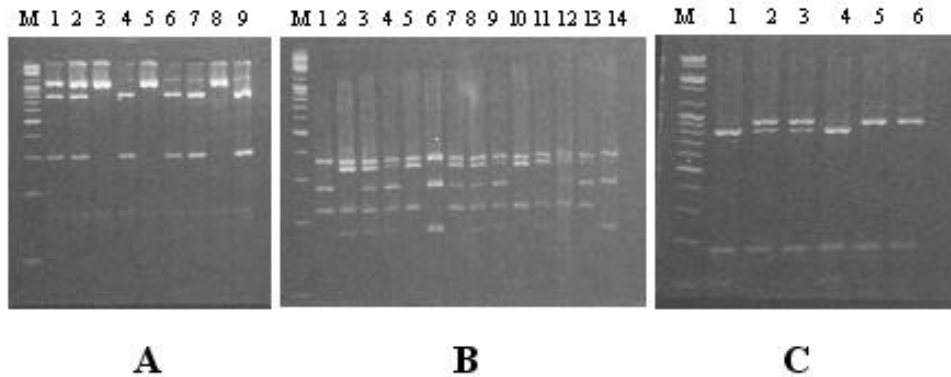


그림 7. 참돔 LPL 유전자 exon 2번 포함 영역의 PCR-RFLP 분석 결과
(A) *MspI* 변이 (B) *AluI* 변이 (C) *Hsp92II* 변이

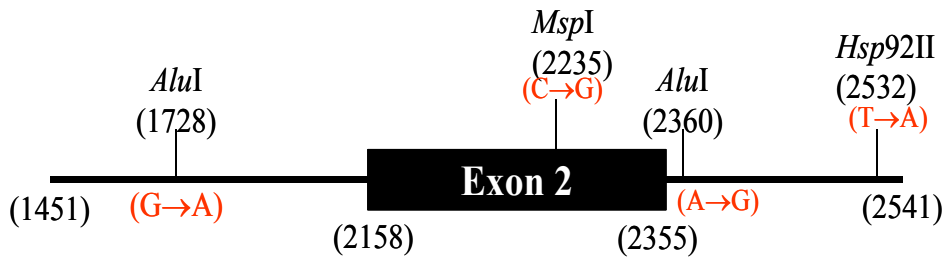


그림 8. 참돔 LPL 유전자 exon 2번 포함 영역의 genomic structure와 염기변이 위치

표 1. 참돔 LPL 유전자 exon 2번 포함 영역내 변이의 대립유전자

Restriction enzyme	Allele	Fragment length (bp)
<i>Msp I</i>	A	785, 306
	B	1091
<i>Alu I</i>	A	278, 66, 63, 31, 60, 370, 42,181
	B	278, 66, 63, 31, 60, 370, 223
	C	344, 63, 31, 60, 370, 223
	D	344, 63, 31, 60, 370, 42,181
<i>Hsp92 II</i>	A	176, 907,8
	B	176, 915

이상의 실험에서 어류의 생산성 관련 유전자를 탐색하고 확보하기 위하여 성장이 빠른 참돔집단을 선발하여 대조군과 발현 유전자를 비교하였다. 참돔의 근육조직에서 발현되는 유전자를 비교하였으며, 선발 및 대조군 각각에서 특이적으로 발현량이 높은 유전자를 1차적으로 탐색한 결과, 선발집단에서 발현량이 많은 7개의 DEG와 대조군보다 발현량이 적은 1개의 DEG를 확보하였다. 염기서열을 분석한 결과에서 creatin kinase 유전자가 확인되었으며, 선발집단에서 더 많이 발현될 것으로 추정하고 creatin kinase 유전자의 poly(A)+ 부근이 증폭되도록 primer를 제작하여 발현양상을 분석하고 있는 중이다. 어류의 생산성 관련 유전자를 확보하기 위한 또 다른 접근 방법으로 후보유전자를 선정하여 비교분석하는 방법으로 지방세포의 분화 및 지방산 생합성 관련 유전자와 근육분화 및 형성 관련된 유전자를 중심으로 목록화하였다. 후보유전자 탐색에 이용 가능한 지방대사 관련 유전자는 PPARs, LPL, FAS, d6DES, SCDB, Glut1, Glut3, LEP가 있었으며, 근육대사 관련 유전자는 목록화 중에 있으며, myostatin 유전자는 탐색할 후보유전자로 선정하였다. 지방대사 관련 유전자 중 LPL 유전자의 exon 2번 포함영역의 변이를 탐색한 결과, 3개의 변이를 확인했으며, 유전자의 기능영역인 exon 내에 위치한 변이도 존재했다.

3. 최적 사육 수온에서의 생산성 관련 유전자 발현양상 파악, 확보 및 정보화

가. 강도다리 생산성 관련 후보유전자 탐색

(1) 생산성 관련 후보유전자 탐색에 이용하기 위한 total RNA 추출 및 정제

연령별, 크기별로 분류된 5개체 근육조직에서 total RNA 추출·정제하여 각각 1µg 취해 혼합한 후 DEG 분석에 이용 적합한지 확인하였다.

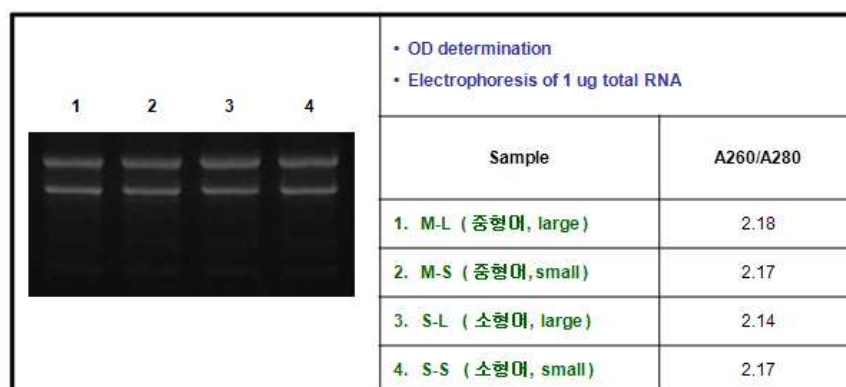


그림 3. 강도다리 근육조직 total RNA 전기영동 결과.

(2) GeneFishing™ DEG Kits을 이용한 DEG(differentially expressed gene) 탐색

강도다리의 생산성 관련 유전자를 확보하기 위하여 ACP-based PCR 방법을 이용하여 차등 발현 유전자의 cDNA 단편을 증폭하고 발현량 차이를 분석하였다. ACP-base PCR primer 20개를 사용하여 연령별 및 크기별 근육조직에서 6개의 차등 발현되는 유전자(DEG)를 확인하였다.

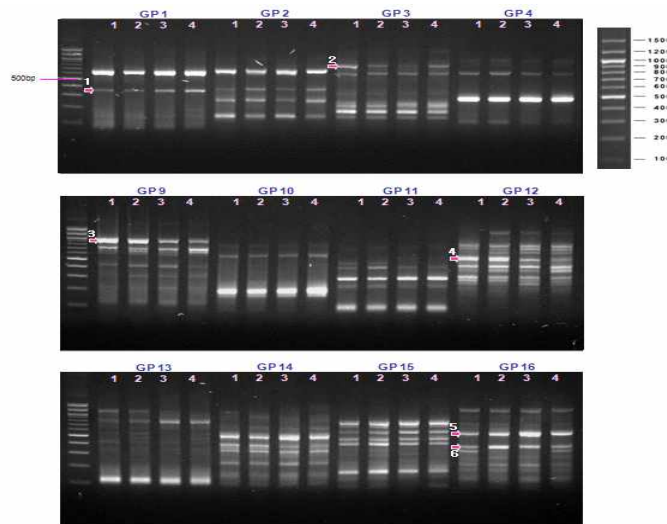


그림 4. ACP-based PCR 방법을 이용한 강도다리 근육조직 차등발현 유전자 탐색 결과.

(3) 차등발현 유전자(DEG)의 염기서열 결정

- 연령별, 크기별로 분류된 강도다리 근육조직에서 발현량 차이를 나타낸 6개의 DEG의 cDNA를 재증폭하여 염기서열을 결정하였다. 6개 DEG cDNA 단편의 크기는 약 300 bp ~ 900 bp이었다. 6개 DEG cDNA 단편은 정상적으로 재증폭되었으며, 각각의 염기서열은 그림 5와 같다.

(4) 차등발현 유전자(DEG) 정보 검색

- 발현량 차이를 낸 DEG의 염기서열을 결정하고 유전자 데이터베이스를 이용하여 상동성 검색을 실시한 결과, 6개의 DEG는 아직 기능이 밝혀지지 않은 유전자이었다(표 1).

DEG 1
GGGGATTGCGGGGATCTTGC ACTAACATCTCTCCACTTTTCAAAATCCTCTGTATGGTTGGGAGTTATGTTGTCATTCACCTGTTGTTGTTGTTGTTGCGCACAGAGAAATGAGA
TGACTAAGAAAGGAAGGAACATGATGTAAGATTCACACTTGTATCTCAGGGAATATATTGCACCTTGCAATTTGTAAGTTGGATTAACGGGATGTGTCAGTCCCTAGT
TGTGTAGTGCAGCTTTGC AAAGCAAAGCCACATTAATCTGTTTATAATTAATAAACACTTTGTCTCAC AAAAAAAAAAAAAAAAAA

DEG 2
ATCGAAGCTGGGAGACACGGAGGTGGAGCTGGCCACGCCGAGGAGTGAAGCATTGAACTTCTATGATATTGTGCTGACTTCATCCTGATGGATTCGTTTGAGGACCTGGAG
AATCCACDGGTCTCATCCAGAACGTTGTC AACAAACGGCTGGCTCAACAGCTCCTTC AAGGAAMCCGGGTTGGCCCTCCAGCTGTTGTCAGTGTGAAGCAGAAGAGGCAGC
ACATGAAGGTTCCCGAGGGTTCACTGCTCATTCTACGCAGTGTGTGAACAGATCAGCCTGGTCTGGCCCTGGGGCTTCCTGGGTCCCAAGAGCTCCCTGCACGACTTCTG
CTGCTTCTCAAGGACACAGGTGCTGC ACTTCTGAAGGAAATTTTGGACCTGGACAACGTGC GTTACTCTGCCTGGGAGAGTCTGGCCGAGGACATGCTCCACTGCTGCAC
CGCCGCTCCGAGCTGCTGCTGGCTACCTGGCCACCGACCCGCTGCGGCCGTCAGCAGTTCCCGCAGGTGGAGCTGTTGCCAGCGCTCTGCTGGGGCCGGGGCTTC
AGTGAGAGACGAGAGGAGTTCCAGACGACGAGGTCCTCAAGAAACACAC AAGAAACACAGCATTATCTTCAGCCCGAGTCCGGACACAGAGCAAACTGTCGGTGTGGAACATA
ACAATCAGAGGGTAAGAGCCGACAGGCTCATGACTTCACTCCACCCCATCTGTGTGAAACTAAATGTCTACTATAGAATATAAACGTTAAACCCATTC C C ATC AAAAAAAAA
AAAAAA

DEG 3
AGAAATGGAGTCCATGGAATAACATCACTAAC AAGGAGCACGTGCTCACTACCACACTGGGCCAATAGTGTGGGCCGAGCCAGGAACCAATGGGCAGCATGCCTTCTACCA
ACTCATCCACCAAGGAACAGGTATGGTCCCTCTGACTTCTGATCCCTGCTCAGTCCGAGCATCCATCAGAGAC AACCTGCACAC AAGATCTTCTGGGCACCTTCTGG
CCCAGACCAGGCCCCTGATGAAGGGTAAGACACAGAGGAGGCCAGGAAGGAGCTGGAGGCCAGCGGC GTGACAGGAGATGAGCTGGAAGATCCTCCCTCATAAAGTC
TTCCAGGGAACAGGCCCAACCACTCAATCATCTTC AAGAAAGTGACACTTACACACTTGGAGCACTTATAGC GATGTATGAACACAAGATCTTCATCCAGGGTCTGATGTGG
GAGATCAACAGTTTCCGACAGTGGGGAGTGGAACTGGGCAACAGCTCCCAAGAAAGATCGAGCCCGAGCTCAAGGACAGGCGAGAGTCCACTCCAGGACTCTCCACC
AACGGACTCATCACTTCTCAAGAAAGAACTTTTCTGAGCTGAGTCAACAGTCTCCGCCGCCCGGAACTCCCTTAAGGGCAAAAATTAACCCGCCAGGAGCTGC
TGCTTGACCAAGAACTCCAAAGGGGGCCGGGTNNTCC AACACGGGGAAGTGCCGCCCTTTTGGAAATCGGAGCGGCCCGAGGGAGTTTTTTGGTTTTGTTTCANINA
TTTTACCTTTAGAGGGAAAACTTTTTTATAAAGGGCGGGGAGGCACATAGMAAATGCOCTCCCTTCC AAAAAATAGTTTTTGA AAAAATTTTCTCCAC AAAAAA
AAAAAA

DEG 4
GTTGAGAGCCCTAACAGCTCAGAGCCATGATGTACTCAGGAGATCTGAAATTTGAAAGGAGAACATCATCAGCTCAGATGGAGGGT
GGAGTCCACAGCATGCACAGCTACGAGAAGCGTCTGTTTTGAGGACGTTTAGCCAAAAGATGAGGAATCCTTCCAAAAGACATTAT
GCAATCACACTACTTGCAGACCCTCTCGTTTCTACTCTACACATGCAGACTAATTTTCTATCAAAATGCGTCTCTAAAGATCAGTT
GTCACACACACTCTTCC AAGGATCATCGGCTTCTCGCCAGTGCCATCTATGCATCGTCTGTGTTTTATCCGTTTGTGTGTAAG
GAGGGTACTAAGCATTTCTATGATTTATCAGTACATGTGTGATGAATCCCTCAATGCCTTCTGTCTCCAGTTTACTGCTGTGATCA
TTCTAAGGCCAAAAGTGTCCAATAATAAAGCTCTTGTTTTTTCCAC AAAAAAAAAAAAAAAAAA

DEG 5
AATGGAGAGGCTGANACCTGGCCATGAAGGGTGGCAAGAAGCAGCTCCAGAAAC TGGAGTCTAGGGTGCAGAGAACTTGAGTCA
GATTGAGGCTGAGCAGAGACGTGGAGTATGATGCTGTTAAGGGTGTCCGCAAGTACGAGAGGAGAGTG AAGGAGCTCACCTACCAG
ACTGAGGAGGACAGAAAACGTTTCCAGGCTGCAGGATCTGGTTGAC AAGTTGCAGCTC AAGGTGAAGGCCACAAAGAGGCAGT
CTGAGGAAGCGGAGGAGCAGGCCAATGTCCACCTGTCC AAGTGCAGGAAAGTTCAGCATGAGCTAGAGGAGGCTGAGGAGCGTG
CTGACATTGCAGAGTCCAGGTC AACAACTGAGAGCC AAGACCCGTGACTCTGGAAGGGAAAGGAGGCAGCTGAATAAAGGAC
TATTGAGTGTTTTTCAGTCATATAATATGATGTGAAATATACTACAAATAAATACCTTTTCTTCCG AAAAAAAAAAAAAAAAAA

DEG 6
AGAAGCACAGAACTCTGGATTCACGTCTGTGGAGATGGACTCAAACACCGCTCCAAACTAATATGGAGCCGTGTCATCGAGTGAA
TATTCATAATCATCTACGTGCTTTTTCTTTTCATGTCCGTGTGTGAGTTTGTGACCCTGTTGTTGCGTTCATCATCGAGTCTTTTCTC
TTTTCTTTTGTAAACAACATAGTCGCGGTTAAACTGTCGTGTGCGGACTTCATATTTATTGCTAAATGTTCAAGTATAACTTTGTGAT
AGCAATTTTCTTTGTGTAATAAATAACTATGAAGTCT AAAAAAAAAAAAAAAAAA

그림 5. 차등발현유전자의 염기서열(DEG 1~6).

표 1. 6개 DEG 유전자 정보 검색 결과

DEG No.	Sequence homology search
DEG 1 (query:297)	(BLAST: nr) / (BLAST: EST) No significant similarity found
DEG 2 (query:774)	(BLAST: nr) No significant similarity found (BLAST: EST) No significant similarity found >gb CA377493.1 _656091 NCCCWA 1RT Oncorhynchus mykiss cDNA clone 1RT39A09_A_A05 5', mRNA sequence. Length=629 Score = 494 bits (267), Expect = 4e-136 Identities = 416/487 (85%), Gaps = 13/487 (2%) Strand=Plus/Plus
DEG 3 (query:894)	(BLAST: nr) No significant similarity found (BLAST: EST) No significant similarity found >gb DN792796.1 Hh_juG_17F06_T3 Fast muscle from juvenile (420 g) Atlantic halibut Hippoglossus hippoglossus cDNA clone Hh_juG_17F06 5' similar to emb CAC83779.1 phosphoglucose isomerase-2 - Mugil cephalus. Score = 272 bits (695), Expect = 3e-72, mRNA sequence. Length=474 Score = 767 bits (415), Expect = 0.0 Identities = 449/466 (96%), Gaps = 0/466 (0%) Strand=Plus/Plus >emb FM147173.1 FM147173 cDN16 Sparus aurata cDNA clone cDN16P0013D03 5', mRNA sequence. Length=777 Score = 761 bits (412), Expect = 0.0 Identities = 542/604 (89%), Gaps = 11/604 (1%) Strand=Plus/Plus
DEG 4 (query:488)	BLAST: nr) / (BLAST: EST) No significant similarity found
DEG 5 (query:490)	(BLAST: nr) No significant similarity found (BLAST: EST) No significant similarity found >gb DN794357.1 Hh_ystG_05D10_T3 Trunk of Yolk-sac Stage Atlantic Halibut Larvae Hippoglossus hippoglossus cDNA clone Hh_ystG_05D10 5' similar to emb CAC27777.1 MyoHC-A3: myosin heavy chain - Notothenia coriiceps. Score = 331 bits (849), Expect = 7e-90, mRNA sequence. Length=635 Score = 680 bits (368), Expect = 0.0 Identities = 442/475 (93%), Gaps = 18/475 (3%) Strand=Plus/Plus
DEG 6 (query:305)	(BLAST: nr) No significant similarity found (BLAST: EST) No significant similarity found >gb FE215920.1 L074H03 Antarctic fish Dissostichus mawsoni adult liver library Dissostichus mawsoni cDNA, mRNA sequence. Length=508 Score = 187 bits (101), Expect = 3e-44 Identities = 182/219 (83%), Gaps = 13/219 (5%) Strand=Plus/Minus

2. 강도다리 생산성 관련 후보유전자의 발현양상 조사

발현유전자 절대량 비교 분석은 Real-Time Quantitative PCR 방법을 이용하였다. 그룹간 발현량 차이를 나타낸 6개의 DEG 염기서열을 근거로 primer를 제작하였으며, 근육대사와 지방대사 관련 후보유전자도 분석에 포함하였다. House keeping 유전자

는 β -actin과 GAPDH를 이용하였고, 참돔 근육조직에서 생산성 관련 유전자로 선정
한 CKM1(Creatin kinase muscle type) 유전자 정보를 강도다리에 적용할 수 있도록
변형시켜 강도다리 근육조직 발현양상 분석에 활용하였다.

그림 6은 19°C에서 사육하여 선발한 large 및 small group 시료의 근육조직에서 발현
하는 유전자의 발현량을 비교분석한 결과이다. cDNA는 β -actin 유전자로
normalization 하였으며, CKM1, DEG01, DEG02, DEG04, DEG06, PPAR- β
(Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-beta), SCDb(Stearoyl-CoA Desaturase b)
유전자의 발현량을 분석하고 비교하였다. CKM1 유전자의 발현량은 small group에서
보다 large group에서 약 5배 많았다. DEG01, DEG04, DEG06 유전자의 발현량은
large group에서 약 2.5배가 많은 반면에 DEG02 유전자는 small group에서 발현량이
2.5배 가량 많았다. 지방대사 관련 유전자 중 SCDb의 발현량은 large group에서 약
1.9배 많았지만, PPAR- β 유전자의 발현량은 두 그룹간 차이가 없었다. 이들 유전자의
기능을 추정하기 위한 조직 특이성 분석은 간 조직에서 우선 수행했으며, 발현 유무
및 발현량 차이를 분석하였다. 간 조직 cDNA는 GAPDH 유전자를 normalizer로 사용
했으며, CKM1 유전자가 간 조직에서 발현되는지 여부를 조사한 결과, CKM1 유전자
는 간 조직에서 발현되지 않았다. 간 조직에서는 DEG01, DEG02, DEG04, DEG06,
PPAR- β , SCDb, IGF-I 유전자가 발현되고 있었으며, 그림 7에 나타낸바와 같이 선발
한 시료의 group 간 발현량 차이는 없었다. IGF- I (Insulin-like Growth Factor-1) 유전자
를 포함하여 LPL(Lipoprotein lipase) 및 IGF- II 유전자의 발현양상은 분석 중에 있다.

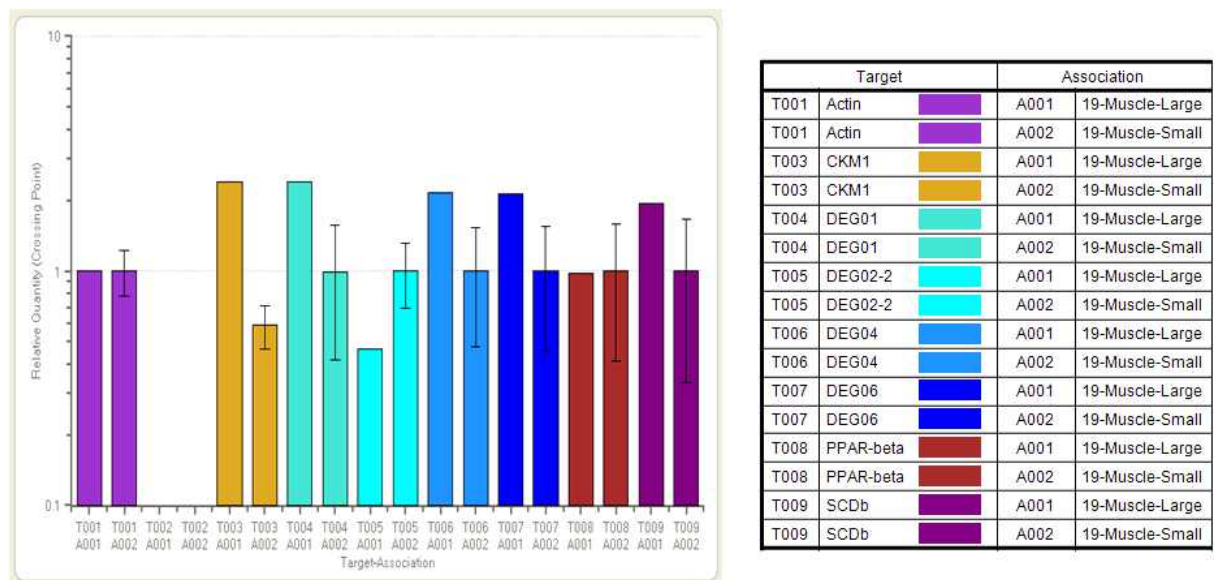
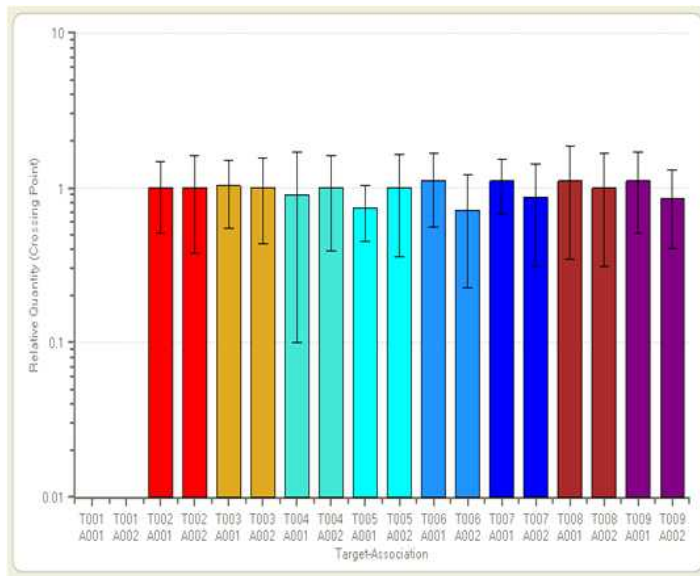


그림 6. Real-Time Quantitative PCR 방법으로 분석한 강도다리 근육조직에서 발현량
차이.



Target	Association
T002 GAPDH	A001 19-Liver-Large
T002 GAPDH	A002 19-Liver-Small
T003 DEG01	A001 19-Liver-Large
T003 DEG01	A002 19-Liver-Small
T004 DEG02-2	A001 19-Liver-Large
T004 DEG02-2	A002 19-Liver-Small
T005 DEG04	A001 19-Liver-Large
T005 DEG04	A002 19-Liver-Small
T006 DEG06	A001 19-Liver-Large
T006 DEG06	A002 19-Liver-Small
T007 PPAR-beta	A001 19-Liver-Large
T007 PPAR-beta	A002 19-Liver-Small
T008 SCDB	A001 19-Liver-Large
T008 SCDB	A002 19-Liver-Small
T009 IGF-1	A001 19-Liver-Large
T009 IGF-1	A002 19-Liver-Small

그림 7. 강도다리 간 조직에서 확인한 생산성 관련 후보유전자의 발현양상.

3. 강도다리 생산성 관련 유전자 결정 및 기능추정

연령별, 크기별 시료에서 발현량 차이를 나타낸 creatine kinase(muscle type) 유전자를 강도다리 생산성 관련 유전자로 선정하였고, 기능을 추정하기 위하여 강도다리의 사육온도에 따른 발현양상과 조직특이성을 분석하였다. 그림 8은 CKM1 유전자의 사육온도에 따른 발현양상 패턴을 분석한 결과로 적정 사육온도인 19°C에서 사육된 강도다리 근육조직에서 large group 및 small group 간 발현량 차이를 확인할 수 있었으며, 22°C에서 사육된 group에서도 동일한 발현양상을 보였다. 10°C, 13°C, 16°C에서 사육된 group에서는 발현양상이 다소 상이했으며, 간 조직에서는 발현되지 않았으나, 신장조직, 지느러미, 아가미, 혈액에서 발현되었다(그림 9).

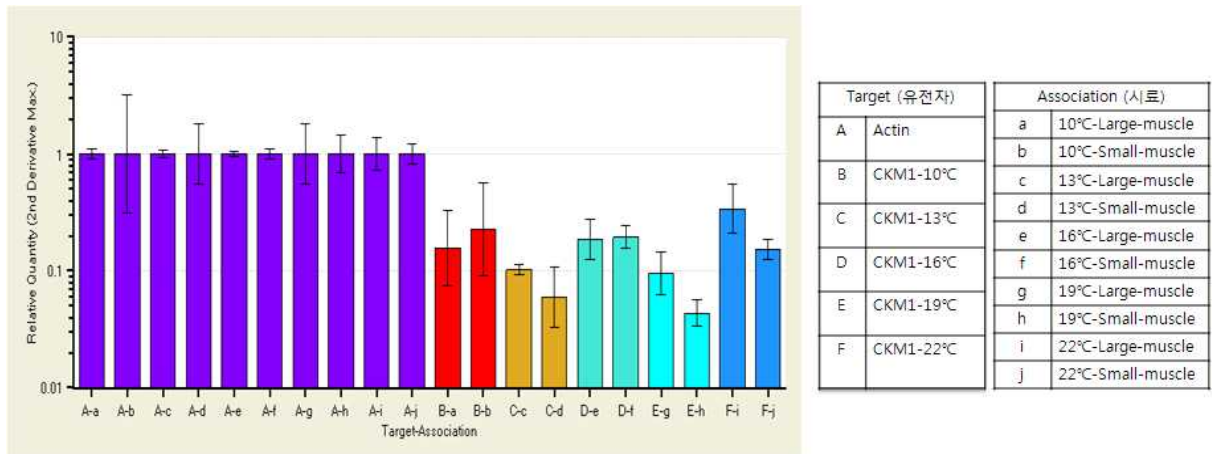


그림 8. 사육온도가 다른 강도다리 근육조직에서의 CKM1 유전자 발현양상.

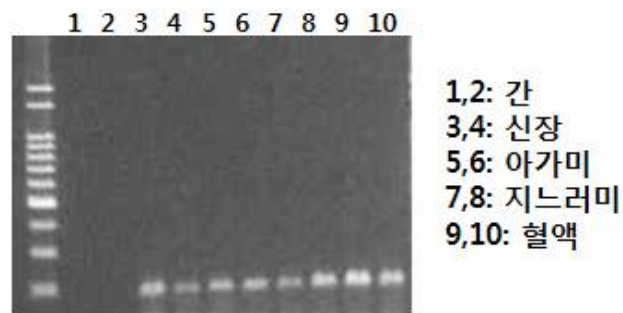


그림 9. CKM 1 유전자의 조직특이적 발현양상 분석

강도다리 CKM1 유전자의 mRNA 전체 정보를 확보하여 염기서열을 분석한 결과 크기는 1,590 bp 이었으며, 5'방향에 93염기로 구성된 비암호화 부위가 있었다(그림 10). 94번째 염기 ATG(개시코돈)로부터 1168번째 염기 TGA(종결코돈)까지 1074 bp의 염기로 이루어진 한 개의 ORF(Open Reading Frame)가 있었다. 염기 1071 ~1590까지 3'방향에 520 bp 크기의 비암호화 부위가 있었고, 3'말단에 poly(A)⁺ tail로부터 상류로 58번째인 1500 ~ 1505번째 염기 위치에 한 개의 poly(A) polymerase 인식배열인 5'-AATAA-3'가 있었다. 확인한 한 개의 ORF는 359개의 아미노산으로 이루어졌다. 강도다리 creatine kinase 유전자를 활용하여 생산성 관련 마커를 개발하기 위하여 creatine kinase 전체 유전자 영역을 확보하였다(그림 11). 크기는 3325bp이었으며, CKM1 유전자의 암호화 영역은 9개의 exon과 8개의 intron으로 구성되어 있었다. 강도다리 CKM1 유전자의 조절영역 정보를 파악하고 생산성 관련 염기변이 유무를 파

악하여 생산성이 큰 강도다리 선발에 이용할 수 있는 마커를 개발하여 적용하고자 한다.

```

1  GGGGTGCCCTATTTTGGCTGTGGTGAACAGGATCTGATCCCAAGGACTGTTACCTTTTG
61  TTCTTGTCTGGTGTGCAGTGTAAAGAAAGCAATCATGCCTTTTCGGAAACACCCACAACAAC
      M P F G N T H N N
121  TTCAAGCTCAACTACAAGGTCGAGGAGGAGTCCCCGACCTGAGCCTCCACAACAACCAT
      F K I N V K V F F F F P D I S I H N N H
181  ATGGCCAAGGTTCTGACCAAGGAGCTGTATGGCAAGATTAGGGACAGGCAGACACCCAGT
      M A K V L T K E L Y G K I R D R O T P S
241  GGCTACACTGTGGATGATGTTCATCCAGACTGGTGTGACAAACCCCTGGTCACCCCTTCATC
      G Y T V D D V I O T G V D N P G H P F I
301  ATGACCGTTGGCTGCGTGCCTGGTGTGATGAGGAGTCCCTATGAGGTCTTCAAGGAGCTTCTG
      M T V G C V A G D F E S V F V F K E I I
361  GACCCCATCTCAGACCGTCATAATGGATACAAGCCTACTGACAAGCACAAGACCCGAC
      D P I I S D R H N G Y K P T D K H K T D
421  TTGAACTTCGAGAACCTGAAGGGTGGTGACGACCTGGACCCCAACTATGTTCTGTCCAGC
      L N F E N L K G G D D L D P N Y V L S S
481  CGTGTCCGTAAGGACGTAGCATCAAGGGATTACCCCTGCCCCCAACAACAGCCGTGGC
      R V R T G R S I K G F T L P P H N S R G
541  GAGCGCAGAGCTATTGAGAAGCTGTCTGTTGAGGCTCTGGCCAGCCTGGATGGTGGATTC
      E R R A I E K I S V E A L A S I D G E F
601  AAGGGAAAGTACTACCCCTGAAGTCTATGACTGATGCCGAGCAGGAGCAGCTGATCAGT
      K G K V Y P I K S M T D A F O F O I I S
661  GATCACTTCCTGTTTCGACAAGCCTGTCTCCCCCTGTGACCTGTGCTGGAATGGCCCGT
      D H F L F D K P V S P L L T C A G M A R
721  GACTGGCCTGATGCCAGGGGCATCTGGCACAATGAGAACAAGTCCCTTCCCTGGTCTGGGTC
      D W P D A R G I W H N E N K S F L V W V
781  AATGAGGAGGATCACCTGCGTGTCTCCTCATGGAGCAGGGTGGCAACATGAGGGAGGTC
      N F E D H I R V I S M F O G G N M R F V
841  TTCAAGCGTTTCTGCGTTGGCCTTAAAAGGATTGAGGAGATCTTCAAGAAGCACAACCAT
      F K R F C V G L K R I E E I F K K H N H
901  GGCTTCATGTGGAACGAGCATCTCGGGTACATCCTGACCTGCCCTCCAAACCTGGGCACT
      G F M W N E H L G Y I L T C P S N L G T
961  GGACTGCGTGGTGGTGTCCATGTCAAGCTGCCAAAGCTGAGCACACATCCCAAGTTTGAT
      G I R G G V H V K I P K I S T H P K F D
1021  GAGATCTCACCAGGCTGCGTCTGCAGAAGCGTGGAAACAGGTGGTGTGGACACAGCCTCTG
      E I S P G C V C R S V E O V V W T O P L
1081  TGGGTGGTGTGTTTCGACATCTCCAACGCTGACCGTCTGGGCTCCTCTGAGGTGGACCAGG
      W V V C S T S P T L T V W A P L R W T R
1141  TCCAGCTGGTGGTTGATGGTGTCAAACCTGATGGTTGAGATGGAGAAGAAGCTGGAGAAGG
      S S W W L M V S N *
1201  GAGAGGCGAGTCGACAGCATGATCCCTGCCAGAAAGTAGAGAGGAACAATCTCATCTTTTT
1261  CCGTGACCATTTCAATTTATGTTCAACGGAGCCAGCTGATGGCTTTGCAGAGGAAACAGCTG
1321  CTCACCTAGAGACTCTTGACTCCGCTCACCTTTTTTCTCCATACAGCTTTTTCTTTCTTT
1381  CCCCCTCATCATTTTTTTTTTCAAGTTCTCCTGTGTTGGTTGGAAAAATCCCTGGGATCA
1441  CCCCCCAGGGGCTGGGCTCCCTAGCAAACGGGGCATCCCCCAGTTTTTACAGCTAAAA
1501  ATAATGTTTATTGAAGGGTTTCATATTACTCAAAAAAAGGGGCCCGGGAAACAATAAA
1561  AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

```

그림 10. 강도다리 creatine kinase (muscle-type) cDNA의 염기서열과 아미노산 배열. GenBank Accession No.GU062902.

강도다리 Creatine kinase (3325bp)

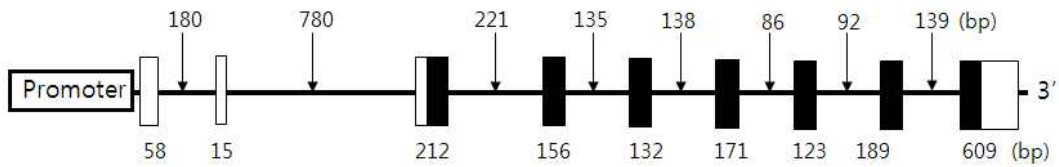


그림 11. 강도다리 Creatine kinase (muscle-type) 전체 유전자의 구조.

4. 이용 가능한 후보유전자 표지 발굴

강도다리 생산성 관련 후보유전자 4개(DEG01, DEG02, DEG04, DEG06)의 기능을 추정하여 마커개발에 이용하고자 조직특이적 발현양상을 분석한 결과 (그림 12), 근육조직에서 발현량 차이를 나타낸 DEG01, DEG02, DEG04, DEG06 유전자는 간 조직, 신장조직, 아가미, 지느러미, 혈액에서 모두 발현되었다. CKM1 유전자와 발현양상에 있어 반대경향 (down-regulation)을 나타낸 DEG02 유전자는 cDNA 유전자 정보를 토대로 강도다리 생산성관련 마커 개발에 활용할 수 있다.

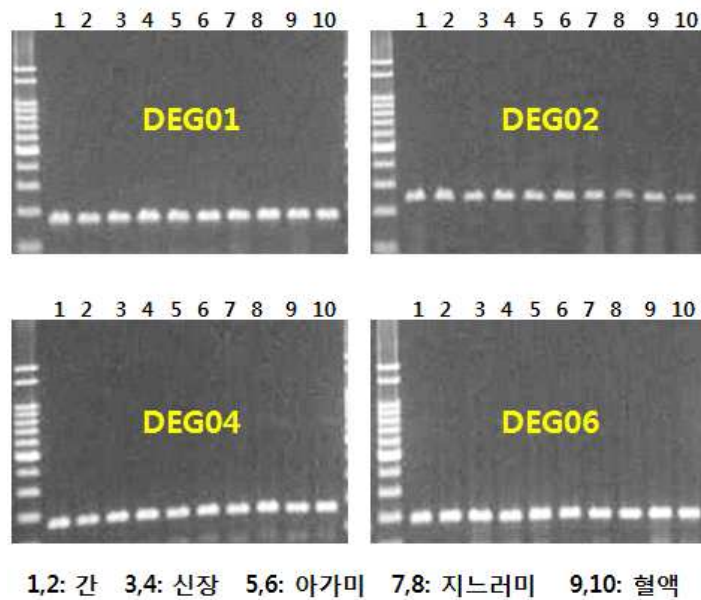


그림 12. 강도다리 생산성 관련 후보유전자의 조직특이성 분석.

5. CKM1(creatin kinase muscle type) 유전자의 발현 유도

강도다리 CKM1 유전자의 mRNA는 1,590 bp 이었으며, 1,074 bp 로 이루어진 한 개의 ORF가 있었다(그림 1). 참돔 CKM1 유전자 mRNA 크기는 1,511 bp이었으며, ORF의 크기는 1,146 bp 이었다(그림 2).

```

1  GGGGTGCCCTATTTTGGCTGTGGTGAACAGGATCTGATCCCAAGGACTGTTACCTTTTG
61  TTCTTGTCTGGTGTGCAGTGTAAAGAAAGCAATCATGCCTTTTCGGAAACACCCACAACAAC
    M P F G N T H N N
121 TTCAAGCTCAACTACAAGGTCGAGGAGGAGTTCCTCCGACCTGAGCCTCCACAACAACCAT
    F K I N V K V F F F F P D I S I H N N H
181 ATGGCCAAGGTTCTGACCAAGGAGCTGTATGGCAAGATTAGGGACAGGCAGACACCCAGT
    M A K V L T K E L Y G K I R D R Q T P S
241 GGCTACACTGTGGATGATGTTCATCCAGACTGGTGTGACAACCTGGTCAACCCCTTCATC
    G Y T V D D V I Q T G V D N P G H P F I
301 ATGACCGTTGGCTGCGTCGCTGGTGTGATGAGGAGTCCATGAGGTCTTCAAGGAGCTTCTG
    M T V G C V A G D F F S V F V F K F I I
361 GACCCCATCATCTCAGACCGTCATAATGGATAACAAGCCTACTGACAAGCACAAGACCGAC
    D P I I S D R H N G Y K P T D K H K T D
421 TTGAACTTCGAGAACCTGAAGGGTGGTGTGACGACCTGGACCCCAACTATGTTCTGTCCAGC
    L N F E N L K G G D D L D P N Y V L S S
481 CGTGTCCGTACTGGACGTAGCATCAAGGGATTCACCCCTGCCCCCCCACAACAGCCGTGGC
    R V R T G R S I K G F T L P P H N S R G
541 GAGCGCAGAGCTATTGAGAAGCTGTCTGTTGAGGCTCTGGCCAGCCTGGATGGTGTGAGTTC
    F R R A T F K I S V F A I A S I D G F F
601 AAGGAAAAGTACTACCCCTGAAGTCTATGACTGATGCCGAGCAGGAGCAGCTGATCAGT
    K G K Y Y P L K S M T D A E Q E Q L I S
661 GATCACTTCCGTTCGACAAGCCTGTCTCCCCCTGCTGACCTGTGTGGAATGGCCCGT
    D H F L F D K P V S P L L T C A G M A R
721 GACTGGCCTGATGCCAGGGGCATCTGGCACAATGAGAACAAGTCCCTTCCCTGGTCTGGGTC
    D W P D A R G T W H N F E N K S F I V W V
781 AATGAGGAGGATCACCTGCGTGTCTCCATGGAGCAGGGTGGCAACATGAGGGAGGTC
    N E E D H L R V I S M E O G G N M R E V
841 TTCAAGCGTTTCTGCGTGTGGCCTTAAAAGGATTGAGGAGATCTTCAAGAAGCACAACCAT
    F K R F C V G L K R I E E I F K K H N H
901 GGCTTCATGTGGAACGAGCATCTCGGGTACATCCTGACCTGCCCTCCAACCTGGGCACT
    G F M W N E H L G Y I L T C P S N L G T
961 GGACTGCGTGGTGGTGTCCATGTCAAGCTGCCAAAGCTGAGCACACATCCCAAGTTTGAT
    G I R G G V H V K I P K I S T H P K F D
1021 GAGATCTCACCAGGCTGCGTCTGCAGAAGCGTGGAACAGGTGGTGTGGACACAGCCTCTG
    E I S P G C V C R S V E Q V V W T Q P L
1081 TGGGTGGTGTGTTTCGACATCTCCAACGCTGACCGTCTGGGCTCCTCTGAGGTGGACCAGG
    W V V C S T S P T L T V W A P L R W T R
1141 TCCAGCTGGTGGTTGATGGTGTCAAAGTATGGTTGAGATGGAGAAGAAGCTGGAGAAGG
    S S W W L M V S N *
1201 GAGAGGCAGTCGACAGCATGATCCCTGCCCAGAAGTAGAGAGGAACAATCTCATCTTTTT
1261 CCGTGACCAATTCATTTATGTTCAACGGAGCCAGCTGATGGCTTTGCAGAGGAAACAGCTG
1321 CTCACCTAGAGACTCTTGACTCCGCTCACCTTTTTTCTCCATACAGCTTTTTCTTTCTTT
1381 CCCCCTCATCATTTTTTTTTTCAAGTCTCCTGTGTGGTTGGAAAAATCCCTGGGATCA
1441 CCCCCACGGGGCTGGGCTCCCCTAGCAAACGGGGCATCCCCAGTTTTTACAGCTAAAA
1501 ATAATGTTTATTGAAGGGGTTATATTACTCAAAAAAAGGGGCCCGGGAAACAACATAAA
1561 AAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA

```

그림 1. 강도다리 CKM1 유전자 ORF(open reading frame)의 염기서열 GenBank Accession No. GU062902.

1 TGTCTGCTGTGCAGTGTAGAAAGCAATCATGCCTTTCGGAACACCCACAACAACCTTC
M P F G N T H N N F
60 AAACCTCAACTACAAAGTTGAGGAGGAGTTCCCGACCTGTCCAAGCACAATAACCATATG
K L N Y K V E E E F P D L S K H N N H M
120 GCCAAGGTTCTGACCAAGGAAATTTATGGCAAATGAGGGACAAGCAGACACCCAGCGGC
A K V I T K F T V G K I R D K Q T P S G
180 TACACCCCTGGATGACGTCATCCAGACTGGTGTGGACAACCCTGGTCACCCCTCATCATG
Y T L D D V I Q T G V D N P G H P F I M
240 ACTGTTGGCTGCGTCTGCTGGTGTGAGGAGTCCACGAGGCTTCAAGGACCTGCTGGAC
T V G C V A G D E E S Y E V F K D L L D
300 CCCATCATCTCTGACCGTCATGGTGGATACAAGGCCACTGACAAGCACAAGACCCGACCTG
P I I S D R H G G V K A T D K H K T D L
360 AACTTCGAGAACCCTGAAGGGTGGTGTGACCTGGACCCCAACTACGTTCTGTCCAGCCGT
N F E N I K G G D D I D P N V V I S S R
420 GTCCGTAAGCGCAGCATCAAGGGATTACCCCTGcccccccACAACAGCCGTGGCGAG
V R T G R S I K G F T L P P H N S R G E
480 CGCAGAATCATTGAGAAGCTGTCCGTTGAGGCTCTGACCGACCTGTCTGGTGTGAGTTCAAG
R R I I E K L S V E A L T S L S G E F K
540 GGAAAGTACTATCCCTGAAGTCCATGACTGATGCCGAGCAGGAGCAGCTGATGAC
G K Y V P I K S M T D A E Q E Q I T N D
600 CACTTCCTGTTTGAAGCCTGTCTCTCCCTGCTGACCTGCGCTGGTATGGCCCGCGAC
H F L F D K P V S P L L T C A G M A R D
660 TGCCCGGATGCAAGAGGCATCTGGCACACGACACAAGACCTTCCCTGGTCTGGGTGAAC
W P D A R G I W H N D N K T F L V W V N
720 GAGGAGATCACCTGCGTGTCTCAATGCAGCTGGGCGGAAACATGAGGGAGGTCTTCT
F E D H I R V I S M Q I G G N M R E V F
780 AAGCGTTTCTGCACTGGCCTGAAGATGATTGAGGACATCTTCAAGAAGCACAACCCTGTC
K R F C T G L K M I E D I F K K H N H C
840 TTCATGTGGAACGAGCATCTCGGCTACGTCCTGACCTGCCCTCCAACCTGGGTACCGGC
F M W N E H L G Y V L T C P S N L G T G
900 CTGCGTGGTGGTGTCCAGTCAAGCTGCCCAAGCTGAGCACAACCCCAAAATCGAGGAG
L R G G V H V K L P K L S T H P K F E E
960 ATCCTCACCAGGCTGCGTCTGCAGAAGCGTGGCACAGGTGGTGTGGACACCGCTCCGTG
I L T R I R I Q K R G T G G V D T A S V
1021 GGTGGTGTGTTTCGACATCTCCAACGCTGACCGTCTGGGCTCCTCCGAGGTGGCCAGGTC
G G V F D I S N A D R L G S S E V A Q V
1081 CAGCTGGTGGTGGTGTCAAGCTCATGGTTGAGATGGAGAAGAAGCTGGAGAAGGGA
Q L V V D G V K L M V E M E K K L E K G
1141 GAGGCCATCGACAGCATGATCCCGCCAGAAAGTAAAGAGAGACAATCTTATGTTTTTCT
E A I D S M I P A Q K *
1201 TGTGACCATTATGTGCAATGGAGCCAGCTGACGGGCGGGCAGAGGAAACAGGCGCTCAC
1261 CTAGAGACTCTTGACTCTGCTCCCTCTACTTCTTCTTCCAGCTTGTTTTTTTTTCTTT
1321 TTTCCACCCCTTTTTTTTACGTCCTCAGTGTGGTGGGTAACATCCTGGGATCACCC
1381 TCCACTCAGCTGGGCTTGCCTGGCAAATGTGGCATCACCTACTTTTTGTTATAAAAAAGTA
1441 ATGATAATTGAAGCTTTCATACTGCTCAATAAAAAAACAGGGCCCTGGAAAAA
1501 AAAAAAAAAA

그림 2. 참돔 CKM1 유전자 cDNA와 ORF(open reading frame)의 염기서열
(GenBank Accession No. GU135652)

강도다리과 참돔 CKM1 유전자의 ORF 영역을 pYES2(Invitrogen Cat. no. V825-20) 벡터에 삽입하여 pYES2-P-CKM(6.97kb)과 pYES2-R-CKM(7.04kb) 벡터시스템을 각각 구축하였다(그림 3). pYES2(5.9kb), pYES2-P-CKM1(6.97kb), pYES2-R-CKM1(7.04kb) 으로 각각 형질전환된 *S. cerevisiae* INVSc 1을 배양하며 성장패턴을 조사한 결과(그림 4), 외래 유전자 삽입 없이 벡터만 도입된 yeast와 CKM1 유전자가 삽입된 벡터가 도입된 yeast 간에 성장패턴은 유사하였다. Yeast 세포가 CKM1 유전자 삽입으로 인

해 성장에 악영향은 받지 않았으며, 성장둔화가 일어나는 70시간 배양 후에는 CKM1으로 형질전환된 세포의 성장정도가 약간 적은 양상을 나타내었다. 이러한 이유는 에너지 항상성 유지에 필요한 주된 효소로 작용하는 creatine kinase의 역할에 기인하는 것으로 본다. 강도다리와 참돔의 CKM1 유전자로 형질전환 된 세포의 성장패턴도 큰 차이가 없었다.

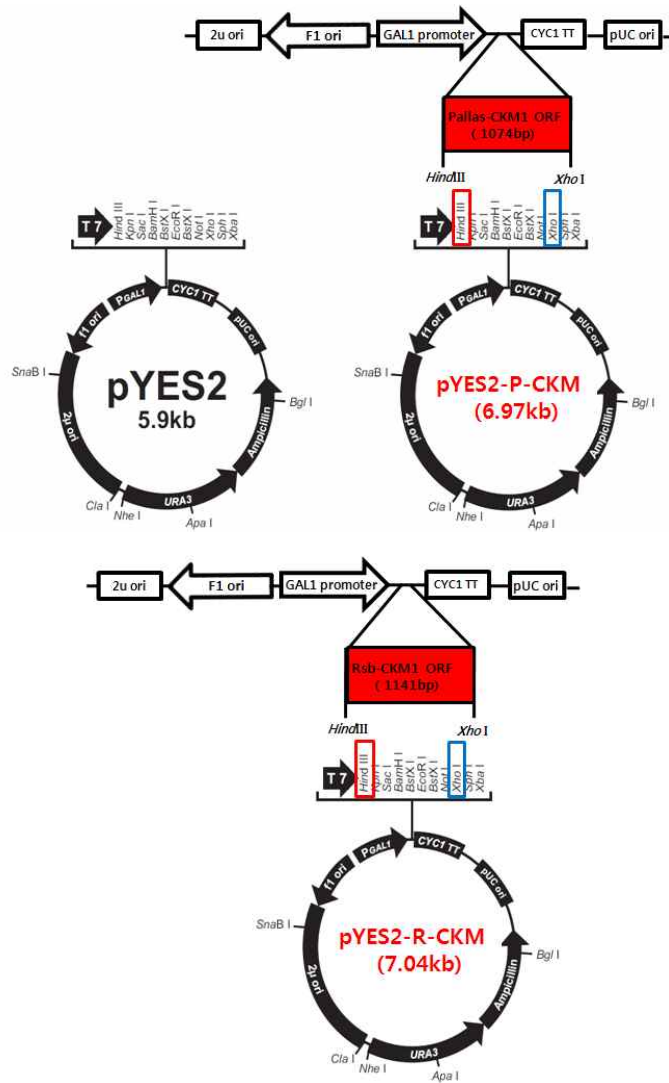


그림 3. 강도다리와 참돔 CKM1 유전자 ORF 영역 발현유도를 위한 벡터시스템

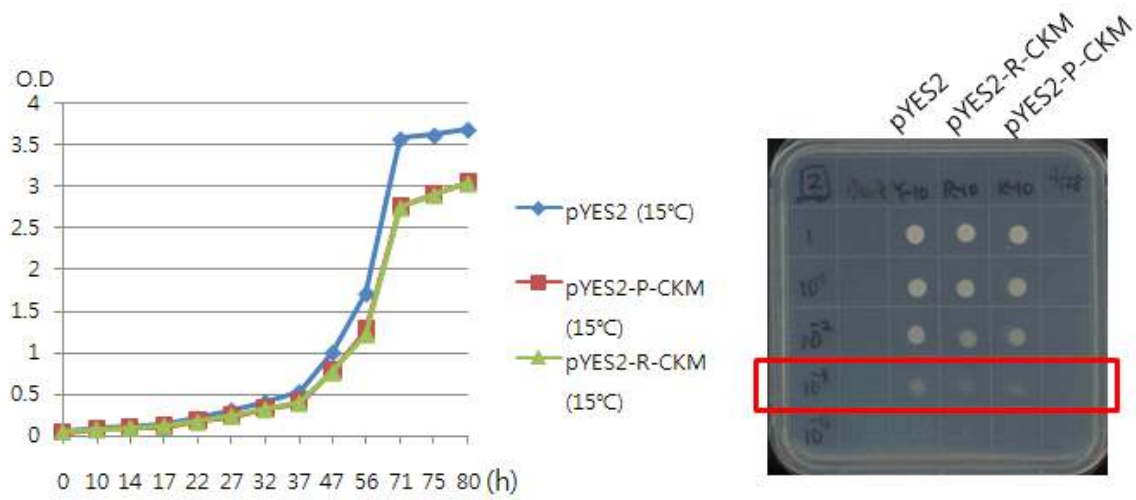


그림 4. 강도다리와 참돔 CKM1 유전자로 형질전환된 yeast 세포의 성장패턴

6. 강도다리 CKM1 유전자의 조절영역 확보와 변이 분석

강도다리 CKM1 유전자 전사조절 영역 약 1,1kb를 클로닝하여 염기서열을 분석한 결과(그림 5), 전사인자 TFII D의 결합부위인 TATA-box 배열과 전사활성인자인 Sp1의 결합부위인 GC box 배열이 존재하였다. 또한 근육 myocyte-specific nuclear factor인 E-box 배열[CAnnTG] 10개가 있었고, CAAT-box, CGTCA-motif, GARE-motif 등의 배열이 존재하였다.

1111
 E-box E-box
 AAGATTGTTATATTACACAAATGCACGTTCAAATGCTCGGTAAAGTTTTGACTCCAGTG
 -1051 E-box
 AAGAGCAAAGAGACGTCGCTCGAGGTTTGTGTTTTCTCTCCACTGTCGCCAAGTGCCG
 -991
 GCTCACTGTGGGATCTGTTGGGTTTCACTCTATAATATTGCAAAGCCCTGGCCTTAAATG
 -931 E-box
 CCTCGATATAATGCATGTTGTGATTTGGTGCTATAAATATAAAACTGTATCGAATCATT
 -871 E-box TEF-1
 GAGAGGAAAAAATTACAGAGACAGATGTGGATTTTCTCCACATTCTCTTGTCTCTC
 -811 E-box
 AAAACGGAGTCCGCATGTGAATATGCAGAATCTGTACGGAAGAGACACATTTTGATTTCT
 -751 E-box
 GTTTTTAGTTTGACGAATCACATTTGAGCAGGCTTTGGTCGGCAGCAGCTTAATAAGTTG
 -691
 TTTGGACCTAAACAAAAAGCATCAACGTTTATGTTTTGTGTGGAGAAACGTTCCACTCGT
 -631
 GTGACTAAAGAACTAAAGAAGTCTTGGCCTGGATATCTGCACACGGAGCCCCAAAATAT
 -571
 TCGCTTTTGCACCAAGTATCTAATTCTTTGACATAGTCGACATAAGGCTAGACGAAAAAA
 -511
 TAAATAAAATAGGAATGACTTATTTTGCATTGCTCCAATTAAGATTGCTCCAATTAACCT
 -451
 TCCAAACCATTTCAATTCGAATTGTTTCATCATTCCATACGGAGTTTGAATTTAAATC
 -391
 AGCTTCCTGAATTGTAATGGCTTAGACACTGCTTCTGACTATGTGAATGAAATCATTCTG
 -331 TGCAG-motif E-box Sp1
 AAATATGATCTTGACGGATGCCCACTTAGCAAGTGAACCCCAAACTACCCGCCCCATC
 -271 E-box E-box
 CACCATGCTAACCTCTGGACGCAAATAAGTGCCACATGTGCACCGACCAACTGGTGCTAT
 -211 E-box
 GTTTGGGCCAAGGGGGCCAGAGGGCGTCAGGGATACAGCTGCAGTACCCGTCTTGGAT
 -151
 GACCGAGACGTAATGTGACCCTTTCATAAGCTGTTTCAGAGTATCGTTGCAGAGGCTCTG
 -91 CAAT-box
 GCCAATGAGGGCTCAGCAGGCACTAAATGGCCTGACCAATGACAGAGCGTTTGCCAGCT
 -31 TATA-box +1
 ATATAAACTGGGAGCAGGGACCCCGAGATTTG

그림 5. 강도다리 CKM1 유전자 전사조절 영역 염기서열과 도메인 위치

강도다리 CKM1 프로모터 영역 내의 변이를 TATA-box 배열에서 가까운 방향부터 약 450bp 크기의 영역에서 근육 특이적인 enhancer인 E-box 배열을 중심으로 변이를 탐색한 결과, -181번 염기 A가 G로 치환되어 있음을 확인하였다 (그림 6(A)). 이 변이는 성장이 느렸던 small 그룹의 개체에서 확인되었으며, 염기 A가 G로 바뀐 개체는 제한효소 Hpy99I에 의해 절단되어 쉽게 검출할 수 있었다.

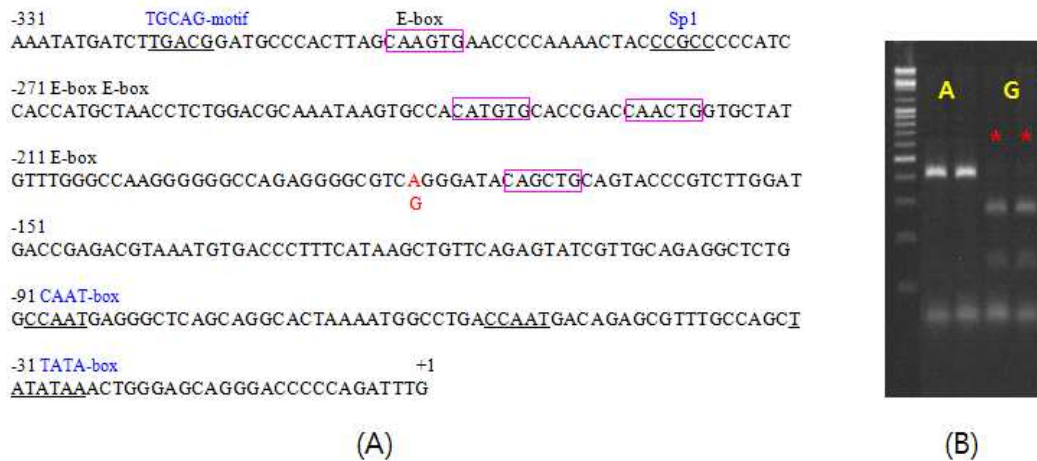


그림 6. 강도다리 CKM1 유전자 전사조절 영역 내 염기서열 변이(A)와 Hpy99I 절단 패턴(B)

7. CKM1 유전자 ORF 영역 내 변이 분석

강도다리 CKM1 유전자 ORF 영역 내 염기변이 탐색과정에서 6개 염기변이를 확인하였다. cDNA 염기서열을 기준으로 195번 염기(G→T), 500번 염기(G→T), 756번 염기(G→A), 926번 염기(G→T), 971번 염기(G→C), 1008번 염기(T→C)에 변이가 있었다 (그림 7A). 500번 염기, 926번 염기, 971번 염기의 변이는 아미노산 서열의 변화를 초래했으며, 특히 500번 염기 변이는 large 그룹에서만 확인되었다.

참돔 CKM1 유전자 ORF에서 1개의 염기변이를 발견했고, 개시코돈 메티오닌으로부터 75번째 염기 G가 A로 치환(transition mutation)되었다. 이 염기치환으로 인한 아미노산 서열상 변화는 없었다(그림 7B).

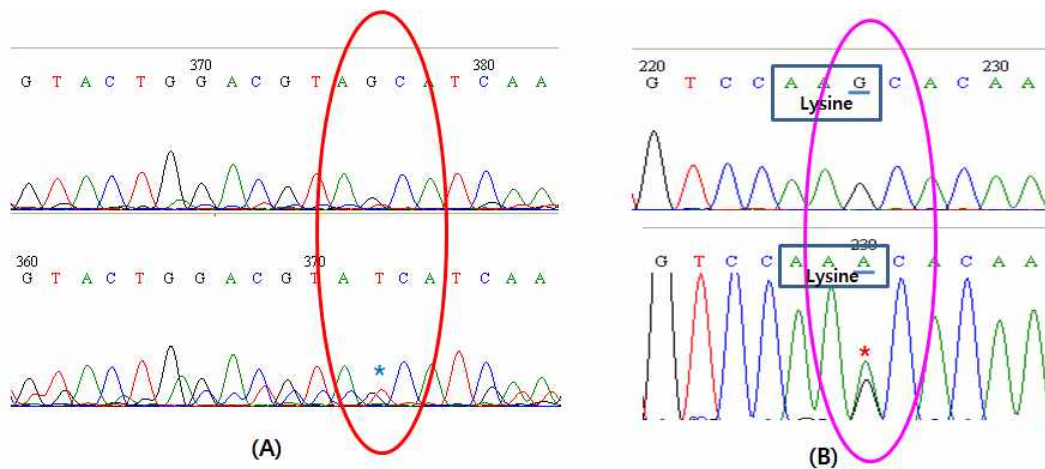


그림 7. 강도다리(A)와 참돔(B) CKM1 유전자 ORF 영역 내 염기변이

8. 참돔 CKM1 유전자 구조와 조절영역 내 변이 탐색

Creatine kinase 유전자를 참돔의 생산성 관련 마커 개발에 활용하기 위하여 전체 영역을 클로닝하고 구조를 분석하였다 (그림 8). 참돔 CKM1 유전자는 8개의 exon과 7개의 intron으로 구성되어 있었으며, 전체 크기는 3,928 bp이었다. 강도다리 CKM1 유전자와 전체적인 구조는 유사하였으나 exon과 intron 크기가 달랐으며, 약 80%의 상동성을 나타내었다. 표 1은 참돔 CKM1 유전자의 intron-exon junction을 나타낸 것으로 splice donor site와 acceptor site의 염기서열이 대체로 잘 보존되어 있었다.

표 1. 참돔 CKM1 전체 유전자의 intron-exon junctions

Splice donor sites				Splice acceptor sites				
Exon		Intron		Intron		Exon		
Consensus	A C	AG	GT	A G	AGT	C T	AG	G T
Exon no.	Size (nt)			Intron no.	Size (nt)			
1	63	TGCTGTGCAG	GTAAAGAAAGACGAT	1	1,344	TCCTCTCTTC	TGTTAGAAAG	
2	210	CAACCCTGGT	GAGACACTTAAATTC	2	122	GTGCCTTCAT	GTCACCCCTT	
3	153	GAACCTGAAG	GTACAGTAGAAAGGA	3	173	TGTGCATTAG	GGTGGTGATG	
4	132	GTCCGTTGAG	GGTAAGCTACTGACA	4	208	GTCTCTCCAG	GCTCTGACCA	
5	175	AGGCATCTGG	TAAATATGAGTAAAG	5	126	CTCCTCACAG	CACAACGACA	
6	123	CCTGAAGATG	GTACGTATTAACCA	6	89	CATCTGCCAG	ATTGAGGACA	
7	192	TGGCACAGGT	ACAAATGTATTCCCC	7	327	CTCTTCAGGT	GGTGTGGACA	
8	178							

1 TTGGCTGTGGTGAACAGGATCTGATCCCTAGGACTGTTACCTCTGTTCTTGTCTGCTGTG
61 CAGataaaaaaaccaatattatatacaaaatttaataaacacacaaaaatatttaaaaa
121 cttatataaaatttaaaaaactatacaaaacttttaaaataacaaaaatctttttaactact
181 ttttattctacaataaaaaatttttaaccccaaatctataataaaaattaaaaataaata
241 cacaactatcttcaaatatttaaatccaataatcattcttcaacaaaaaacctac
301 taatttttacaattactaaattttatcaataaaataaaataattataaaaaataataca
361 taaacataatatttaaacataaacataactacattactattacattaactcatactctc
421 tataaatttatactatacaaatatctctctcatatacaacataatttatataaacaata
481 cctcacaacacataatataaaaaactacctaadaacccctacataatcaataatttaattt
541 taaccattttaaaattacacttttaaaataactttttcaactttaaactaacacacaaac
601 tattcttaacaaaatcattactacatcaaaatattttattacataaaactaatataacata
661 ttacaaaaatactatactacaccatacaaatcacatttcatataatatacaaatcactc
721 attacaaacatcaatcttctataaatcattatcaacctatcaaaacacaaataaaaaaa
781 ataactcaaaataacataatacctataaacattaaaaataaataatatttaaatcattc
841 aataaaataaacataaaaaaacatactacaactcataacttctatcaaaaattcaacata
901 atcataactttaaatatttaaaataatacaaatatacaatacaaaaaactacaactttttt
961 ttaaacacaaacatctctatcaaacataaacacactaacactccttcatatcattcatatc
1021 aacatataaaactaaaaaacctaaacttatataatatacaaaacaaattaaaaataactactc
1081 atatactaaaaatattttatataaaatacacaactcaaatataactaactaaaaataccca
1141 accaacacacactctccccctactctattttcaacttaacataatccatcaaaaatta
1201 aatatacacttattcccacaaattcttctatcaacaccatttaactctacaactatcttac
1261 aaaaatcccataatctcaaaatactaaaaataattttataaacattcataatcaccttcaca
1321 caaatatcaaatcaaaataaacactctttataatcatacctaacctctatttcaatttac
1381 tcatcctattttatctctctctccacaatGTTAGAAAGCAATCATGCCTTTTCGGAAACACC
M P F G N T
1441 CACAACAACCTTCAAACCAACTACAAAGTTGAGGAGGAGTCCCGACCTGTCCAAGCAC
H N N F K P N Y K V E E E F P D L S K H
1501 AATAACCATATGGCCAAGGTTCTGACCAAGGAAATTTATGGCAAATTGAGGGACAGGCAG
N N H M A K V L T K E I Y G K L R D R Q
1561 ACACCCAGTGGCTACACCTGGATGACGTCATCCAGACTGGTGTGGACAACCTGGTgag
T P S G Y T L D D V I Q T G V D N P G
1621 aactttaaaattcaacacaaaaaaatcttttttaaaaaatcataaaatcatccaatctacta
1681 aatcaaaataaacactacatcttcccactcctactttcctattttctctataccttcatatc
1741 ACCCCTTCATCATGACTGTTGGCTGCGTCGCTGGTGTGATGAGGAGTCCCTACGAGGCTTCA
H P F T M T V G C V A G D E F S Y F V F
1801 AGGACCTGCTGGACCCCATCATCTCTGACCGTCATGGTGGATACAAGGCCACTGACAAGC
K D I I D P T I S D R H G G V K A T D K
1861 ACAAGACCGACCTGAACTTCGAGAACCTGAAGgtacagtagaaaggaatgtggagaaata
H K T D I N F E N I K
1921 tcacaaacacacataaacacaaaatataaaactatcaaatattaaacaaacacacacta
1981 aataaaataaaaaattatcaaatcataatacacaataccttccatttataatctctattta
2041 attttataataacttttatcattaaggTGGTGTGATGACCTGGACCCCAACTACGTTCTGT
G G D D I D P N V V I S
2101 CAGCCGTGTCCGTACTGGCCGAGCATCAAGGGATTACCCCTGCCCCCCACAACAGCCG
S R V R T G R S T K G F T I P P H N S R
2161 TGGCGAGCGCAGAATCATTGAGAAGCTGTCCGTTGAGaataagctactgacagtttaaaa
G F R R T T E K I S V F
2221 acataaaacacacaaatatttaaaataaacctaaacctttcccaacacataaattattca
2281 caaacacataaaaaatttaaaatttaaaataaaataaaataaaacccaacacacaa
2341 acacactcttaaaatctatactattacacacacacacacacacacacacacacacacac
2401 tccaaGCTCTGACCAGCCTGTCTGGTGTGAGTTCAAGGGAAAGTACTATCCCCTGAAGTCCA
A I T S I S G F F K G K Y V P I K S
2461 TGA CTGATGCCGAGCAGGAGCAGCTGATCAATGACCACTTCCTGTTTGACAAGCCTGTCT
M T D A E Q E Q L I N D H F L F D K P V
2521 CTCCCCTGCTGACCTGCGCTGGTATGGCCCGACTGGCCCGATGCAAGAGGCATCTGG
S P I I T C A G M A R D W P D A R G T W
2581 taaatattgagtaagattgtcagctgtgacaacacttttgaaaactctctccatgaattg

그림 8. 참돔 CKM1 전체 유전자 염기서열 (GenBank Accession No. HQ386731)

(계속)

```
2641 acactttcatttatattttctacatcacctatatcttttaattaatcatttacattcatctcc
2701 tcacaaCACAACGACAACAAGACCTTCTGGTCTGGGTGAACGAGGAGGATCACCTGCGT
      H N D N K T F L V W V N E E D H L R
2761 GTCATCTCAATGCAGCTGGGCGGAAACATGAGGGAGGTCTTCAAGCGTTTCTGCACTGGC
      V T S M Q I G G N M R F V F K R F C T G
2821 CTGAAGATGgtacgtattaaacctgatctcactgagtgaagcagtttgattgtctcc
      l k m
2881 aadatcccctctaactctccctttttctcatctaccaATTGAGGACATCTTCAAGAAGC
      I E D I F K K
2941 ACAACCACTGCTTCATGTGGAACGAGCATCTCGGCTACGTCCTGACCTGCCCCCCAACC
      H N H C F M W N F H I G V V I T C P S N
3001 TGGGTACCGCCTGCGTGGTGGTGTCCACGTCAAGCTGCCAAAGCTGAGCACACCCCA
      L G T G L R G G V H V K L P K L S T H P
3061 AATTTGAGGAGATCCTCACCAGGCTGCGTCTGCAGAAGCGTGGCACAGGTacaaatgtat
      K F F F T I T R I R I Q K R G T G
3121 tccccatttaacttaaaacccaataaataatttaaaaaataaccaccccccttcttaa
3181 cctgtccccctctccatcccctagtagcggagggtgcatgggcagttgtttaattgaac

3241 aaattaatctttacaacctaactcattattcatttatctactaaataaataactata
3301 aactaaaattaaattaaaattaaaaatcaaaaaaccacaaactatatacacttatada
3361 tcaaaactaaaatccattaaaatctccacaaaacttaatctatcaactcaectctctc
3421 ctttatacctcttcaaatGGTGTGGACACCGCTCCGTGGGTGGTGTGTTGACATCTCCA
      G V D T A S V G G V F D I S
3481 ACGCTGACCGTCTGGGCTCCTCCGAGGTGGCCAGGTCCAGCTGGTGGTTGATGGTGTCA
      N A D R I G S S F V A Q V Q I V V D G V
3541 AGCTCATGGTTGAGATGGAGAAGAAGCTGGAGAAGGGAGAGGCCATCGACAGCATGATCC
      K I M V F M F K K I F K G F A T D S M T
3601 CCGCCCAGAAGTAAAGAGAGACAATCTTATGTTTTTCTCGTGACCATTTCATGTGCAATGG
      P A Q K *
3661 AGCCAGCTGACGGCGGGCAGAGGAAACAGGCGCTCACCTAGAGACTCTTGACTCTGCTC
3721 CCCTCTACTTCTTCTTCCAGCTTGTTTTTTTTCTTTTTTCCACCCCTTTTTTTTTCACG
3781 TCCTCCAGTGTGGTTGGTAACATCCTGGGATCACCTCCACTCAGCTGGGCTTGCCCTGG
3841 CAAATGTGGCATCACCTACTTTTTGTTATAAAAAGTAATGATAATTGAAGCTGTTTCATAC
3901 TGCTCAATAAAAAAACAGGGCCCCCTGG
```

그림 8. 참돔 CKM1 전체 유전자 염기서열 (GenBank Accession No. HQ386731).

참돔 CKM 1 유전자의 조절영역 약 1.18kb를 클로닝한 후, 근육 관련 유전자의 전사를 조절하는 도메인과 binding site를 조사하였다. 근육조직 특이적으로 발현을 돕는 enhancer인 E-box가 8개 존재했으며, 강도다리 CKM1 조절영역과 비교한 결과 (그림 9), TATA box 배열과 가까운 방향으로 약 300 bp 크기가 85%의 상동성을 나타내었다. 2개의 E-box가 잘 보존되어 있었으며 참돔 CKM1 조절영역 내 6번째 E-box의 염기 G가 A로 바뀐 염기변이를 확인하였고, 제한효소 PvuII 절단패턴으로 검출이 가능하였다(그림 10B). 이 변이는 염기서열 변화로(그림 10B의 type B에 해당) 6번째 E-box가 enhancer로의 기능은 없을 것으로 판단되며, 조절영역 내 존재하는 E-box 수의 변화를 초래하였다. 본 연구에서 확보한 CKM1 유전자 조절영역에서 제한효소 분석으로 3개의 염기변이를 확인하였다(그림 10).

-1187	
Rsb	AAAACAAGTCTCCATCTACTTCAGTTGTTTAGGAGAATGCTGCCACGCTGTTTCGCCGTGAAGCCCAGAAATGTTTTGTGGACTACGAAACTTCACCTG
Pal	---.AG.T.G.TT..A.TACA..AA..CACGTTCA.....-GGTAAA...T.A.TCC.GTGAAG..C..A.AGAC..C.CTCGA.GTTTG.TGTT.T
-1087	
Rsb	ACTTTCCATCAGCATGAGGTTGAGGAGATAGTGACAGAATTTTCATTTTCGGGTGAACTCTTCCTTTAACAAAAGAAGATAAAAAGAAGAAAACAATAAC
Pal	C..C...CTGT.GCC.-----...C.G.---C...C.G.G..A.CTGT.GG--G...C..TCT.T..T..TGC..AGCCCTGG.CT...A
-987	
Rsb	AACTAAGATTTAGTTGTTGTCTTGTGCCTGTCTGTACTTGGGTCACAGATTGGCACTTACATTGAGGCCTTGATAAATAGTGCAGGCTTCATGAAATAC
Pal	TG.CTC...A..A.GCA...TG..-ATT..GTG..A..AA.ATAAA..T.TA.C.-.A.C.T-....AGGAAA..A..TACAG..A.A----.TG.GG
-887	
Rsb	ATTTTTTTATCTGTTCTTCTGGACAAAACCTGTTGAAGCATTACATTAAGCAGCTGCGGAGCATATGCATTAGTAAAATAGTGTGAGACAC-TTGAGAG
PalC.CCCACA...C...T.TTCTCT.AAAACG..GT.CGC.TG.G..TA---...A..ATC.G.A.GGA..A..C.C.T.T...TTTCTG..TTT..
-788	
Rsb	AATAGAGTATCAAAGAAGGGAGGCTAATGAAGTTAATGTCAAAGACGGCATCATCTTTCATCCTCAACGTTCCATCTGACAGTCAGTATTCCCATCTAA
Pal	TT.GAC.A...C.TTT.A.CA....-----..G--...GGCAG..A..T.A..AAG.TG.TTGG.C.-----TAA...AAA..C..CAA.G.T..T
-688	
Rsb	GATTTCGATGTCTGATAAATGGGGTATCAATTAGAGCCGGACTGAGTCATGGCTGGTTTGAGGTAGCCATGTGAGTTGGGACAACATAGAGTGGGTGAAC
Pal	.T..T.-...G-.G..AC.TTCC.CTCG.--.T.A.TA.AGA.ACT.AA.AA.TC...GCC.G.AT..C..CACAC..AG.CC..A.ATA.TC.CTTTT
-588	
Rsb	ATAGCAACAGTATCACTACAACCTAATGCTACCTATTACGAGCACCACAAAATGAAAATTTAATCTTCTCAAAATCTCTTTGAGTCTGTGTTAGAGAG
Pal	GC.C...GTA.C.A.T.-.TTTGAC..AG.CGAC..AAG..TAG..G.A....A..T.AAA..GGAA.GA.TT.T.T.GCA.TGC..CAAT.A...TT.
-488	
Rsb	GTGTGGCTTCACTCTATGGAATTTTTGATGGACCGGCATCCAAAATGCTTCTCTGGACTGAATTTCTACAAGGTGCCATTTAATGAGTGAAAAGAATC
Pal	C.CCAAT.AA.CT..C.---.CCA...C.ATTC.AATTG.T..TC..--.CA..CAT..G..G..GA.TTAAAT.AGC..CC...A.TGT..TGGCT
-388	
Rsb	CGAACTCT--TTCCAACCTTTTACACCACTCAAG--GACCCGTAATCTCCACAG--CATTCTGGCAAAAGTAAAGCTCAGCTTTTTTCTGTGCTTC
Pal	TAG..A..GC...TG..A.G.G.ATGA.A..TTCT..AATA.G...TG..G.ATG.CCA...A...--...G..C.C..AAAC.ACC.----.CC.
-295	
Rsb	AACTCCCTCCCCAAACACCATCCCTCACACACCCCACTGTCTCCACCATCCAACTGGCGCTATCTATGGCCAAAGGTGGGGTGGGGTGGTGGCG
Pal	C.--T..A..ATG.T...CT.TGGA.G..A.T.AGTG.CACA.G.G.-...GA. E-boxT.....G.T.....-...CCA.A.----....
-195	
Rsb	GCAGTGGTACAGCTGCAATACCCGCTCTGGATGGCTGAGATGTAATGTGTCTTTTACAACTGTTTCATAGTATCAGCACAGAGGA-CTGGCCAATGA
Pal	T...G.A. E-boxG.....A.C....C.....A.C.....T..G.....G.....GTTG.....CT.....
-96	
Rsb	GAGCGCAGCAGGAACATAAATGGCCAAGCCAATGGC-GAGCGTCTGCCTGGTATATAAACGGGAGCAAAGACCTCCAGAGTTGGGTGACCCCTATT
Pal	.G..T.....C.....TGA.....A.A.....T.....A.C.....T.....GG....C....T...-----

그림 9. 참돔과 강도다리 CKM 1 유전자의 전사 조절영역 비교

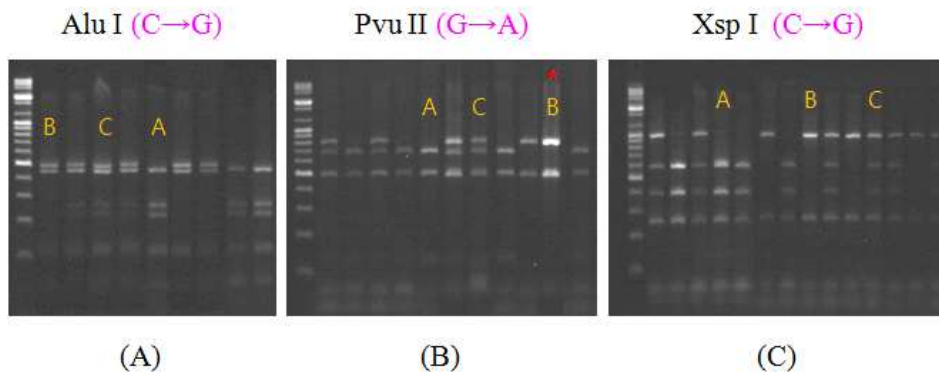


그림 10. 참돔 CKM1 유전자 전사 조절영역 내 염기변이
(A) Alu I 절단패턴, (B) Pvu II 절단패턴, (C) Xsp I 절단패턴

9. 유용 유전자 보유 집단 확보

사육조건과 연령이 동일한 참돔집단에서 성장지표에 따라 2개의 그룹(Large, Small)을 선발하였다. 참돔 CKM1 유전자의 ORF에서 확인한 염기변이를 활용하여 4개 exon과 3개의 intron을 포함한 영역을 Dde I, Sca I, Xsp I 제한효소로 절단해서 얻어진 대립유전자형(AA, AB, AA)을 나타내는 개체를 친어로 확보하였다(그림 11).

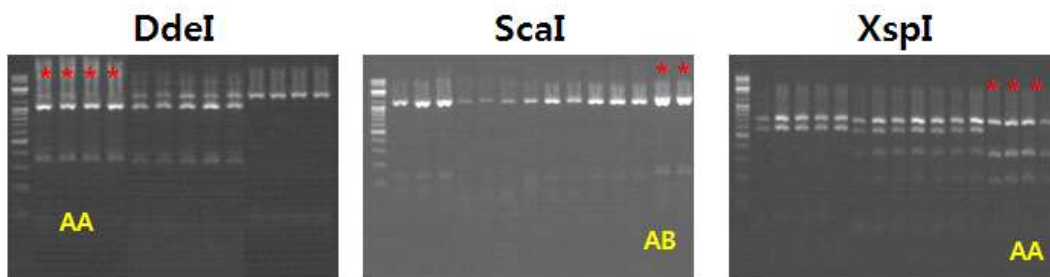
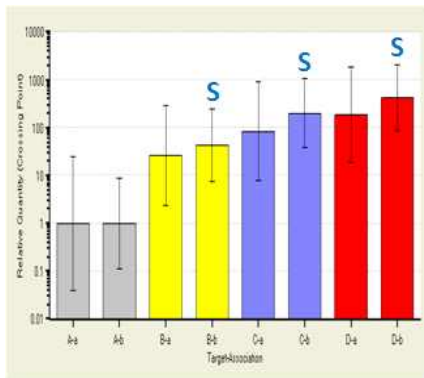


그림 11. 참돔 집단 선발에 활용한 CKM1 유전자의 제한효소 절단에 의한 대립유전자형

성장지표와 CKM1 유전자 ORF 영역의 염기변이를 활용하여 선발한 친어집단은 CKM1 유전자의 발현량 차이를 분석한 결과(그림 12), 비선발 대조구 근육조직에서 보다 발현량이 많았다.

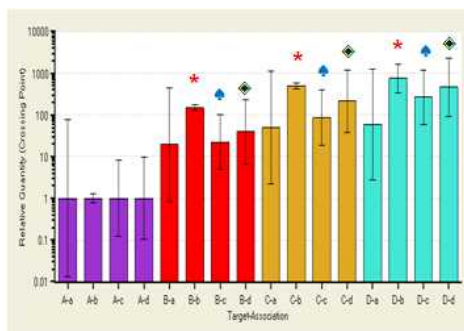


Target	Gene name	Association	Sample name
A	Actin	a	N S (non selected)
B	CKM1-750F		
C	CKM1-984F	b	S (selected)
D	CKM1-1239F		

그림 12. 유용 유전자 보유 친어로 선발한 참돔 근육조직의 CKM1 유전자 발현양상

10. 자손의 생산성 능력 검정과 유전자 표지 적용기술의 표준화

참돔의 성장지표를 파악하고 CKM1 유전자 변이 및 발현량에 기초하여 확보한 친어로부터 생산된 자손의 능력을 검정한 후, 어류의 생산성 관련 유전자 표지를 개발하기 위하여 자손의 CKM1 유전자 발현양상을 조사하였다 (그림 13). 유용 유전자 보유 친어를 교배하여 생산된 자손 그룹의 근육 조직에서도 CKM1 유전자의 발현량이 대조구의 근육조직에서 보다 많았다. 이와 같은 결과를 근거로 CKM1 유전자를 활용하여 유용 유전자를 보유하고 생산성이 높은 친어 확보에 적용 가능한 유전자 표지를 개발 중에 있다. 또한 개발된 유전자 표지를 DNA 수준에서 정확하고 쉽게 이용할 수 있도록 분석방법을 표준화하고 있다.



Target	Gene name	Association	Gene name
A	Actin	a	N S (non selected)
B	CKM1-750F	b	*S(F1)-1
C	CKM1-984F	c	◆S(F1)-2
D	CKM1-1239F	d	◆S(F1)-3

그림 13. 유용 유전자 보유 친어 자손의 능력 검정을 위한 CKM1 유전자 발현양상

III. 생산성 관련 유전자 표지 확보관련 유용 유전자의 기능 분석

1. 생산성관련 유용유전자 bank 구축

1단계 연구에서 확보한 성장관련 후보유전자 중 에너지대사와 근육대사 관련 유전자를 선별하여 유전자 정보를 확보하였다. 에너지대사 관련 유전자 정보는 강도다리의 phosphoglucose isomerase (PGI)와 inosine monophosphate dehydrogenase 2 (IMPDH2) 를 확보하였다. PGI는 glycolysis의 2번째 단계와 gluco-genesis 반응에 작용하는 효소로, poly (A)⁺ tail을 포함한 911 bp 크기의 mRNA를 클로닝하여 염기서열을 분석한 결과 (그림 1), 넙치의 PGI mRNA와 93%의 상동성을 나타내었다. IMPDH2는 가수분해 반응에 관여하는 효소이며, poly (A)⁺ tail을 포함한 505 bp 크기의 mRNA를 클로닝하여 (그림 2), 상동성을 검색한 결과, 연어 IMPDH2 mRNA와 72%가 유사하였다. 근육대사 관련 유전자는 parvalbumin (PVALB)을 선정하였으며, 칼슘 결합 단백질인 PVALB은 근육의 수축반응을 조절하는 것으로 알려졌다. 강도다리, 넙치, 참돔, 감성돔, 병에돔, 돌돔, 볼락, 조피볼락, 고등어, 전갱이 PVALB mRNA를 클로닝하고 염기서열을 분석하였다 (그림 3). 어류의 PVALB은 110개의 아미노산으로 이루어진 크기가 비교적 작은 단백질이었으며, ORF 영역을 포함하여 445 bp 크기의 mRNA 정보를 확보하였다. 10개 어종의 PVALB mRNA는 대체로 잘 보존되어 있었으며 어종간 염기차이를 나타내는 8개의 염기가 존재했다 (그림 4).

```
1 AGAATGGAGT CCATGGAAAA TACATCACTA ACAAGGGAGC ACGTGTCAAC TACCACACTG
61 GGCCAATAGT GTGGGGCGAG CCAGGAACCA ATGGGCAGCA TGC GTTCTAC CAACTCATCC
121 ACCAAGGAAC ACGTATGGTG CCCTCTGACT TCCTGATCCC TGCTCAGTCC CAGCATCCCA
181 TCAGAGACAA CCTGCACCAC AAGATCTTGC TGGGCAACTT CCTGGCCAG ACCGAGGCC
241 TGATGAAGGG TAAGACCACA GAGGAGGCCA GGAAGGAGCT GGAGGCCAGC GCGTGACAG
301 GAGATGAGCT GGAAAAGATC CTCCTCATA AAGTCTTCCA GGGAAACAGG CCAACCACCT
361 CAATCATCTT CAAGAAAGTG ACACCTTACA CACTTGGAGC ACTTATAGCG ATGTATGAAC
421 ACAAGATCTT CATCCAGGGT CTGATGTGGG AGATCAACAG TTTCGACCAG TGGGGAGTGG
481 AACTGGGCAA ACAGCTCGCA AAGAAGATCG AGCCCGAGCT CAAGGACAAG GCAGAGGTCC
541 ACTCCACGA CTCCTCCACC AACGGACTCA TCAACTTCCT CAAGAAGAAC TTTTCCTGAG
601 CTGAGTCACA GTCTCCCCC CCCCCCGGA ACTCCCCTTA AAGGGCAAAA ATTTAACCCC
661 CCCCAGGAGC TGCTGCTTGA CCAGGAAACT CCAAGAGGGG GCGGGTTNNT CCAACACGGG
721 GAAGTGGCCC CCCCTTTTGG GAATTCGGGA CGGCCCCAG GGAGTTTTTT GGGTTTTGTT
781 CANNATTTTA CCCTTAGAGG GAAAACTTT TTTTATAAAA GGGCGGGGAA GGCACATAGA
841 AAAATGCCCT CCCCTTCCA AAAAAATTAG TTTTTTGAAA AAAATTTTTC CCACAAAAA
901 AAAAAAAAAA A
```

그림 1. 강도다리 phosphoglucose isomerase cDNA의 염기서열
(GenBank accession. JN581984)

```

1 GTTCAGAGCC TCAACAGCTC AGAGCCATGA TGTACTCAGG AGATCTGAAA TTTGAAAGGA
61 GAACATCATC AGCTCAGATG GAGGGTGGAG TCCACAGCAT GCACAGCTAC GAGAAGCGTC
121 TGTTTTGAGG ACGTTTAGCC AAAAGATGAG GAATCCTTCC AAAAGACATT ATGCAATCAC
181 ACTACTTGCC AGACCCCTCTC GTTTCATACT CTACACATGC AGACTAACTT TTCATACAAA
241 TCGGTCTCTA AAGATCAGTT GTCACACACA CACTCTTCCA AGGATCATCG GTCTTCCTGC
301 CAGTGCCATC TATGCATCGT CTGTGTTTTT ATCCGTTTGT GTGTGAAGGA GGGTACTAAG
361 CATTCTATG TATTTATCAG TACATGTGTG ATTGAATCCT CCAATGCCTT CGTGTCTCCA
421 GTTTACTGCT GTGATCATTG TAAGGCAAAA AAGTTGTCCA ATAATAATAA AGCTCTTGT
481 TTTTCCACAA AAAAAAAAAA AAAAA

```

그림 2. 강도다리 inosine monophosphate dehydrogenase 2 cDNA의 염기서열

```

1. 강도다리 parvalbumin mRNA (445bp) (GenBank accession JN571754 )
1 ATGGCCTTCG CTGTTTCCT CAGTGATACT GATATCAAAG CCGCCCTGGC TGGCTGCTCT
61 GCTGCTGACT CCTTCAGCTA CAAGACCTTC TTCAAGGCAT GCGGCCTGGC CAGCAAGTCC
121 GCCGATGAGT TGAAAAAGGC CTTCCGCCATC ATTGACCAGG ACAACAGCGC CTACATTGAG
181 GAGGAGGAGC TCAAAGTGT CCTGCAGAAC TTCGCTGCCG GAGCCAGAGC TCTCACCGAC
241 AAGGAGACCA AGGCTTTTCT CGCCGCTGGA GACAGCGATG GTGATGGCAA GATTGGAGTC
301 GATGAGTTCA CTGCACTTGT AAAGGCATAA ATTTCCACTG ACCAAGATCC ACTTCTTTTC
361 ATGGAACGGA GAGCTCCTTG CAAGATTCCG TAACCACCAG CTGAAAGAAT ATTTTTTTAT
421 ATCTTATTTA TGAGTTGCCT GCGGA

2. 넙치 parvalbumin mRNA (445bp) (GenBank accession. JN571755 )
1 ATGGCCTTCG CTGTTTCCT CAGTGATACT GATATCAAAG CCGCCCTGGC TGGCTGCTCT
61 GCTGCTGACT CCTTCAGCTA CAAGACCTTC TTCAAGGCAT GCGGCCTGGC CAGCAAGTCC
121 GCCGATGAGT TGAAAAAGGC CTTCCGCCATC ATTGACCAGG ACAACAGCGC CTACATTGAG
181 GAGGAGGAGC TCAAAGTGT CCTGCAGAAC TTCGCTGCTG GAGCCAGAGC TCTCACCGAC
241 AAGGAGACCA AGGCTTTTCT CGCCGCTGGA GACAGCGATG GTGATGGCAA GATTGGAGTC
301 GATGAGTTCA CTGCACTTGT AAAGGCATAA ATTTCCACTG ACCAAGATCC ACTTCTTTTC
361 ATGGAACGGA GAGCTCCTTG CAAGATTCCG TAACCACCAG CTGAAAGAAT ATTTTTTTAT
421 ATCTTATTTA TGAGTTGCCT GCGGA

```

그림 3. 어종별 parvalbumin mRNA의 염기서열(아래 계속)

3. 참돔 parvalbumin mRNA (445bp) (GenBank accession. JN571756)

```

1 ATGGCCTTCG CTGTTTCCT CAGTGATACT GATATCAAAG CCGCCCTGGC TGGCTGCTCT
61 GCTGCGGACT CCTTCAGCTA CAAGACCTTC TTCAAGGCAT GCGGCCTGGC CAGCAAGTCC
121 GCCGATGAGT TGAAAAGGC CTTCCGCATC ATTGACCAGG ACAACAGCGC CTACATTGAG
181 GGGGAGGAGC TCAAAGTGT CCTGCAGAAC TTCGCTGCTG GAGCCAGAGC TCTCACCGAC
241 AAGGAGACCA AGGCTTTCCT CGCCGCTGGA GACAGCGATG GTGATGGCAA GATTGGAGTC
301 GATGAGTTCA CTGCACTTGT AAAGGCATAA ATTTCCACTG ACCAAGATCC ACTTCTTTTC
361 ATGGAACGGA GAGCTCCTTG CAAGATTCCG TAACCACCAG CTGAAAGAAT ATTTTTTTAT
421 ATCTTATTTA TGAGTTGCCT GCGGA

```

4. 감성돔 parvalbumin mRNA (445bp) (GenBank accession. JN571757)

```

1 ATGGCCTTCG CTGTTTCCT CAGTGATACT GATATCAAAG CCGCCCTGGC TGGCTGCTCT
61 GCTGCTGACT CCTTCAGCTA CAAGACCTTC TTCAAGGCAT GCGGCCTGGC CAGCAAGTCC
121 GCCGATGAGT TGAAAAGGC CTTCCGCATC ATTGACCAGG ACAACAGCGC CTACATTGAG
181 GAGGAGGAGC TCAAAGTGT CCTGCAGAAC TTCGCTGCTG GAGCCAGAGC TCTCACCGAC
241 AAGGAGACCA AGGCTTTCCT CGCCGCTGGA GACAGCGATG GTGATGGCAA GATTGGAGTC
301 GATGAGTTCA CTGCACTTGT AAAGGCATAA ATTTCCACTG ACCAAGATCC ACTTCTTTTC
361 ATGGAACGGG GAGCTCCTTG CAAGATTCCG TAACCACCAG CTGAGAGAAT ATTTTTTTAT
421 ATCTTATTTA TGAGTTGCCT GCGGA

```

5. 벵에돔 parvalbumin mRNA (445bp) (GenBank accession. JN571758)

```

1 ATGGCCTTCG CTGTTTCCT CAGTGATACT GATATCAAAG CCGCCCTGGC TGGCTGCTCT
61 GCTGCTGACT CCTTCAGCTA CAAGACCTTC TTCAAGGCAT GCGGCCTGGC CAGCAAGTCC
121 GCCGATGAGT TGAAAAGGC CTTCCGCATC ATTGACCAGG ACAACAGCGC CTACATTGAG
181 GAGGAGGAGC TCAAAGTGT CCTGCAGAAC TTCGCTGCTG GAGCCAGAGC TCTCACCGAC
241 AAGGAGACCA AGGCTTTCCT CGCCGCTGGA GACAGCGATG GTGATGGCAA GATTGGAGTC
301 GATGAGTTCA CTGCACTTGT AAAGGCATAA ATTTCCACTG ACCAAGATCC ACTTCTTTTC
361 ATGGAACGGA GAGCTCCTTG CAAGATTCCG TAACCACCAG CTGAAAGAAT ATTTTTTTAT
421 ATCTTATTTA TGAGTTGCCT GCGGA

```

6. 들돔 parvalbumin mRNA (445bp) (GenBank accession. JN571759)

```

1 ATGGCCTTCG CTGTTTCCT CAGTGATACT GATATCAAAG CCGCCCTGGC TGGCTGCTCT
61 GCTGCTGACT CCTTCAGCTA CAAGACCTTC TTCAAGGCAT GCGGCCTGGC CAGCAAGTCC
121 GCCGATGAGT TGAAAAGGC CTTCCGCATC ATTGACCAGG ACAACAGCGC CTACATTGAG
181 GAGGAGGAGC TCAAAGTGT CCTGCAGAAC TTCGCTGCTG GAGCCAGAGC TCTCACCGAC
241 AAGGAGACCA AGGCTTTCCT CGCCGCTGGA GACAGCGATG GTGATGGCAA GATTGGAGTC
301 GATGAGTTCA CTGCACTTGT AAAGGCATAA ATTTCCACTG ACCAAGATCC ACTTCTTTTC
361 ATGGAACGGA GAGCTCCTTG CAAGATTCCG TAACCACCAG CTGAAAGAAT ATTTTTTTAT
421 ATCTTATTTA TGAGTTGCCT GCGGA

```

그림 3. (계속)

7. 볼락 parvalbumin mRNA (445bp) (GenBank accession. DQ374441)

```
1 ATGGCCTTCG CTGTTTCCT CAGTGATACT GATATCAAAG CCGCCCTGGC TGGCTGCTCT
61 GCTGCTGACT CCTTCAGCCA CAAGACCTTC TTCAAGGCAT GCGGCCTGGC CAGCAAGTCC
121 GCCGATGAGT TGAAAAGGC CTTCCGCATC ATTGACCAGG ACAACAGCGC CTACATTGAG
181 GAGGAGGAGC TCAAAGTGT CCTGCAGAAC TTCGCTGCTG GAGCCAGAGC TCTCACCAGC
241 AAGGAGACCA AGACTTTCCT CGCCGCTGGA GACAGCGATG GTGATGGCAA GATTGGAGTC
301 GATGAGTTCA CTGCACTTGT AAAGGCATAA ATTTCCACTG ACCAAGATCC ACTTCTTTTC
361 ATGGAACGGA GAGCTCCTTG CAAGATTCCG TAACCACCAG CTGAAAGAAT ATTTTATTAC
421 ATCTTATTTA TGAGTTGCCT GCGGA
```

8. 조피볼락 parvalbumin mRNA (445bp) (GenBank accession. JN571760)

```
1 ATGGCCTTCG CTGTTTCCT CAGTGATACT GATATCAAAG CCGCCCTGGC TGGCTGCTCT
61 GCTGCTGACT CCTTCAGCTA CAAGACCTTC TTCAAGGCAT GCGGCCTGGC CAGCAAGTCC
121 GCCGATGAGT TGAAAAGGC CTTCCGCATC ATTGACCAGG ACAACAGCGC CTACATTGAG
181 GAGGAGGAGC TCAAAGTGT CCTGCAGAAC TTCGCTGCTG GAGCCAGAGC TCTCACCAGC
241 AAGGAGACCA AGGCTTTCCT CGCCGCTGGA GACAGCGATG GTGATGGCAA GATTGGAGTC
301 GATGAGTTCA CTGCACTTGT AAAGGCATAA ATTTCCACTG ACCAAGATCC ACTTCTTTTC
361 ATGGAACGGA GAGCTCCTTG CAAGATTCCG TAACCACCAG CTGAAAGAAT ATTTTATTAT
421 ATCTTATTTA TGAGTTGCCT GCGGA
```

9. 고등어 parvalbumin mRNA (445bp) (GenBank accession. JN571761)

```
1 ATGGCCTTCG CTGTTTCCT CAGTGATACT GATATCAAAG CCGCCCTGGC TGGCTGCTCT
61 GCTGCTGACT CCTTCAGCCA CAAGACCTTC TTCAAGGCAT GCGGCCTGGC CAGCAAGTCC
121 GCCGATGAGT TGAAAAGGC CTTCCGCATC ATTGACCAGG ACAACAGCGC CTACATTGAG
181 GAGGAGGAGC TCAAAGTGT CCTGCAGAAC TTCGCTGCTG GAGCCAGAGC TCTCACCAGC
241 AAGGAGACCA AGACTTTCCT CGCCGCTGGA GACAGCGATG GTGATGGCAA GATTGGAGTC
301 GATGAGTTCA CTGCACTTGT AAAGGCATAA ATTTCCACTG ACCAAGATCC ACTTCTTTTC
361 ATGGAACGGA GAGCTCCTTG CAAGATTCCG TAACCACCAG CTGAAAGAAT ATTTTATTAT
421 ATCTTATTTA TGAGTTGCCT GCGGA
```

10. 전갱이 parvalbumin mRNA (445bp) (GenBank accession. JN571762)

```
1 ATGGCCTTCG CTGTTTCCT CAGTGATACT GATATCAAAG CCGCCCTGGC TGGCTGCTCT
61 GCTGCTGACT CCTTCAGCCA CAAGACCTTC TTCAAGGCAT GCGGCCTGGC CAGCAAGTCC
121 GCCGATGAGT TGAAAAGGC CTTCCGCATC ATTGACCAGG ACAACAGCGC CTACATTGAG
181 GAGGAGGAGC TCAAAGTGT CCTGCAGAAC TTCGCTGCTG GAGCCAGAGC TCTCACCAGC
241 AAGGAGACCA AGACTTTCCT CGCCGCTGGA GACAGCGATG GTGATGGCAA GATTGGAGTC
301 GATGAGTTCA CTGCACTTGT AAAGGCATAA ATTTCCACTG ACCAAGATCC ACTTCTTTTC
361 ATGGAACGGA GAGCTCCTTG CAAGATTCCG TAACCACCAG CTGAAAGAAT ATTTTATTAT
421 ATCTTATTTA TGAGTTGCCT GCGGA
```

그림 3. 어종별 parvalbumin mRNA의 염기서열

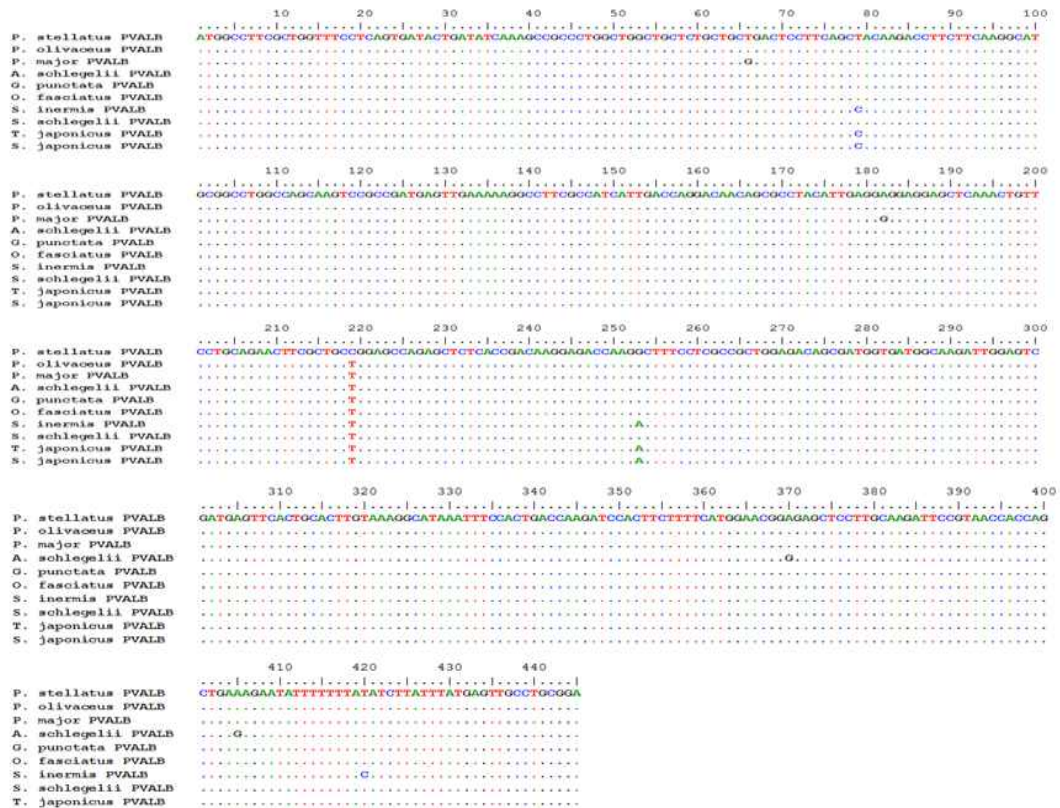


그림 4. Parvalbumin mRNA의 어종간 염기서열 비교결과

2. 생산성관련 유전자표지 확보

어류의 생산성관련 유전자표지를 확보하기 위하여 주요 foodfish 10종에 공통으로 적용 가능한 PVALB 유전자의 발현양상 분석용 primer 3세트를 제작하였으며, 10개 어종 공통으로 분석 가능한 반응조건을 결정한 후 (표 1), 증폭반응 산물을 확인하였다 (그림 5).

표 1. 10개 어종 parvalbumin 발현양상 분석을 위한 primer 정보 및 반응조건

Primer name	Primer sequence (5' → 3')	Product size (bp)	Reaction condition
PVALB 115F	AAGTCCGCCGATGAGTTG	141	1: 95°C for 1min
PVALB 255R	AGCCTTGGTCTCCTTGTC		2: 95°C for 10sec
			3: 58°C for 10sec
PVALB 279F	TGGTGATGGCAAGATTGG	165	4: 72°C for 10sec, plate read
PVALB 443R	CGCAGGCAACTCATAAATAAG		5: Goto 2, 39 more times
PVALB 10F	GCTGGTTTCCTCAGTGATAC	123	6: 95°C for 10sec
PVALB 132R	CAACTCATCGGCGGACTT		7: Melt curve 65°C to 95°C, Increment 0.5°C for 5sec

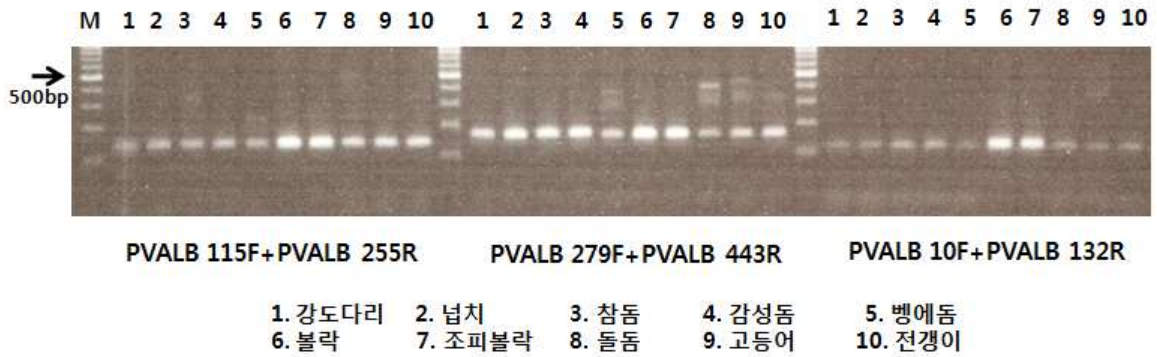


그림 5. 10개 어종의 parvalbumin 유전자 증폭산물

동일한 조건에서 사육된 13개월령 강도다리를 성장지표에 따라 표 2와 같이 S (small, n=20) 그룹과 L (large, n=20) 그룹으로 선별하였고, PVALB 유전자 발현양상 분석 대상시료를 확보하였으며, 분석에 사용한 시료는 L그룹의 평균체중이 S그룹의 약 2배였다.

표 2. 생산성관련 유전자표지 확보에 사용한 강도다리 시료 정보

어종	연령	그룹	성장지표	선별시료 (n=20)	발현유전자 분석시료 (n=8)
강도다리	13개월령	Large (L)	체장	12.3~14.0cm	12.5~13.5cm
			평균	13.1±0.8cm	12.9±0.35cm
			체중	57.43~107.37g	72.04~80.85g
			평균	58.02±23.73g	76.68±3.34g
		Small (S)	체장	8.2~11.7cm	9.7~11.0cm
			평균	10.4±0.9cm	10.5±0.49cm
체중	20.30~48.68g		33.63~41.00g		
	평균	36.49±7.39g	36.17±2.80g		

강도다리 PVALB 유전자의 발현양상은 근육조직 total RNA를 이용하여 β -actin 유전자로 normalize 한 후, 5반복 실험으로 얻은 발현량을 계산하였다. 그림 6과 같이 강도다리 PVALB 유전자의 발현량은 S그룹 (3.878±2.606)의 개체들이 L그룹 (0.517±0.229)의 개체들 보다 약 7.5배 많았다. 이와 같은 결과로 PVALB 유전자를 강도다리의 생산성관련 유전자 표지 개발에 활용 가능성을 확인하였다.

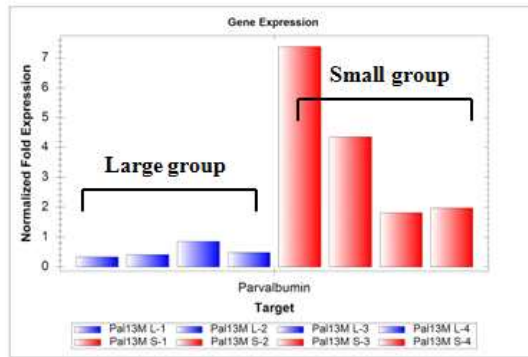


그림 6. 성장속도가 다른 강도다리집단에서 parvalbumin 유전자 발현양상 분석

불락의 생산성관련 유전자표지를 확보하기 위한 분석시료는 동일한 조건에서 사육된 5개월령 및 16개월령 집단을 이용하였다. 표 3과 같이 성장지표에 따라 그룹을 나누어 선별하였으며, 발현유전자 분석시료는 각 그룹간 평균체중이 약 2배가 되도록 선정하였다.

표 3. 생산성관련 유전자표지 확보에 사용한 불락 시료 정보

어종	연령	그룹	성장지표	선별시료 (n=30)	발현유전자 분석시료 (n=8)
불락	5개월령	Large (L)	체장	4.0~4.7cm	4.2~4.7cm
			평균	5.5±0.19cm	4.5±0.17cm
			체중	2.20~2.98g	2.60~2.98g
		평균	2.45±0.20g	2.75±0.13g	
		Small (S)	체장	3.3~4.2cm	3.3~3.9cm
			평균	3.9±0.28cm	3.6±0.26cm
	체중		1.37~2.00g	1.37~1.61g	
	평균	1.74±0.17g	1.53±0.09g		
	16개월령	Large (L)	체장	8.0~9.9cm	8.5~9.9cm
			평균	8.7±0.47cm	9.3±0.41cm
			체중	11.28~21.84g	15.93~21.84g
		평균	15.00±2.78g	18.87±1.73g	
Medium (M)		체장	6.9~7.9cm	7.0~7.7cm	
		평균	7.5±0.27cm	7.5±0.26cm	
	체중	7.80~11.71g	10.01~10.73g		
평균	10.06±1.24g	10.38±0.26g			
Small (S)	체장	5.8~7.3cm	5.8~6.8cm		
	평균	6.7±0.35cm	6.4±0.38cm		
	체중	4.40~9.06g	4.19~5.96g		
평균	6.59±1.22g	5.22±0.70g			

볼락 PVALB 유전자의 발현양상은 성장지표에 따라 그룹으로 선별된 5개월령 및 16개월령 시료의 근육조직을 β -actin 유전자로 normalize하여 분석하였다. 5개월령 근육조직에서 PVALB 유전자의 발현량은 large 그룹 (1.79 ± 0.69)과 small 그룹 (1.36 ± 0.64)간 뚜렷한 차이는 없었다 (그림 7A). 16개월령 근육조직에서 PVALB 유전자의 발현량을 계산한 결과, large 그룹 (1.02 ± 0.23), medium 그룹 (1.19 ± 0.51) 및 small 그룹 (0.95 ± 0.44)간 발현량 차이는 20% 내외로 유의적이지 않았다. 볼락 근육조직에서 PVALB 유전자의 발현양상은 강도다리 근육조직에서의 발현양상과 달랐으며, PVALB 유전자의 발현양상이 어종간 차이가 있을 것으로 추정하였다. PVALB 유전자의 분석영역을 다양하게 선택한 추가 연구 수행이 이루어져야 할 것으로 판단한다.

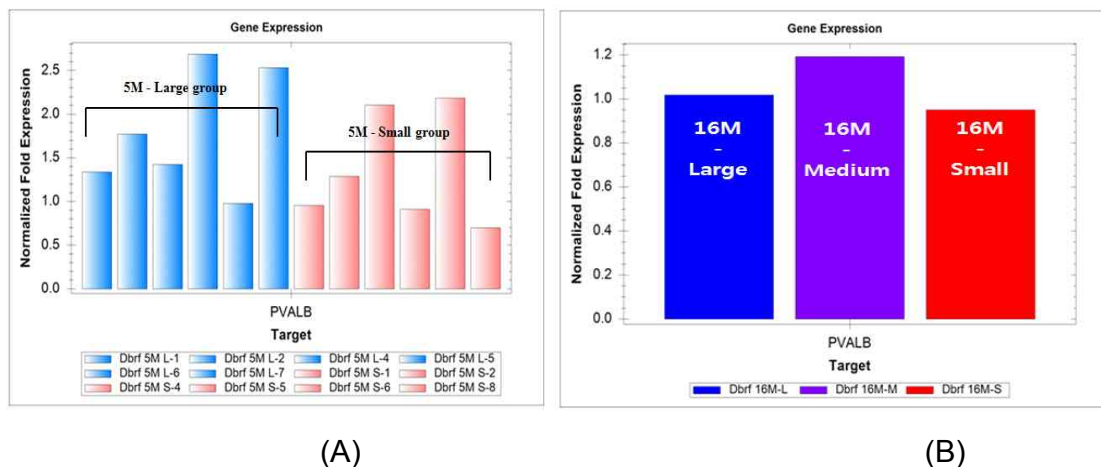


그림 7. 볼락 근육조직에서의 parvalbumin 유전자 발현양상. (A) 볼락 5개월령, (B) 볼락 16개월령

강도다리의 생산성관련 유전자 표지개발에 CKM1 유전자와 PVALB 유전자를 활용하기 위하여, 두 개의 유전자를 동일한 시료를 이용하여 발현양상을 비교 분석하였다 (그림 8). 동일한 사육조건에서 성장속도가 빠른 강도다리 선발에 CKM1 유전자는 up-regulation 유전자표지로, PVALB 유전자는 down-regulation 유전자표지로 활용 가능함을 확인하였다.

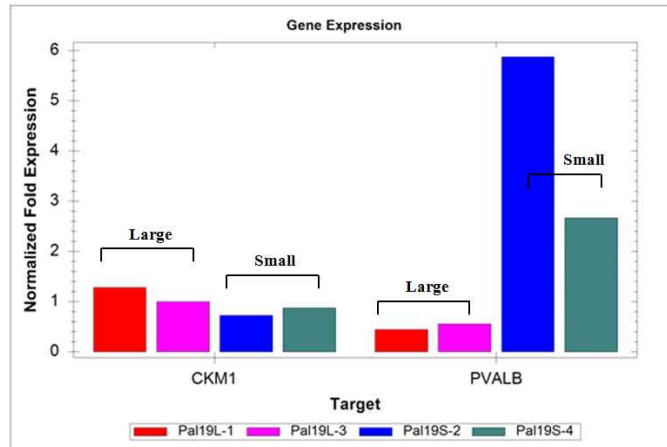


그림 8. 강도다리 근육조직에서 CKM1 유전자와 PVALB 유전자의 발현양상 비교

3. 기확보 유전자표지의 어종 공용 적용가능성 탐색

강도다리 분석을 통하여 이미 확보한 CKM1 유전자를 다양한 어종에 생산성관련 유전자 표지로 적용할 수 있는지 조사하기 위하여, 어종별로 CKM1 유전자를 클로닝하였으며, 발현양상 분석에 적합한 primer를 제작하고 반응조건을 결정하였다.

블락의 CKM1 유전자는 1146 bp 크기의 ORF 영역을 포함한 cDNA 단편을 확보하였으며, 염기서열 분석 결과 (그림 9), 강도다리 CKM1 유전자와 95%의 상동성을 나타내었다.

블락 CKM1 유전자의 발현양상은 5개월령 및 16개월령 근육조직 total RNA를 이용하였으며, 성장지표에 의해 선별한 각 연령별 large 그룹과 small 그룹의 발현양상을 조사하였고, β -actin 유전자로 normalize한 후, 각 그룹간 CKM1 유전자의 발현량 차이를 계산하였다. CKM1 유전자는 5개월령 및 16개월령 블락집단에서 성장속도가 빠른 개체에서 발현량이 많은 것을 확인하였다. 5개월령 L그룹 개체들은 S그룹 개체들보다 발현량이 약 2.72배 많았으며, 16개월령 L그룹 개체는 S그룹 개체들보다 3.02배 많은 것으로 계산되었다 (그림 10). 이와 같은 블락의 크기에 따른 그룹별 발현분석 결과로 CKM1 유전자를 활용한 유전자 표지는 다양한 어종에 적용 가능한 것으로 추정하였다.

```

1 ATGCCTTTCG GAAACACCCA CAACAACCTC AAGCTCAACT ACAAAGTTGA GGATGAGTTC
61 CCCGACCTGA GCCAGCACAA CAACCATATG GCCAAGGTTT TGACCAAGGA GATGTATGGC
121 AAGATTAGGG ACAGACAAAC CCCCAGTGGC TACACCGTGG ACGATGTCAT CCAGACTGGC
181 GTTGACAACC CCGGTCACCC TTTCATCATG ACCGTTGGCT GCGTCGCTGG TGATGAGGAG
241 TCCTATGAGG TCTTCAAAGA ACTGCTGGAC CCCGTCATCT CTGACCGTCA TGGTGGATAC
301 AAGCCCACTG ACAAGCACAA GACCGACCTG AACTTCGAGA ACCTGAAGGG TGGTGATGAC
361 CTGGACCCCA ACTACGTTCT GTCCAGCCGT GTCCGTAAGT GCCGTAGCAT CAAGGGATTC
421 ACCCTGCCCC CCCACAACAG CCGTGCGGAG CGCAGAGCTA TTGAGAAGCT GTCCGTTGAG
481 GCTCTGACCA TCCTGGATGG TGAGTTCAAG GGAAAGTACT ACCCCCTGAA GTCTATGACT
541 GATGCCGAGC AGGAGCAGCT GATCGCTGAT CACTTCCTGT TTGACAAGCC CGTCTCCCCC
601 CTGCTGACCT GTGCTGGAAT GGCCCGTGAC TGGCCTGATG CCAGGGGCAT CTGGCACAAT
661 GAGAACAAGA CCTTCTGGT CTGGGTCAAT GAGGAGGATC ACCTGCCTGT CATCTCCATG
721 CAGCAGGGTG GCAACATGAG GGAGGTCTTC AAACGTTTCT GCGTTGGCCT GAAGACGATT
781 GAGGAAACCT TCAAGAAGCA CAACCACGGC TTCATGTGGA ACGAGCATCT CGGGTTCATC
841 CTGACCTGCC CCTCCAACCT GGGCACTGGA CTGCGTGGTG GTGTCCATGT CAAGCTTCCC
901 AAGCTCAGCA CACACGCCAA GTTTGATGAG ATCCTCACCA GGCTGCGTCT GCAGAAGCGT
961 GGCACAGGTG GTGTGGACAC TGCCTCCGTG GGTGGTGTGT TTGACATCTC CAACGCCGAC
1021 CGTCTGGGCT CCTCAGAGGT GGAGCAGGTC CAGCTGGTGG TTGATGGTGT CAAACTGATG
1081 GTTGAGATGG AGAAGAAGCT GGAGAAGGGA GAGGCCATCG ACAGCATGAT CCCTGCCAG
1141 AAGTAG

```

그림 9. 볼락 muscle-type creatine kinase (CKM1) mRNA 염기서열 (GenBank accession. JN187085)

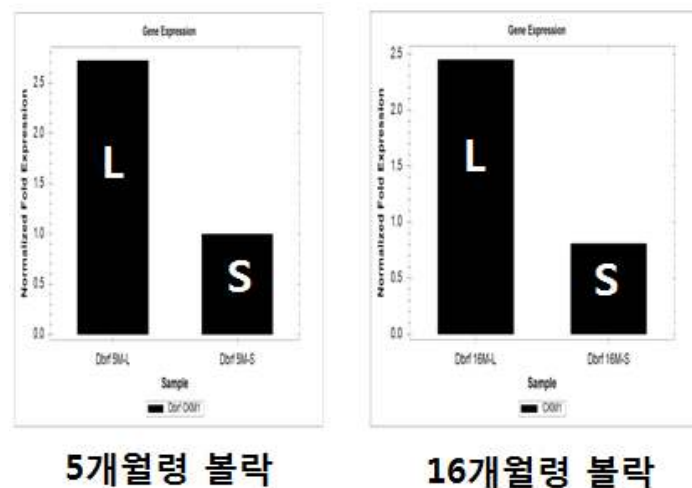


그림 10. 볼락 muscle type creatine kinase (CKM1) 유전자 발현양상 분석

IV. 유전자표지 검증

1. 유전자표지의 유전적 변이 조사

(1) CKM1 및 PVALB 유전자표지의 유전적 변이 검증

가. 참돔 및 강도다리의 CKM1 유전자 변이 검증 및 주요 변이 영역 선별

· 참돔 CKM1 유전자 변이 재검증

참돔 30마리(체장: 16.6~24.8cm)의 개체별 핵산을 확보하여 CKM1 유전자 전 영역을 PCR 증폭으로 분리하였다(그림 1, 표 1). 구조 유전자 및 프로모터 내 총 32 군데에서 염기 변이가 확인되었다(그림 1). 염기 변이는 다른 염기로 치환되거나 대립유전자와 같이 두 염기가 동일 영역에 관찰되는 경향이 대부분이었고, intron 영역에서는 결손 또는 삽입이 되는 경우도 관찰되었다(표 2). 특히적으로 exon 5 영역은 두 염기의 치환[adenine(A) → guanine(G), adenine(A) → cytosine(C)]으로 인하여 아미노산 변화 [asparagine(Asp) → alanine(Ala)]가 발생하였다. 그래서 추가 개체별 분석 시 exon 2, 프로모터 영역과 아미노산 치환이 발생하는 exon 5 영역을 주요 영역으로 선정하였다.

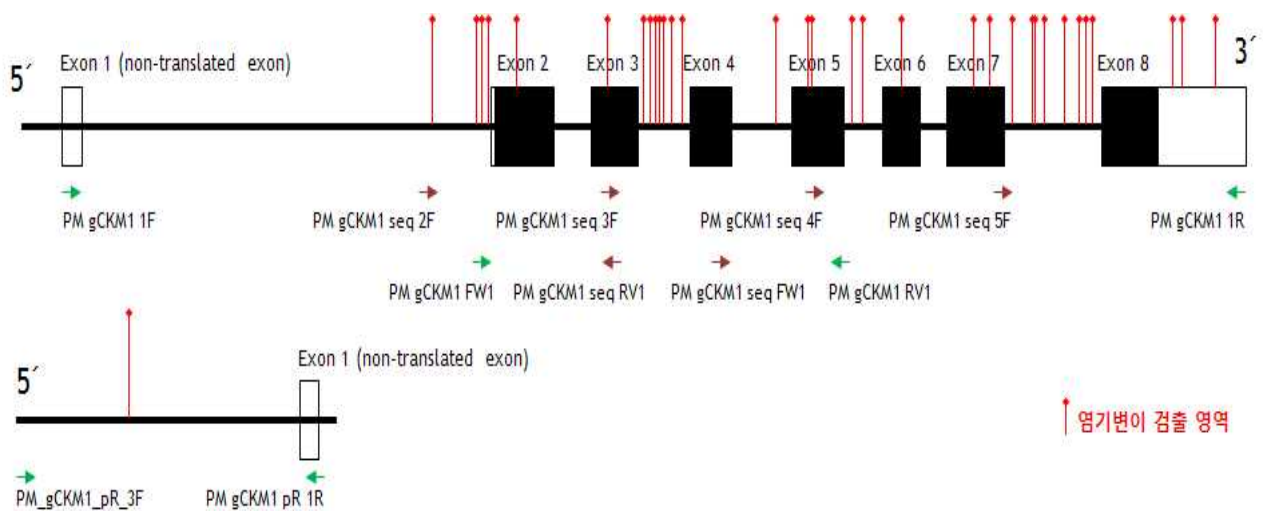


그림 1. 참돔 CKM1 (muscle-type creatine kinase) 유전자 변이 재검증 영역.

표 1. 참돔의 CKM1 유전자 변이 영역 분석용 프라이머 정보

	Primer sequence (5'-3')	Purpose
PM gCKM1 1F	TTGGCTGTGGTGAACAGGAT	유전자 영역 증폭
PM gCKM1 1R	GAGCAGTATGAACAGCTTCA	유전자 영역 증폭
PM gCKM1 pR 3F	GTCTTGTGCCTGTCTCTGTA	프로모터 영역 증폭, 염기서열 분석
PM gCKM1 pR 1R	CAGCAGACAAGAACAGAGGT	프로모터 영역 증폭, 염기서열 분석
PM gCKM1 FW1	TCCTCTCTTCGCAGTGTTAG	유전자 영역 증폭
PM gCKM1 RV1	TACCAGATGCCTCTTGCATC	유전자 영역 증폭
PM gCKM1 seq RV1	CAGCCAACAGTCATGATGAAG	염기서열 분석
PM gCKM1 seq FW1	AGAATCATTGAGAAGCTGTCCGTT	염기서열 분석
PM gCKM1 seq 2F	AGAACTGGGCTTGTGTGTGT	염기서열 분석
PM gCKM1 seq 3F	CTTCATCATGACTGTTGGCTG	염기서열 분석
PM gCKM1 seq 4F	TGTACATCCGTCTCTCCAGC	염기서열 분석
PM gCKM1 seq 5F	AAGCGTGGCACAGGTACAAA	염기서열 분석
PM gCKM1 pR 3F	GTCTTGTGCCTGTCTCTGTA	염기서열 분석

표 2. 참돔의 CKM1 유전자 변이 영역 위치 및 염기서열 정보

참돔 CKM1	from ATG (bp)	Seq-I	Seq-II	Seq-III	참돔 CKM1	from ATG (bp)	Seq-I	Seq-II	Seq-III
Intron I	-193	C*	C/T		Intron VII	1959	G*	G/T	
	-94	C*	A	C/A		1983	C	T	C/T*
	-62	G*	G/T		Intron VIII	2216	C*	T	C/T
-36	A	T*	A/T	2248		C*	T	C/T	
Intron III	488	G*	G/GG			2367	G*	GG	
	501	G*	A/G						
	532	T*	T/TT		Exon II	75	G		
	533	G	T	G/T*	Exon III	359	G*	A/G	
	546	C*	T	C/T	Exon V	1067	A*	G	A/G*
	564-565	In/Del				1068	A*	C	A/C*
	608	G*	A/G		Exon VI	1346	A*	C	A/C
Intron IV	942	G*	T	G/T	Exon VII	1577	C*	T	C/T
Intron V	1176	A	T*	A/T		1642	C*	T	
	1214	T	TT*	T/TT					
Intron VII	1730	T*	C/T						
	1790	G*	A/G						
	1798	G*	G/GG						
	1811	A*	G	A/G					
	1883	A*	A/AA						
	1940	A*	A/AA						

· 참돔의 다양한 친어 개체들을 대상으로 한 유전자 변이 조사 및 다형성 분포 평가 총 243마리(체장: 34.3 - 58.7cm)의 성어를 대상으로 exon2, 5, 프로모터 영역의 유전자 변이 분석을 수행하였다. 분석 영역 3곳의 유전자 변이를 이용하여 genotype을 구분한 결과 11종류의 그룹이 형성되었으며 총 19 그룹의 genotype이 관찰되었다. 그 가운데 가장 많은 비율을 차지하는 것은 E2(G)-E5(GC)-P(G)의 genotype으로 암, 수 모두 가장 높은 비율을 나타내었으며 가장 낮은 비율은 E2(A)-E5(GC)-P(G), E2(G)-E5(G/A, C/A)-P(A), E2(G/A)-E5(G/A, C/A)-P(G/A)의 genotype으로 확인되었다. 그리고 평균 무게가 가장 높은 genotype은 E2(G/A)-E5(GC)-P(G) 그룹으로 평균 무게가 3,625 g이었고, 가장 낮은 genotype은 E2(G)-E5(G/A, C/A)-P(A) 그룹이지만 개체 수가 1미밖에 확인되지 않아 유전자형의 대표성을 평가하기는 어려웠다(표 3). 이 가운데 자손확보를 위한 친어 선발을 수행하였고, 선발 시 자손에서 다양한 유전형질과 성장형질과의 연관성을 비교할 수 있도록 후속 분석 조건을 최적화 하였다.

표 3. 참돔의 CKM1 유전자 변이 정보와 분석 개체 정보

Genotype	Ave. BW (g)	Genotype	Ave. BW (g)
E2(A)-E5(GC)-P(G)	3,270.0	E2(G)-E5(G/A, C/A)-P(G/A)	2,637.5
E2(A)-E5(GC)-P(G)	2,750.0	E2(G)-E5(G/A, C/A)-P(G/A)	3,042.9
E2(G)-E5(AA)-P(G)	2,430.7	E2(G)-E5(G/A, C/A)-P(G)	2,450.0
E2(G)-E5(AA)-P(G)	2,807.5	E2(G)-E5(G/A, C/A)-P(G)	2,611.8
E2(G)-E5(AA)-P(G/A)	2,586.7	E2(G)-E5(G/A, C/A)-P(A)	2,250.0
E2(G)-E5(AA)-P(G/A)	2,556.7	E2(G/A)-E5(G/A, C/A)-P(G/A)	3,250.0
E2(G)-E5(AA)-P(A)	2,842.0	E2(G/A)-E5(G/A, C/A)-P(G/A)	2,556.0
E2(G)-E5(AA)-P(A)	2,524.0	E2(G/A)-E5(G/A, C/A)-P(G)	3,150.0
E2(G)-E5(GC)-P(G)	2,618.9	E2(G/A)-E5(GC)-P(G)	3,625.0
E2(G)-E5(GC)-P(G)	2,598.7		

-E2: exon 2, E5: exon 5, P: promoter (5'-flanking region).

· 강도다리 CKM1 유전자 변이 검증

강도다리 30마리(체장: 19.6~31.2cm)의 핵산으로 CKM1 프로모터부터 유전자 전 영역을 PCR 분리하였다(그림 2, 표 4). 프로모터 1 영역, exon 2, 4, 5, 6, 7 내 총 11 영역과 intron 2, 4, 5 내 총 5 영역의 염기변이를 확인하였다. 참돔 결과가 유사하게 염기 변이는 다른 염기로 치환되거나 대립유전자와 같이 두 염기가 동일 영역에 관찰되는 경향이 대부분으로 확인되었다(표 5).

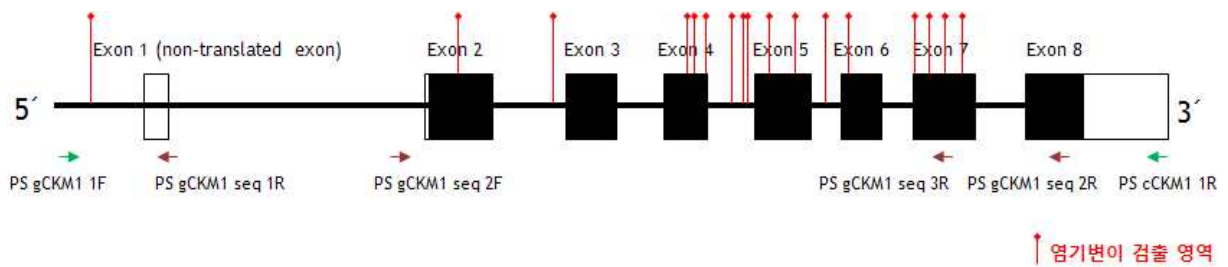


그림 2. 강도다리의 CKM1 유전자 변이 재검증 영역.

표 4. 강도다리의 CKM1 유전자 변이 영역 분석용 프라이머 정보

	Primer sequence (5'-3')	Purpose
PS gCKM1 1F	CTCAGCTTTTTTCAGCTGCT	유전자 증폭
PS cCKM1 1R	GAGTAATATGAACCCCTTCA	유전자 증폭
PS gCKM1 seq 1R	AGTCTTTACCTGCACACCAG	염기서열 분석
PS gCKM1 seq 2F	TCAGACAACCCTCAGAGACA	염기서열 분석
PS gCKM1 seq 3R	GTGCTTCTTGAAGATCTCCTC	염기서열 분석
PS gCKM1 seq 2R	TTGACACCATCAACCACCAG	염기서열 분석

표 5. 강도다리의 CKM1 유전자 변이 영역 검증 및 추가 확보 영역

강도다리 CKM1	from ATG (bp)	Seq-I	Seq-II	Seq-III
5'-flanking	-1054	A	A/G*	G
Intron-II	390	C	T	C/T*
Intron-IV	919	T	AATCTGTAAATTTTCT	T/AATCTGTAAATTTTCT*
	948	C*	CC	C/CC
	959	C*	C/CC	
Intron-V	1191	A	C*	A/C
Exon-II	102	G*	G/T	
Exon-IV	770	G		
	790	C*	:	
	838	G*	GG	
Exon-V	1019	C*	C/CC*	
	1098	C*	C/CC	
Exon-VI	1247	G		
Exon-VII	1455	T*	C/T	
	1509	G		
	1554	G		
	1591	C	C/T*	T

- * 다수의 개체에서 확인된 염기서열을 표시.

- Exon-V(1019)내 염기변이는 동일 개체수로 확인.

(2) 자손의 CKM1 유전형 분포 분석 및 계측 성장 형질과의 연관성 유무 조사

가. 자손(부화 후 2개월)의 성장 형질 측정과 genotyping

샘플링한 1000마리 자손 중 무작위로 치어 500 미를 선발하여 개체별 핵산 분리를 실시한 후 CKM1 유전자 exon 2, 5 영역을 PCR 분리하였다. 자손집단에서 관찰된 genotype은 총 7 종류였으며 E2(G)-E5(G/A, C/A), E2(G)-E5(AA)의 genotype의 개체가 가장 많은 것으로 나타났다. 이는 어미개체 가운데 E2(G)-E5(AA)와 E2(G)-E5(GC) genotype의 암, 수 비율이 다른 genotype에 비하여 높기 때문인 것으로 판단된다. 그리고 genotype 별 평균 무게는 E2(G/A)-E5(AA)이 가장 높았으며 E2(A)-E5(GC)이 가장 낮았으나 이 두 genotype을 갖는 개체수가 극히 적어 유전자형의 대표성을 평가하는 것은 불가능 하였다. 이 외 genotype에서는 E2(G/A)-E5(G/A, C/A)에 비하여 E2(G)-E5(G/A, C/A)의 평균 무게가 약 30% 더 높게 나타났고, E2(G/A)-E5(GC)에 비하여 E2(G)-E5(GC)가 약 10% 더 높게 나타났지만 동일 유전형 그룹내 개체 간 편차 역시 매우 크게 관찰됨으로써 통계적 유의차는 인정하기 어려웠다(표 6).

표 6. 치어 개체(부화 후 2개월)의 유전 형질 그룹별 성장 형질 정보

Strain	Genotype	Ave. BW (g)	Ave. TL (cm)	Ave. BL (cm)	Ave. CF (%)	No. Fish
KK	E2(A)-E5(GC)	0.12	2.35	1.95	1.62	1
KK	E2(G/A)-E5(AA)	0.29	2.92	2.33	2.05	3
KK	E2(G/A)-E5(G/A, C/A)	0.19	2.63	2.17	1.79	37
KK	E2(G/A)-E5(GC)	0.20	2.63	2.16	1.89	17
KK	E2(G)-E5(AA)	0.24	2.74	2.25	1.88	189
KK	E2(G)-E5(G/A, C/A)	0.25	2.75	2.27	1.89	212
KK	E2(G)-E5(GC)	0.23	2.72	2.23	1.92	41

나. 자손(부화 후 5개월)의 크기 별 샘플링과 genotyping 실시

크기에 따라 large 그룹과 small 그룹으로 나누어 각 25미를 샘플링하여 핵산 분리 후 염기서열 분석을 수행하였다. 두 그룹 모두에서 공통적으로 E2(G)-E5(AA), E2(G)-E5(G/A, C/A), E2(G)-E5(GC), E2(G/A)-E5(G/A, C/A)의 4종류 genotype이 확인되었다. Large 그룹은 E2(G)-E5(AA) genotype의 개체가 16미로 가장 많았고, 그 다

음으로 E2(G)-E5(G/A, C/A) genotype의 개체가 7미로 확인되었다. 반면 small 그룹은 E2(G)-E5(G/A, C/A) genotype의 개체가 11미로 가장 많았으며 E2(G)-E5(AA)는 10미로 확인되었다. Large와 small 그룹 간의 개체 평균 무게는 각 23.7 g, 10.2 g 이었고, 전장은 10.7 cm, 8.3 cm 이었으며 체장은 9 cm, 6.9 cm로 확인되었다(표 7).

표 7. 크기별 치어 개체(부화 후 5개월) CKM1 유전자 변이 영역 정보와 성장형질 정보

Large group	Exon 2	Exon 5	BW (g)	TL (cm)	BL (cm)	CF (%)
1	G	AA	23.2	10.5	8.7	3.5
2	G	GC	28.3	11	9.3	3.5
3	G	AA	26.2	10.9	9.3	3.3
4	G	AA	25.7	10.9	9.2	3.3
5	G/A	G/A, C/A	24	10.8	9	3.3
6	G	G/A, C/A	22.7	10.6	9	3.1
7	G	AA	23.7	10.1	8.8	3.5
8	G	AA	23.4	11	9	3.2
9	G	AA	21.8	10.2	8.5	3.5
10	G	G/A, C/A	22.2	10.2	8.7	3.4
11	G	AA	21.1	10.3	8.6	3.3
12	G	AA	19.3	10.2	8.6	3.0
13	G	AA	25.3	11	9.3	3.1
14	G	AA	25.3	11.2	9.4	3.0
15	G	G/A, C/A	21.4	10.7	9	2.9
16	G	AA	21	10.6	9	2.9
17	G	AA	23.4	10.7	9.1	3.1
18	G	AA	25.5	10.8	9.1	3.4
19	G	G/A, C/A	28.3	11.4	9.4	3.4
20	G	AA	25.3	10.8	9.3	3.1
21	G	G/A, C/A	21.6	10.2	8.6	3.4
22	G	AA	24.3	10.7	9.1	3.2
23	G	G/A, C/A	21.5	10.5	8.9	3.0
24	G	AA	21.1	10.5	8.6	3.3
25	G	G/A, C/A	26	11.2	9.4	3.1

표 7. (계속)

Small group	Exon 2	Exon 5	BW (g)	TL (cm)	BL (cm)	CF (%)
1	G	AA	10.6	8.5	7.3	2.7
2	G	G/A, C/A	8.6	8	6.5	3.1
3	G	GC	9.2	8	6.6	3.2
4	G	AA	12.7	8.9	7.3	3.3
5	G	AA	10	8.2	6.8	3.2
6	G	AA	10.8	8.5	7.1	3.0
7	G	G/A, C/A	8.4	8	6.5	3.1
8	G	AA	9	8	6.6	3.1
9	G	AA	7.4	8	6.4	2.8
10	G	AA	8.9	8.2	6.6	3.1
11	G	G/A, C/A	11.4	8.5	7	3.3
12	G	GC	9.7	8	6.6	3.4
13	G/A	G/A, C/A	10.3	8.5	7	3.0
14	G	GC	11.2	8.7	7.2	3.0
15	G	AA	7.4	7.5	6.4	2.8
16	G	G/A, C/A	12.5	8.9	7.2	3.3
17	G	G/A, C/A	11.7	8.5	7.1	3.3
18	G	G/A, C/A	10.1	8	6.6	3.5
19	G	G/A, C/A	9.2	8.2	6.6	3.2
20	G	G/A, C/A	12	8.7	7.1	3.4
21	G	G/A, C/A	14	9.5	8	2.7
22	G	AA	12.9	9	7.7	2.8
23	G	AA	10.3	8.4	7.1	2.9
24	G	AA	8.6	7.7	6.4	3.3
25	G	G/A, C/A	8.2	8.1	6.7	2.7

(3) CKM1 유전형 그룹(자손)의 관련 유전자들의 발현 특징 평가

가. 성장 형질에 관여하는 여타 유전자표지들의 발굴 및 유전자 발현 분석

Large, small 그룹 별 개체의 뇌, 아가미, 간, 근육 조직으로 total RNA 분리와 cDNA 합성을 수행하였다. 유전자 발현 분석은 semi quantitative RT-PCR 기법을 이용하여 수행하였고. 예비 실험을 통해 각 유전자별로 분석 대상 조직을 선정한 후 발현 상대 정량을 수행하였다(표 8). CKM1, PVALB, PPAR-b 유전자의 경우 분석한 조직에서 두 그룹 간 발현정도에 유의적인 차이가 관찰되지 않았다. SCD-b의 경우 뇌, 아가미 조직에서는 발현차이가 항시 구성적 발현 특징을 나타냈다. 반면 뇌 및 아가미 조직과는 달리 SCD-b는 간 조직에서 개체 간 심한 발현 편차를 나타내었지만 large 및 small 그룹간 차이를 나타내는 경향은 관찰할 수 없었다. 하지만 근육조직에서 large 및 small 그룹 간 SCD-b의 발현 수준 차이가 관찰되었다. 비록 그룹 내 개체 간 편

차가 관찰되었지만 **small** 그룹보다 **large** 그룹에서 **SCD-b**의 발현이 유의적으로 높게 나타나는 경향은 매우 뚜렷하였다. **GH**의 경우 높은 발현율을 보이는 개체들이 **small** 그룹에서 보다 빈번히 관찰되었지만 개체 간 편차가 **large** 및 **small** 그룹 모두에서 크게 나타났다(그림 3).

표 8. 성장 형질 관여 유전자 발현분석용 프라이머 정보

	Forward primer (5'-3')		Reverse primer (5'-3')	Amp size (bp)
qPM GH FW2	GATGGGAATCCATCTCCTGA	qPM GH RV2	TCTCCACCTTGTGCATGTCT	179
qPM CKM1 FW2	CTTCAAGCGTTTCTGCACTG	qPM CKM1 RV2	TGGTGAGGATCTCCTCGAAT	194
qPM PVALB FW1	TCATTGACCAGGACAACAGC	qPM PVALB RV1	ACTCCAATCTTGCCATCACC	151
qPM PPAR-b FW1	ATGGCGTACACGAGGCTATT	qPM PPAR-b RV1	TCATTAGCCCAGGACGATCT	246
qPM SCD-b FW2	CTGCTCATGTGCTTCTTCGT	qPM SCD-b RV2	CGTGGGTTGATGTTCTTGTC	182

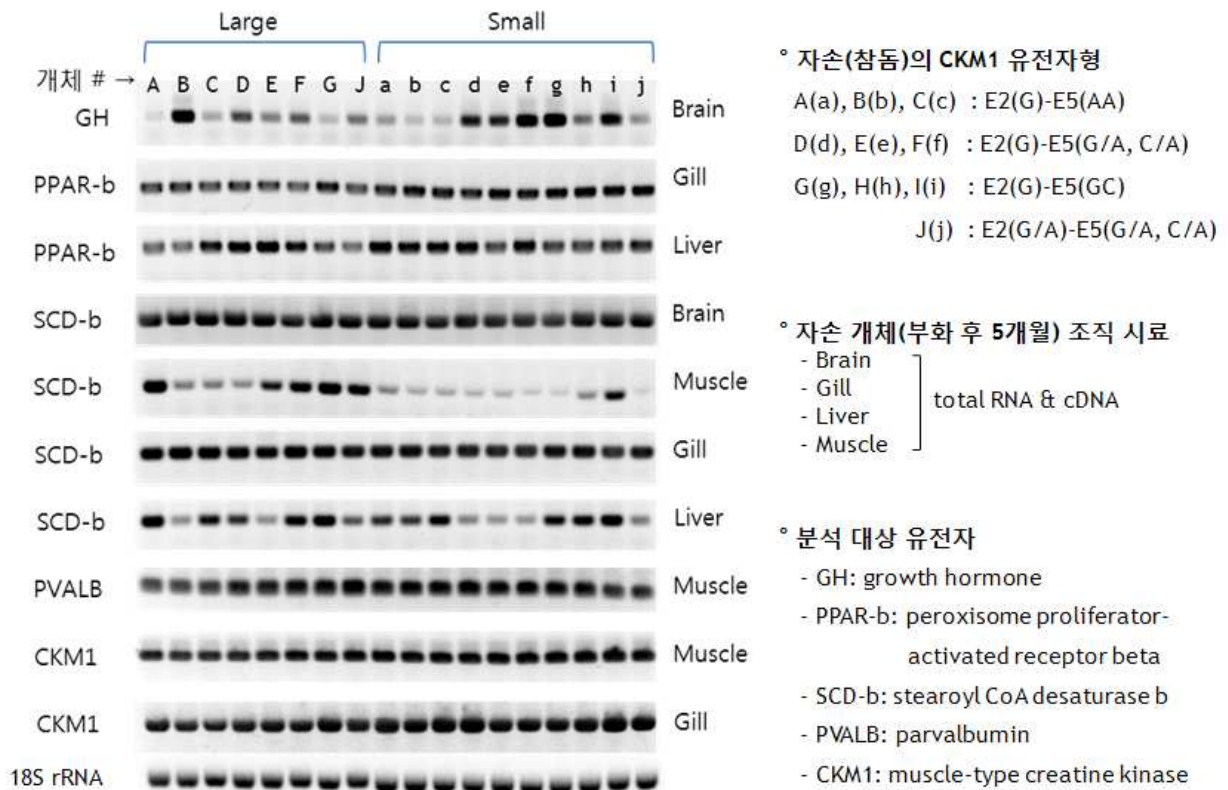


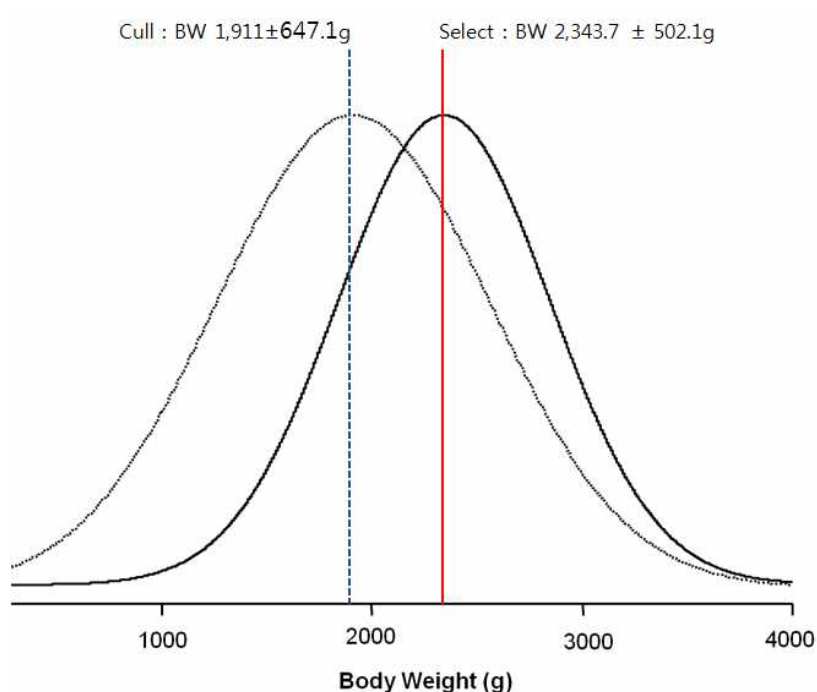
그림 3. 성장관련 유전자의 발현 분석용 RT-PCR 전기영동

V. 유전자표지 적용

[Trial I]

1. 기초집단에서 선발 개체 확보

통영 MRC 에서 사육 중인 5, 6년생 참돔을 기초집단으로 하여 유전자표지를 적용하여 선발한 결과는 Fig. 1에 나타내었다. 총 336마리(평균 체중 $2,095 \pm 626.1\text{g}$) 중 선발 개체수는 123마리(평균 체중 $2,343.7\text{g}$, 6년생 기준)였다.



	Founder	Select	Cull
Number of individuals	294	84	213
Mean Body Weight	2095.4	2343.7	1912.0
% Selected		28.6	

그림 1. SCDB 유전자표지 선발한 참돔 선발과 비선발 친어집단의 체중분포.

* full line; select, dotted line; cull.

선발한 개체 중 후대생산, 제2차 생산력 조사 등 분석에 사용한 후 폐기하거나 인위적인 제거를 통해 최종 99마리를 통영 MRC와 경남수산자원연구소에 사육 중이며, 체중과 개체식별을 위한 RFID number는 Table 1에 나타내었다.

표 1. SCDB 유전자표지 선발한 참돔 친어의 개체별 체중과 개체식별 표지 번호

Body Weight (g)	RFID No.	Sex	Body Weight (g)	RFID No.	Sex
3,142	00063BBA97	♂	2,296	00063BC05F	♀
3,141	00063B89A1	♀	2,284	00063BC179	♀
3,112	00063BD1B5	♀	2,244	00063BC844	♂
3,109	00063BB7EB	♂	2,228	0006383CE4	♀
3,017	00063BC484	♀	2,227	00063BE24F	♂
2,921	00063BCEB7	♂	2,209	00063B179D	♀
2,866	00063BCAA7	♀	2,190	0006381DC6	♂
2,849	00063C0153	♀	2,173	0006383D99	♀
2,815	00063BAAF5	♂	2,154	0006381B4A	♀
2,741	00063BD8BD	♀	2,150	00063BC3B5	♀
2,741	00063B76EB	♂	2,134	00063BE86A	♂
2,740	000637F15A	♂	2,132	000637EF09	♀
2,680	00063BC973	♂	2,129	00063 82347	♂
2,635	00063BEB85	♀	2,118	00063BDC6B	♂
2,631	00063BFA08	♂	2,116	0006383BB1	♀
2,617	00063C1445	♀	2,116	00063BC38F	♀
2,557	00063 81936	♀	2,115	00063BCE61	♀
2,556	00063BD6CE	♀	2,099	00063BD3FF	♂
2,532	00063AFD7E	♂	2,094	00063BCE54	♂
2,510	0006380AAB	♂	2,092	00063C0C5D	♀
2,505	00063BAADD	♀	2,088	00063BC559	♀
2,475	00063 80570	♀	2,073	000637E719	♂
2,469	00063BA2E8	♂	2,055	00063BC5D8	♂
2,453	00063BC174	♀	2,052	00063BA991	♂
2,444	00063BD13B	♂	2,010	00063BB4B7	♂
2,420	00063BA6E2	♂	2,010	00063BC5BD	♀
2,418	00063BA98C	♀	1,996	00063BB6BC	♀
2,327	00063BCA7E	♂	1,973	00063BA723	♀
2,321	00063BD4AB	♂	1,964	00063BCB47	♂
2,312	00063BBC6F	♂	1,963	00063848D5	♂

표 1. (계속)

Body Weight (g)	RFID No.	Body Weight (g)	RFID No.
1,840	4B0B084C38	2,260	4B0A6B453C
1,740	4B0A5F0706	2,350	4B0B066675
2,560	4B0A775C10	2,190	4B05282F63
2,850	4B05326B5C	1,470	4B0B47486B
2,510	4B0B4E4763	1,980	4B0B19122F
2,600	4B0B49440B	1,620	4B0B455A46
2,870	4B0B3D0773	2,070	4B0B120041
2,210	20305F6F62	2,000	4B0B5B613A
2,280	4B052A1957	2,080	4B0A68512B
2,060	4B0B5E1312	1,710	4B0B216B62
2,350	4B0B471727	2,030	4B0B562C73
1,460	4B051C4E4D	1,780	4B0A761E49
2,140	20305E2032	2,540	4B0B0B3227
1,970	4B0B536B1F	1,740	4B0A7A0F4F
1,780	4B0B212C16	1,690	4B0B435F14
2,640	4B0B0B2554	1,250	4B053A0214
2,370	4B0B0E0242	1,300	4B0B15657D
2,010	20306D764D	2,140	4B05326F46
2,260	4B0A65557E	2,170	*
2,140	4B0B471F61		* operculum punching

2. 유전자표지를 적용하여 확보한 우량집단 자손의 성장 및 선발효과

(1) 후대생산을 위해 사용한 선발과 비선발 친어군의 평균 체중

기초집단으로부터 선발한 집단으로부터 선발의 효용성을 검증하기 위하여 산업적 규모에서 후대 생산을 시도하였으며, 이를 위해 사용한 선발과 비선발 친어군의 평균 체중은 각각 $2,392 \pm 588.6\text{g}$ 과 $2,366 \pm 431.6\text{g}$ 이었다(Table 2).

표 2. 참돔 후대생산에 사용한 선발과 비선발 친어집단의 평균 체중

	Brooder strain	
	Selected	Non-selected
Mean body weight (g)	2,392±588.6 (n=60)	2,366±431.6 (n=60)

(2) 선발과 비선발 친어군으로부터 생산한 자손의 초기 성장(2~5개월령)

그림 1의 선발 친어군 중 60마리를 선택하여 생산한 자손의 체중은 2개월령(종묘크기)에 1.34±0.09g, 3.5개월령에 9.42±0.37g 그리고 5개월령에 48.96±0.93로서 비선발 친어군에 비해 유의하게 높은 값을 보였으며, 이에 따른 SGR (specific growth rate) 은 총 사육기간 동안 선발 친어군의 자손이 3.9982%/day로서 비선발 친어군의 자손(3.950%/day)에 비해 높았다(Table 3).

표 3. 참돔 선발과 비선발 집단 자손의 성장양상(3개월령)

	Age (months)	Brooder strain	
		selected	non-selected
Total length (cm)			
	2	4.6±0.08	4.4±0.07
	3.5	8.4±0.12	7.7±0.09
	5	11.6±0.22	10.1±0.18
Body weight			
	2	1.34±0.09	1.18±0.06
	3.5	9.42±0.37	8.24±0.27
	5	48.96±0.93	41.29±0.84
Weight Gain (%)			
	2-3.5	603.0	598.3
	3.5-5	419.8	401.1
	2-5	3554.7	3399.2
Specific growth rate (%/day, SGR)			
	2-3.5	4.334	4.319
	3.5-5	3.663	3.581
	2-5	3.998	3.950

(3) 월령에 따른 선발효과

표 2에 나타난 선발 친어군과 비선발 친어군의 자손의 성장 결과로부터 선발효과를 조사한 결과, 2개월령에는 13.6%, 3.5개월령에는 14.3% 그리고 5개월령에는 18.6%였다(표 4).

표 4. SCDB 유전자표지에 의한 월령별 선발 효과

	Age (months)		
	2	3.5	5
Cumulative selection response (%)	13.6	14.3	18.6

3. 우량친어의 번식생리 특성 파악

(1) 친어집단의 제2차 생산력 조사

가. 생식소 속도 지수

자연산란이 진행 중인 시기에 통영 MRC에서 사육 중인 친어의 생식소 속도 지수(GSI)는 선발 친어군이 4.82 ± 0.69 , 비선발 친어군이 4.68 ± 0.81 로서 유의한 차이는 없었다(표 5).

표 5. 참돔 선발과 비선발 암컷 친어의 자연산란 기간 중 생식소 속도 지수(GSI)

	mid-spawning season	
	selected	non-selected
Gonadosomatic index	4.82 ± 0.69 (n=6)	4.68 ± 0.81 (n=7)

나. 자연교배

(가) 수정란 생산량

선발 친어로부터 51일간 총 101,850 ml의 수정란이 생산되었으며, 비선발 친어로부터는 50일간 총 91,070 ml 생산되었으며(Fig. 2, Table 6), 일간 생산량은 선발 친어군이 1997.1개, 비선발 친어군이 1821.4개, 암컷 마리당 생산량은 선발 친어군이 3395.0개, 비선발 친어군이 3035.7개, 암컷 단위체중(kg) 당 생산량은 선발 친어군이 986.6개, 비선발 친어군이 899.8개였다.

(나) 수정란 크기, 유구 수 및 미세흑포 함유 비율

수정란의 크기는 선발 친어군이 $0.93\pm 0.02\text{mm}$, 비선발 친어군이 $0.94\pm 0.81\text{ mm}$ 이었으며(Table 7), 수정란의 난질을 파악하는 요소로서 유구수와 미세흑포 출현률은 선발 친어군이 각각 1.01 ± 0.03 개와 67.2%로서 비선발 친어군과 차이는 없었다.

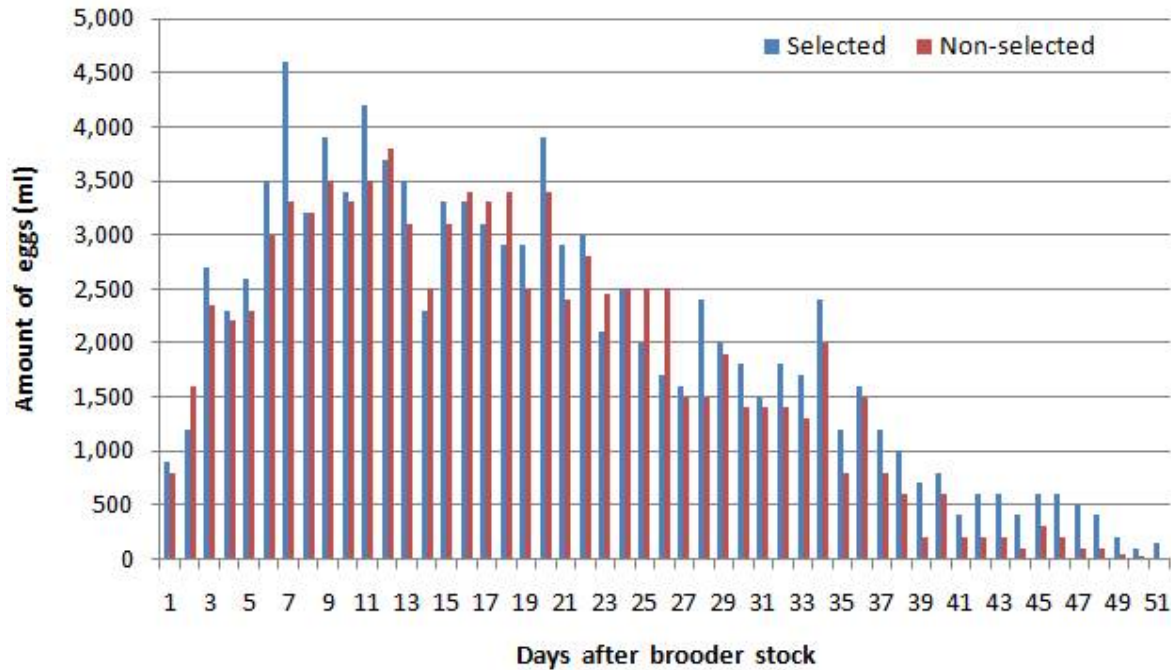


그림 2. 참돔 선발과 비선발 친어집단의 일별 수정란 생산량

표 6. Amount of fertilized eggs produced from selected and non-selected Red Sea Bream (*Pagrus major*) during spawning season

	Spawning Season	
	selected	non-selected
Eggs production Duration	51	50
Amount of fertilized eggs produced (ml)	101,850	91070
per day	1,997.1	1,821.4
per female brooder	3,395.0	3,035.7
per female body weight (kg) / day	986.6	899.8

(다) 수정란의 부화율 및 부화자어의 크기

50일간 생산된 수정란 중 7일 간격으로 9차례에 걸쳐 부화율을 조사한 결과, 선발 친어군(평균 $92.5\pm 4.4\%$)과 비선발 친어군($93.02\pm 4.4\%$)간 유의한 차이는 없었다(Fig. 3).

부화자어의 크기는 선발 친어군에서 생산된 수정란의 부화자어가 $2.64\pm 0.10\text{mm}$ 로서 비선발 친어군($2.67\pm 0.09\text{mm}$)과 차이가 없었다(Table 8).

Table 7. Egg diameter, number of oil globule and minute black spot of fertilized eggs produced from selected and non-selected Red Sea Bream (*Pagrus major*) during spawning season

	spawning season	
	selected	non-selected
Egg diameter (mm)	0.93 ± 0.02	0.94 ± 0.81
Number of oil glouble	1.01 ± 0.03	1.00 ± 0.04
Appearance of minute black spot (%)	67.2	71.5

Table 8. Total length of just hatched larvae of selected and non-selected red sea bream (*Pagrus major*) at mid-spawning season

	Spawning season	
	Selected	Non-selected
Total length (mm)	2.65 ± 0.10	2.67 ± 0.09

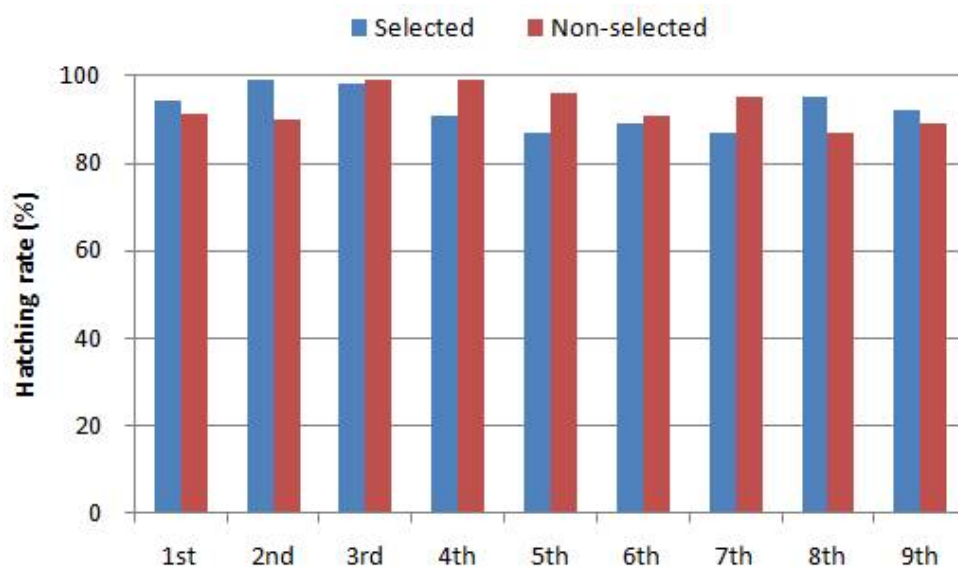


Fig. 3. Hatching rate of fertilized eggs produced by natural matings between selected and non-selected red sea bream (*Pagrus major*).

(라) 초기생존율(부화 후 60일)

종묘생산 기간(60일) 동안 입식한 수정란 수 대비 생산된 종묘수를 통해 구한 초기 생존율은 선발 친어군이 15.1%, 비선발 친어군이 14.9%로서, 두 선발 친어군간 차이는 없었다(Table 9).

Table 9. Early survival rate of offspring during 60 days of seed production period

	Spawning Season	
	Selected	Non-selected
Number of fertilized eggs stocked	800,000	800,000
Number of fish produced	121,000	119,000
Survival rates (%)	15.1	14.9

다. 인공교배

(가) 수정율, 발생율 및 부화율

선발 친어군과 비선발 친어군간 개체별 번식력 차이를 조사하기 위하여 Table 10의 선발과 비선발 친어를 사용하여 4우×4♂인공 교배를 실시하여 수정율과 부화율을 조사한 결과는 Fig. 8에 나타내었다.

선발 암컷 친어 1(S-1우)을 대상으로 선발 수컷 친어(S-1♂, S-2♂)와 인공 수정시킨 경우의 평균 수정율과 평균 부화율은 각각 62.26%, 45.23%, 비선발 수컷 친어(NS-1♂, NS-2♂)와 인공수정시킨 경우 각각 70.57%, 56.35%였다(Fig. 4). 선발 암컷 친어 2(S-2우)를 대상으로 선발 수컷 친어(S-1♂, S-2♂)와 인공 수정시킨 경우의 수정율과 부화율은 각각 52.41%, 15.24%, 비선발 수컷 친어(NS-1♂, NS-2♂)와 인공 수정시킨 경우 각각 42.36%, 14.69%였다. 선발 암컷 친어 3(S-3우)을 대상으로 선발 수컷 친어(S-1♂, S-2♂)와 인공 수정시킨 경우의 수정율과 부화율은 각각 40.55%, 25.16%, 비선발 수컷 친어(NS-1♂, NS-2♂)와 인공 수정시킨 경우 각각 평균 43.08%, 24.48%였다. 선발 암컷 친어 4(S-4우)를 대상으로 선발 수컷 친어(S-1♂, S-2♂)와 인공 수정시킨 경우의 수정율과 부화율은 각각 42.10%, 22.21%, 비선발 수컷 친어(NS-1♂, NS-2♂)와 인공 수정시킨 경우 각각 평균 46.35%, 28.33%였다. 이상의 인

공 수정 시도 결과에서, 수정율과 부화율은 두 집단의 유전적이 차이 보다 암컷의 난 질에 영향을 받는 경향을 보였다.

Table 10. Profiles of selected and non-selected red sea bream (*Pagrus major*) for artificial mating

♀	TL	SL	BW	Fatness	ID serial no.	Strain
1	46.5	38.2	1540	2.7627	00063B87FE	Selected
2	56.2	44.2	2670	3.0920	00063BA770	Selected
3	56.5	45.5	2880	3.0574	00063BB36F	Non-selected
4	43.5	33.0	1620	4.5079	0006381D16	Non-selected
♂	TL	SL	BW	Fatness	ID serial no.	Strain
1	53.0	43.7	2820	3.3791	00063BDC0A	Selected
2	46.2	36.1	1580	3.3584	00063BD483	Selected
3	59.3	48.0	3170	2.8664	00063BC40C	Non-selected
4	53.2	41.1	2030	2.9240	00063825E2	Non-selected

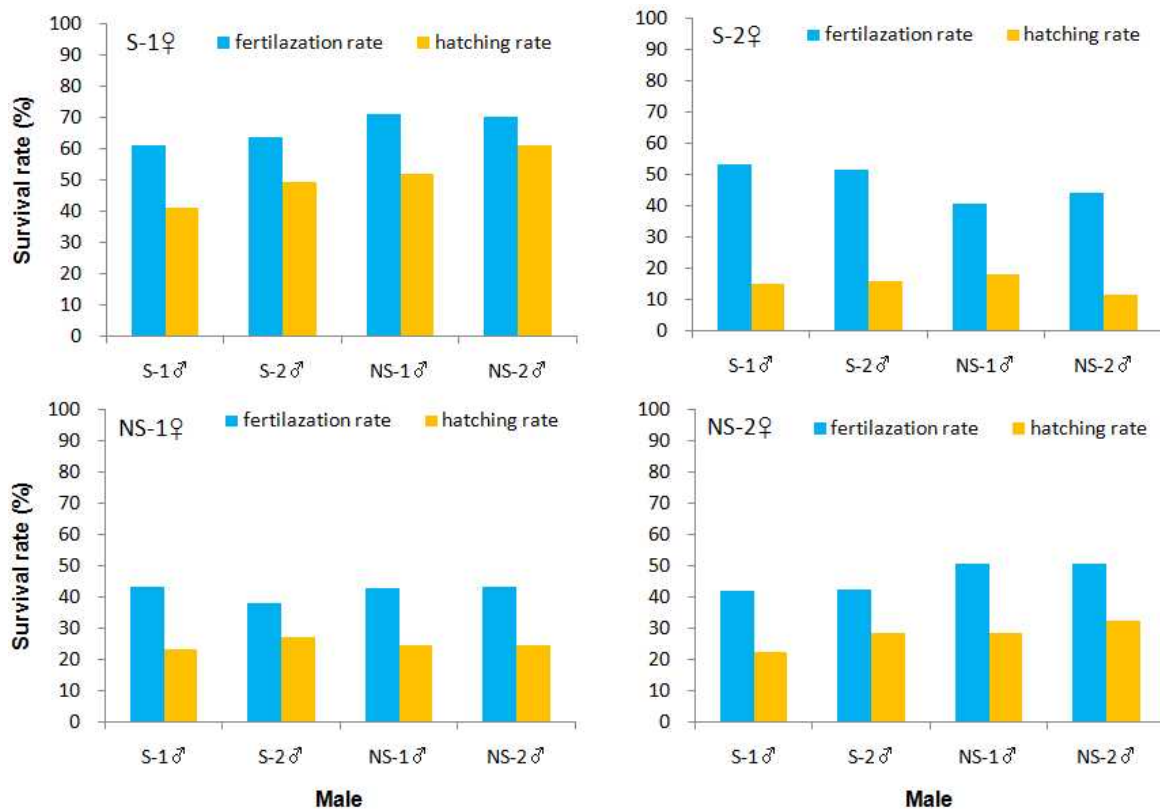


Fig. 4. Fertilization and hatching rates of eggs produced by artificial matings between selected and non-selected red sea bream, *Pagrus major*.

(나) 초기생존율(난황 흡수기, 부화 후 24시간)

선발과 비선발 친어간 4×4 인공교배를 통하여 수정된 알로부터 부화한 자어를 대상으로 초기 생존율을 조사한 결과, 암컷의 난질에 따라 영향을 받는 경향을 보였으나 선발과 비선발간 유전적 요인에 따른 차이는 관찰되지 않았음(Table 11).

Table 11. Early survival rates of hatched larvae produced by matings between selected and non-selected red sea bream (*Pagrus major*)

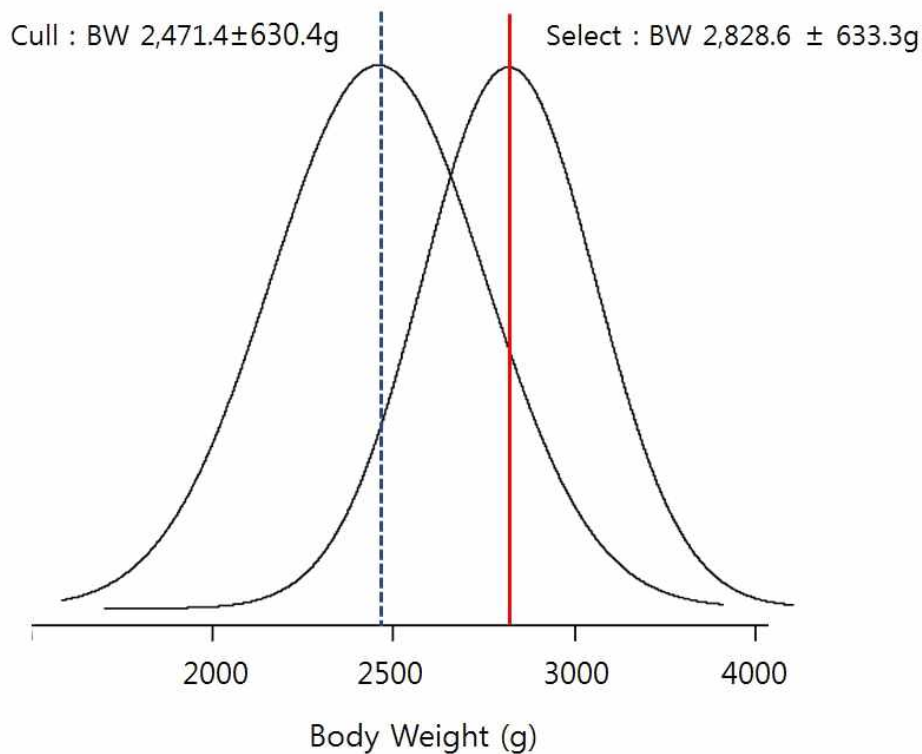
Selected-1 ♀		Selected-2 ♀		Non-selected 1 ♀		Non-selected 2 ♀	
Male	% survival	Male	% survival	Male	% survival	Male	% survival
S-1 ♂	85.45	S-1 ♂	93.98	S-1 ♂	80.91	S-1 ♂	87.27
S-2 ♂	84.55	S-2 ♂	92.86	S-2 ♂	79.09	S-2 ♂	88.18
NS-1 ♂	81.82	NS-1 ♂	92.22	NS-1 ♂	82.73	NS-1 ♂	84.55
NS-2 ♂	94.00	NS-2 ♂	93.18	NS-2 ♂	84.55	NS-2 ♂	82.73
Mean S	85.0	Mean S	93.4	Mean S	80.0	Mean S	87.7
Mean NS	87.9	Mean NS	92.7	Mean NS	83.6	Mean NS	83.6
Total mean	86.5	Total mean	93.1	Total mean	81.8	Total mean	85.7

[Trial II]

1. 기초집단에서 선발 개체 확보

(1) 유전자표지 기반 친어 선발

통영 MRC에서 사육관리 중인 6년생 참돔을 기초집단으로 하여 유전자표지를 적용하여 선발한 결과는 그림 3에 나타내었다. 총 372마리(평균 체중 2,645.4±608.6g) 중 선발 개체수는 132마리(평균 체중 2,828.6±633.3g, 6년생 기준)였다.



	Founder	Select	Cull
Number of individuals	372	132	240
Mean Body Weight	2,645.4	2,828.6	2,471.4
% Selected		35.5	

그림 3. 참돔 표지 선발 친어집단의 체중분포.

선발한 개체는 통영 MRC와 경남수산자원연구소의 사육시설(해상가두리와 육상수조)에 수용하였으며, 일부는 후대생산, 제2차 생산력 조사 등 분석에 사용하였다. 체중과 개체식별을 위한 RFID number는 표 6에 나타내었다.

표 6. 참돔 표지 선발 친어별 체중과 RFID 번호(6년생 132 마리)

Body weight (g)	Sex	RFID No.	Body weight (g)	Sex	RFID No.
4310	♂	00063BB884	3550	♂	00063BCA7E
4350	♂	00063BA67E	3300	♂	0006FE0CF8
4250	♂	00063BB28E	3750	♂	00063B7255
3850	♂	00063BA7F6	3600	♀	00063BD6DD
3870	♀	0006382FB9	3150	♀	0006FE0F41
3850	♂	00063BB5BC	2870	♀	0006FB8238
3690	♀	00063BB9E0	3450	♀	0006381427
4250	♀	00063BCFDF	3190	♂	0006FE0A0B
4250	♂	00063BA99C	3150	♂	0006BD31E
3950	♂	00063BC174	3400	♂	00063BB6BC
3950	♂	00063BB12D	2850	♂	0006382347
3950	♂	00063BB084	2960	♂	0006FDDDC9
4600	♀	00063BFC80	2580	♀	0006FDEE89
3780	♀	00063BD811	3100	♀	0006FB91BC
3310	♂	00063B1A4F	2950	♀	00063BB36F
3640	♀	0006391D92	2950	♀	00063BBF7B
3250	♂	0006FDE8C0	3200	♂	00063BCAA7
3400	♀	0006FDF234	2540	♂	0006FDE597
3550	♂	00063BCD90	3550	♂	0006FDF9C3
3550	♂	00063BCA7E	2850	♀	0006FE07BE
3300	♂	0006FE0CF8	2830	♀	0006FDE493
3750	♂	00063B7255	3650	♂	0006382025
3600	♀	00063BD6DD	2850	♀	00063809D6
3150	♀	0006FE0F41	2950	♀	0006FDFA4F
2870	♀	0006FB8238	2950	♀	00063BAB99
3450	♀	0006381427	3050	♂	00063BCE61
3190	♂	0006FE0A0B	3400	♂	00063B89A1
3150	♂	0006BD31E	2280	♂	0006FE4721
3400	♂	00063BB6BC	3100	♀	00063BE86A
3550	♂	00063BCD90	2850	♂	0006FDDBA5
2150	♂	00063BD10E	2300	♂	000637F15A
2550	♀	00063C15D0	2050	♀	00063B87FE
2150	♀	00063ABF03	2350	♀	00063BCB8B
2050	♂	00063BD8BD	2400	♂	00063BCE54
1920	♀	0006FE0A82	2150	♀	0006FE0AE6
2250	♀	00063BBFA4	2100	♂	0006FE266C

표 6. 계속

Body weight (g)	Sex	RFID No.	Body weight (g)	Sex	RFID No.
2680	♂	0006FDFC85	2550	♂	0006FDFEA6
3250	♀	0006383D26	2610	♀	0006FE083C
3200	♂	00063C00C4	2550	♀	00063BA723
2970	♀	00063BFEEA	2550	♀	00063B7A22
3450	♀	00063BD6B4	2850	♀	000638298A
2510	♀	0006FE3DEB	2650	♂	00063B03F9
2930	♀	0006F934D1	2350	♂	00063BCB47
2640	♂	0006FDF827	2720	♀	0006FDFFB1
3150	♂	00063BCEB7	2250	♀	00063BD1B5
3250	♂	00063AD780	2550	♀	00063BA840
2700	♂	00063BBA40	2550	♂	0006FDF944
2930	♂	0006FD8F8F	2500	♂	00063BEE9A
2750	♂	0006383CE4	2250	♂	0006FE0F98
2950	♂	00063BB4B7	2490	♀	0006FDEE87
2660	♂	0006FDFBF3	2350	♀	0006FDF8B5
3450	♂	00063BD6CE	2350	♀	00063BE4DC
2950	♂	00063BBA97	2300	♀	00063BCD9D
2400	♂	0006FE2459	2750	♀	0006F94794
2750	♀	00063BC844	2450	♂	00063BC88E
2950	♀	00063800EE	1890	♂	0006FDDA1B
2800	♂	000637E719	2300	♀	0006FD71B
2870	♂	0006FDF098	2250	♂	0006FE0D5F
3450	♂	000637EB19	3000	♀	000637F3FC
3000	♀	00063BA770	2250	♂	00063BD8E2
2840	♀	0006FB967B	2100	♀	0006FE091C
2400	♀	0006FE24DE	2550	♂	00063BD4AA
2520	?	0006FE34D1	2300	♂	0006381DC6
2220	♂	0006FE07BD	2100	♂	0006FDD845
2380	♀	0006FDD7F6	2050	♀	0006FDE8B7
2460	♂	0006F93995	2070	♂	0006FDEF08
2450	♂	0006FDE8B8	2050	♀	0006FE0F9B
2100	♂	0006FE3F82	1640	♀	0006FDDE33
1750	♀	00063C04DF	1900	♂	0006FDDC11
2650	♀	00063bebe3	1950	♂	00063BC559
1860	♀	0006F93A1E	1850	♂	00063BC3B5
2450	♂	00063C0B0F	2300	♂	00063B76EB

(2) 유전자표지 기반 친어 선발로부터 후대생산 및 자손검정

가. 후대생산을 위해 사용한 선발과 비선발 친어군의 평균 체중

유전자표지를 적용하여 선발한 친어집단(표 6)의 선발 효용성을 검증하기 위하여 산업적 규모의 시설에서 후대 생산을 시도하였다. 친어 크기에 따른 선발효과를 방지하기 위해 선발과 비선발 친어군의 체중을 유사하게 선별하였으며, 평균 체중은 선발친어 2,600.0±437.2g 그리고 비선발친어 2,639.4±419.8g 이었다(표 7).

표 7. 후대생산 및 자손검정을 위해 사용한 선발과 비선발 친어집단의 평균체중

	Brooder strain	
	Selected	Non-selected
Mean body weight (g)	2,600.0±437.2 (n=41)	2,639.4±419.8 (n=41)

나. 선발과 비선발 친어군으로부터 생산한 자손의 성장

그림 3의 선발 친어군 중 41마리를 선택하여 생산한 자손의 체중은 1.5개월령에 유의한 차이는 없었으나, 5개월령에는 선발친어군 자손이 22.3g으로 비선발친어군 자손(19.2g)에 비해 유의하게 높은 값을 보였다(P<0.05). 이에 따른 SGR (specific growth rate)은 총 사육기간 동안 선발 친어군의 자손이 4.54%/day로서 비선발 친어군의 자손(4.39%/day)에 비해 높았다(표 8).

표 8. 선발과 비선발 친어군으로부터 생산한 자손의 5개월 동안의 성장특성

Age (months)	Brooder strain	
	selected	non-selected
Body weight		
1.5	0.19±0.09	0.18±0.09
5	22.3±3.07	19.24±4.01
Specific growth rate (SGR, %/day)		
1.5-5	4.54	4.39

3. 유전자표지를 적용하여 선발한 친어의 번식생리 특성평가

(1) 선발과 비선발 친어의 생식소 속도 지수

자연 산란이 진행 중인 시기에 통영 MRC에서 사육 중인 암컷 친어의 생식소 속도 지수(GSI)는 선발 암컷 친어군이 4.15 ± 1.05 , 비선발 암컷 친어군이 4.11 ± 0.93 으로서 유의한 차이는 없었다(표 12).

표 12. 자연 산란기 동안 선발과 비선발 친어 암컷의 생식소 속도지수

	mid-spawning season	
	selected	non-selected
Gonadosomatic index	4.15 ± 1.05 (n=10)	4.11 ± 0.93 (n=10)

(2) 자연교배를 통한 번식 특성 조사

가. 수정란 생산량

선발 친어로부터 69일간 총 117,240ml, 비선발 친어로부터 70일간 총 114,380ml 생산되었으며(그림 5, 표 13), 일간 생산량은 선발 친어군이 1,699.1ml, 비선발 친어군이 1,657.7ml, 암컷 마리당 생산량은 선발 친어군이 4,689.6ml, 비선발 친어군이 4,575.2ml, 암컷 단위체중(kg) 당 생산량은 선발 친어군이 653.8ml, 비선발 친어군이 628.7ml이었다(그림 5).

나. 수정란 크기, 유구 수 및 미세흑포 함유 비율

수정란의 크기는 선발 친어군이 0.97 ± 0.12 mm, 비선발 친어군이 0.97 ± 0.11 mm이었으며(표 14), 수정란의 난질을 파악하는 요소로서 유구수와 미세흑포 출현률은 선발 친어군이 각각 1.01 ± 0.04 개와 56.7%로서 비선발 친어군과 차이는 없었다.

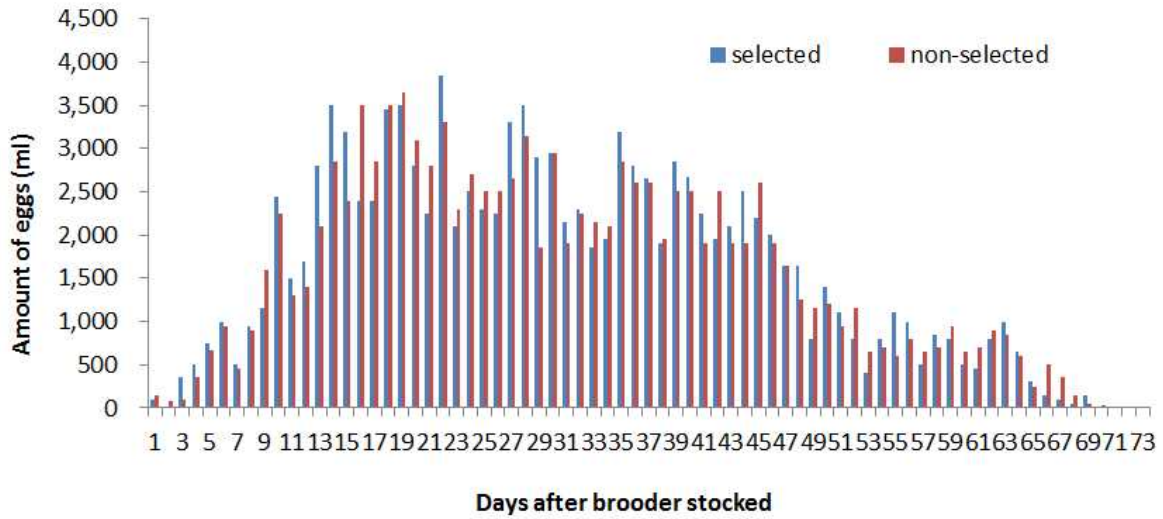


그림 5. 선발과 비선발 참돔의 자연교배시 일간 수정란 생산량 변화.

표 13. 참돔 선발과 비선발 친어군의 자연교배에 의한 수정란 생산량

	Spawning Season	
	selected	non-selected
Eggs production Duration	69	70
Amount of fertilized eggs produced (ml)	117,240	114,380
per day	1,699.1	1,657.7
per female brooder	5,862	5719
per female body weight (kg) / day	653.8	628.7

다. 수정란의 부화율 및 부화자어의 크기

70일간 수집한 수정란 중 7일 간격으로 10회에 걸쳐 부화율을 조사한 결과, 선발 친어군(평균 89.7±5.9%)과 비선발 친어군(90.0±5.3%)간 유의한 차이는 없었다(Table 8). 부화자어의 크기는 선발 친어군에서 생산된 수정란의 부화자어가 2.71±0.13mm로서 비선발 친어군(2.72±0.11mm)과 차이가 없었다(표 15).

표 14. 선발과 비선발 친어집단으로부터 자연교배를 통해 생산한 수정란의 난경, 유구 수 그리고 미세흑포 수

	spawning season	
	selected	non-selected
Egg diameter (mm)	0.97±0.12	0.97±0.11
Number of oil globule	1.01±0.04	1.02±0.03
Appearance of minute black spot (%)	56.7	55.3

표 15. 선발과 비선발 친어집단으로부터 자연교배를 통해 생산한 수정란의 부화율과 부화자어의 크기

	Spawning season	
	Selected	Non-selected
Hatching rate (%)	89.7±5.9	90.0±5.3
Total length (mm)	2.71±0.13	2.72±0.11

라. 초기생존율(부화 후 58일)

종묘생산 기간(58일) 동안 입식한 수정란 수 대비 생산된 종묘수를 통해 구한 초기 생존율은 선발 친어군이 평균 16.4%(trial I 17.3%, trial II 15.6%), 비선발 친어군이 16.7%(trial I 20.0%, trial II 13.4%)로서, 두 선발 친어군간 차이는 없었다(표 16).

표 16. 선발과 비선발 친어집단으로부터 자연교배를 통하여 생산한 후대의 종묘생산 기간(60일) 동안의 생존율

	Spawning Season			
	Selected		Non-selected	
	trial I	trial II	trial I	trial II
Number of fertilized eggs stocked	550,000	500,000	550,000	500,000
Number of fish produced	95,000	78,000	110,000	67,000
Survival rates (%)	17.3	15.6	20.0	13.4

(3) 인공교배를 통한 번식 특성 조사

가. 수정율, 발생율 및 부화율

선발 친어군과 비선발 친어군간 개체별 번식력 차이를 조사하기 위하여 표 17의 선발과 비선발 친어를 사용하여 4우×4♂인공 교배를 실시하여 수정율과 부화율을 조사한 결과는 그림 6에 나타내었다.

선발 암컷 친어 3(S-3우)을 대상으로 선발 수컷 친어(S-3♂, S-4♂)와 인공 수정시킨 경우의 평균 수정율과 평균 부화율은 각각 64.5%, 56.5%, 비선발 수컷 친어(NS-3♂, NS-4♂)와 인공 수정시킨 경우 각각 62.8%, 57.7%였다(Fig. 4). 선발 암컷 친어 4(S-4우)를 대상으로 선발 수컷 친어(S-3♂, S-4♂)와 인공 수정시킨 경우의 수정율과 부화율은 각각 71.0%, 65.5%, 비선발 수컷 친어(NS-3♂, NS-4♂)와 인공 수정시킨 경우 각각 72.4%, 65.5%였다. 비선발 암컷 친어 3(S-3우)을 대상으로 선발 수컷 친어(S-3♂, S-4♂)와 인공 수정시킨 경우의 수정율과 부화율은 각각 65.8%, 51.9%, 비선발 수컷 친어(NS-3♂, NS-4♂)와 인공 수정시킨 경우 각각 평균 63.3%, 53.5%였다. 비선발 암컷 친어 4(S-4우)를 대상으로 선발 수컷 친어(S-3♂, S-4♂)와 인공 수정시킨 경우의 수정율과 부화율은 각각 59.8%, 52.1%, 비선발 수컷 친어(NS-3♂, NS-4♂)와 인공 수정시킨 경우 각각 평균 59.7%, 50.5%였다. 이상의 인공 수정 시도 결과에서, 수정율과 부화율은 두 집단이 유전적이 차이 보다 암컷의 난질에 영향을 받는 경향을 보였다.

나. 초기생존율(난황 흡수기, 부화 후 72시간)

선발과 비선발 친어간 4우×4♂인공 교배를 통하여 수정된 알로부터 부화한 자어를 대상으로 난황이 거의 흡수되는 부화 후 72시간 초기 생존율을 조사한 결과, 암컷의 난질에 따라 영향을 받는 경향을 보였으나 선발과 비선발간 유전적 요인에 따른 차이는 관찰되지 않았음(표 18).

표 17. 참돔 선발과 비선발 친어의 인공교배를 통한 번식 특성 조사를 위해 사용한 암컷과 수컷 친어의 프로필

♀	TL	SL	BW	Fatness	ID serial no.	line
# 1	61.4	50.2	3550	2.8062	00063BCD90	Selected
# 2	53.0	42.4	2100	2.7550	0006FDD71B	Selected
# 3	49.7	39.5	2050	3.3263	00063BB1A9	Non-selected
# 4	49.9	38.5	1750	3.0666	00063BB282	Non-selected
♂	TL	SL	BW	Fatness	ID serial no.	line
# 1	58.8	48.4	3550	3.1311	0006FDF9C3	Selected
# 2	50.6	43.0	2250	2.8299	0006FDE8B8	Selected
# 3	53.0	43.1	2200	2.7478	00063848D5	Non-selected
# 4	52.2	43.6	2400	2.8957	00063BA2E8	Non-selected

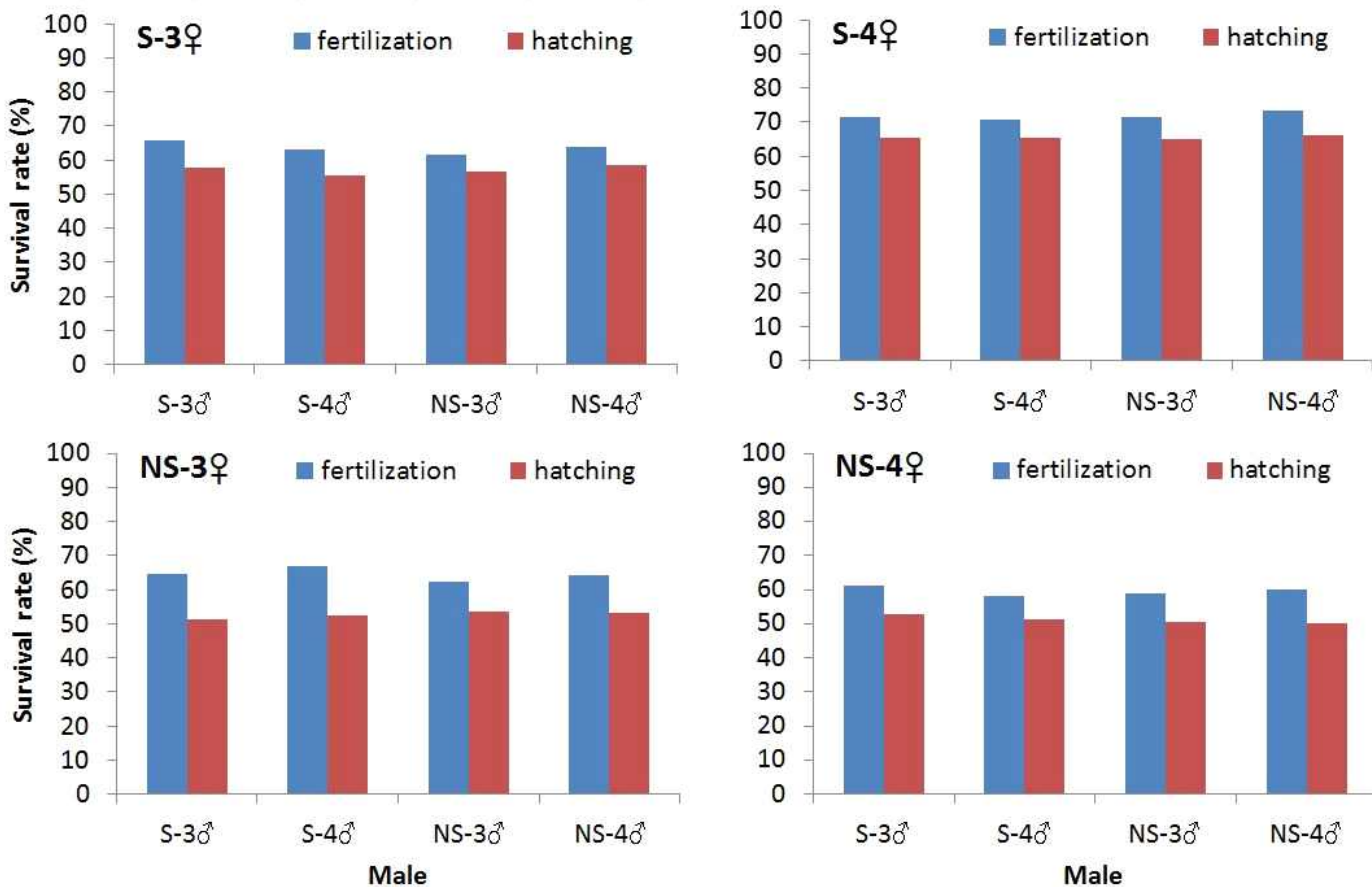


그림 6. 참돔 선발과 비선발 친어의 인공교배 시 수정율과 부화율.

표 18. 참돔 선발과 비선발 친어의 인공교배를 통하여 생산한 수정란의 난황 흡수기 동안(72시간)의 초기생존율

Selected-1♀		Selected-2♀		Non-selected 1♀		Non-selected 2♀	
Male	% survival	Male	% survival	Male	% survival	Male	% survival
S-1♂	60.3	S-1♂	63.4	S-1♂	58.4	S-1♂	43.2
S-2♂	62.4	S-2♂	62.2	S-2♂	60.1	S-2♂	38.7
NS-1♂	61.0	NS-1♂	62.3	NS-1♂	58.3	NS-1♂	54.3
NS-2♂	63.8	NS-2♂	60.7	NS-2♂	61.4	NS-2♂	50.2
Mean S	61.35	Mean S	62.8	Mean S	59.25	Mean S	40.95
Mean NS	61.7	Mean NS	62.25	Mean NS	59.2	Mean NS	46.5
Total mean	61.875	Total mean	62.15	Total mean	59.55	Total mean	46.6

제3장 연구개발 결과의 활용계획

참고문헌

- Ankorion, Y., 1966. Investigation on the heredity of some morphological traits in the common carp, *Cyprinus carpio* : Ph. D. Thesis, The Hebrew University, Israel.
- AOAC. 1990. Official methods of analysis. 15th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, Virginia, USA. 1298 p.
- Arnault, F., Etienne, J., Noe, L., Raisonnier, A., Brault, D., Harney, J. W., Berry, M. J., Tse C., Fromental-Ramain, C., Hamelin, J. and Galibert, F. 1996. Human lipoprotein lipase last exon is not translated, in contrast to lower vertebrates. *J. Mol. Evol.*, 43:109-115.
- Bakos, J. and S. Gorda., 1995. Genetic improvement of common carp strains using intraspecific hybridization, *Aquaculture*, 129:183-186.
- Ballestrazzi, R., D. Lanari, E. D'Agaro, and A. Mion, 1994. The effect of dietary protein level and source on growth, body composition, total ammonia and reactive phosphate excretion of growing sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquaculture*, 127:197-206.
- Bi, N., F. Wang, X. Zhao and L. Huanliang, 1998. The oxygen consumption and energy metabolism of *Chrysophrys major*. *J. Shanghai Fish. Uni.* 7:154-158 (in Chinese, with English abstract).
- Biswas, A.K., M. Endo, and T. Takeuchi, 2002. Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of both fed and unfed young tilapia *Oreochromis niloticus*: Part I. *Fish. Sci.*, 68:465-477.
- Biswas, A.K. and T. Takeuchi, 2002. Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of fed and unfed adult tilapia *Oreochromis niloticus*: Part II. *Fish. Sci.*, 68:543-553.
- Brett, J.R. and C.A. Zala, 1975. Daily pattern of nitrogen excretion and oxygen consumption of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) under controlled conditions. *J. Fish. Res. Board Canada*, 32:2479-2486.
- Brett, J.R. and T.D.D. Groves, 1979. Physiological energetics. In: Hoar, W.H., Randall, D.J. Brett, J.R. (Eds.), *Bioenergetics and Growth, Fish Physiology*. vol 8. Academic Press, New York. pp. 279-352.

- Burel, C., J. Person-Le Ruyet, F. Gaumet, A. Le Roux, A. Sèvre, and G. Boeuf, 1996. Effects of temperature on growth and metabolism in juvenile turbot. *J. Fish. Biol.*, 49:678-692.
- Cataldi, E., Marco, P.D., Mandich, A and S. Cataudella. 1998. Serum parameters of Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* (Pisces: Acipenseriformes): effects of temperature and stress. *Com. Bio. Phy. Part A*, 121:351-354.
- Caulton, M.C., 1977. The effect of temperature on routine metabolism in *Tilapia rendalli Boulenger*. *J. Fish Biol.*, 11:549-553.
- Chakraborty, S.C, K.G. Ross, and B. Ross, 1992. The effect of photoperiod on the resting metabolism of carp (*Cyprinus carpio*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 101A:77-82.
- Chambers, J.R., J.S. Gavora and A. Fortin, 1981. Genetic changes in meat-type chickens in the last twenty years. *Can. J. Anim. Sci.*, 61:555-563.
- Conover, R.J., 1966. Assimilation of organic matter by zooplankton. *Limnol. Oceanog.*, 11:338-345.
- Cooper, D. A., Stein, J. C., Strieleman, P. J. and Bensadoun, A. 1989. Avian adipose lipoprotein lipase: cDNA sequence and reciprocal regulation of mRNA levels in adipose and heart. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1008:92-101.
- Crawford, R.D., 1990. *Poultry Breeding and Genetics*. Elsevier, Amsterdam.
- Cui, T. and R.J. Wootton, 1988. Bioenergetics of growth of a cyprinid, *Phoxinus phoxinus*: the effect of ration, temperature and body size on food consumption, faecal production and nitrogenous excretion. *J. Fish Biol.*, 33:431-443.
- Danzmann, R.G., M.M. Ferguson and F.W. Allendorf, 1987. Heterozygosity and oxygen-consumption rate as predictors of growth and developmental rate in rainbow trout. *Physiol. Zool.*, 60:211-220.
- Dobson, S.H. and R.M. Holmes, 1984. Compensatory growth in the rainbow trout, *Salmo gairdneri Richardson*. *J. Fish Biol.*, 25:649-656.
- Dosdat, A., F. Sevais, R. Metailler, C. Huelvan, and E. Desbruyeres, 1996. Comparison of nitrogenous losses in five teleost fish species. *Aquaculture*, 141:107-127.
- Dosdat, A., R. Metailler, E. Desbruyeres and C. Huelvan, 1997. Comparison of brown trout reared in fresh water and sea water to fresh water rainbow trout: I. Growth and nitrogen balance. *Aquatic Living Resour.*, 10:157-167.
- Doyle, R.W. and A.J. Talbot, 1986. Artificial selection on growth and correlated selection

- on competitive behavior in fish. *Can. J. Fish. Aquat. sci.* 43:1059-1064.
- Dunham, R.A. and R.E. Brummett, 1999. Response of Two Generations of Selection to Increased Body Weight in Channel Catfish, *Ictalurus punctatus*, Compared to Hybridization with Blue Catfish, *I. furcatus*, Males. *J. Appl. Aquacult.* 9:37-45
- Dunham, R.A. and R.O. Smitherman, 1983. Crossbreeding channel catfish for improvement of bodyweight in earthen ponds. *Growth*, 47:97-103
- Dunham, R.A., 1996. Contribution of genetically improved aquatic organism to global food security. International conference on sustainable contribution of fisheries to food security. Government of Japan and FAO, Rome, 150pp.
- Dunham, R.A., K. Majumdar, E. Hallerman, D. Bartley, G. Mair, G. Hulata, Z. Liu, N. Pongthana, J. Bakos, D. Penman, M. Gupta, P. Rothlisberg and G. Hoerstgen-Schwark. 2001. Review of the status of aquaculture genetics. In: *Proceedings of the Conference on Aquaculture in the Third Millennium*. Subasinghe, R.P., P. Bueno, M.J. Phillips, C. Hough, S.E. McGladdery and J.E. Arther, eds. NACA/FAO. Bangkok and Rome, pp.137-166.
- Durbin, E.G. and A.G. Durbin. 1981. Assimilation efficiency and nitrogen excretion of a filter feeding planktivore, the Atlantic menhaden, *Brevoortia tyrannus* (Pisces: Clupeidae). *Fish. Bull.*, 79:601-616.
- Elliott, J.M., 1976. The energetics of feeding, metabolism and growth of brown trout, *Salmo trutta*, in relation to body weight, water temperature and ration size. *J. Anim. Ecol.*, 45:923-948.
- Elvingston, P. and K. Johansson, 1993. Genetic and environmental components of variation in body traits of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) in relation to age. *Aquaculture*, 118:191-204.
- Enerback, S. and Bjursell, G. 1989. Genomic organization of the region encoding guinea pig lipoprotein lipase; evidence for exon fusion and unconventional splicing. *Gene*, 84:391-397.
- Folmar LC. 1993. Effects of chemical contaminants on blood chemistry of teleost fish : A bibliography and synopsis of selected effects. *Environ. toxicol. Chem.* 12:337-375.
- Gjedrem, T. 1997. Selective breeding to improve aquaculture production. *World Aquacult.*, 22:33-45.
- Gjedrem, T., 1979. Selection for growth and domestication in Atlantic salmon, *Z.*

- Tierzuch. Zuchtungsbiol., 96:56-59.
- Gjedrem, T., 1997. Selective breeding to improve aquaculture production. *World Aquacult.*, 22:33-45.
- Gjedrem, T., 2000. Genetic improvement of cold-water fish species. *Aquaculture Research*, 31:25-33.
- Gjerde, B. and L.R. Schaeffer, 1989. Body traits in rainbow trout. 2. Estimates of heritabilities and of phenotypic and genetic correlations. *Aquaculture*, 80:25-44.
- Gjerde, B., 1986. Growth and reproduction in fish and shellfish. *Aquaculture*, 57:37-55.
- Grisdale-Helland, B. and S.J. Helland, 1998. Macronutrient utilization by offspring from wild and selected Atlantic salmon. p. 221-224. In: *Energy metabolism of Farm Animals*. eds by K.J. McCracken, E.F. Unsworth, A.R.G. Wylie. CAB International, Oxon, UK.
- Gunnes, K. and T. Gjedrem, 1981. A genetic analysis of body weight and length in rainbow trout reared in sea water for 18 months. *Aquaculture*, 24:161-174.
- Handy, R.D. and M.G. Poxton, 1993. Nitrogen pollution in mariculture: toxicity and excretion of nitrogenous compounds by marine fish. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 3:205-241.
- Harikrishanan, R., Rani, C. and C. Balasundaram. 2003. Haematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophyla* infection. *Aquaculture*, 221:41-50.
- Harvenstein, G., P.R. Ferket, S.E. Scheideler and D.V. Rives, 1994. Carcass composition and yield of 1991 vs. 1957 broilers when fed 'typical' 1957 and 1991 broiler diets. *Poultry Science*, 73:1795-1804.
- Hershberger, W.K., J.M. Myers, R.N. Iwamoto, W.C. Macauley and A.M. Saxton. 1990. Genetic changes in growth of coho salmon in marine net pens, produced by ten years of selection. *Aquaculture*, 85:187-197.
- Hrubec, T. and S.A. Smith. 1999. Differences between plasma and serum samples for the evaluation of blood chemistry values in rainbow trout, channel catfish, hybrid tilapias, hybrid striped bass. *J. Aqua. Anim. Heal.*, 11:116-122.
- Jobling, M., 1981. Some effects of temperature, feeding, and body weight on nitrogenous excretion in young plaice, *Pleuronectes platessa* L. *J. Fish Biol.*, 18:87-96.
- Jobling, M., 1994. *Fish Bioenergetics*. Chapman & Hall, London.

- Jobling, M., O.H. Meloy, J. Dos Santos and B. Christiansen, 1994. The compensatory growth response of the Atlantic cod: effects of nutritional history. *Aquat. Int.*, 2:75-90.
- Jonassen, T.M., A.K. Imsland, S. Kadowaki, and S.O. Stefansson, 2000. Interaction of temperature and photoperiod on growth of Atlantic halibut *Hippoglossus hippoglossus* L. *Aquacult. Res.*, 31:219-227.
- Kaushik, S.J. and C.B. Cowey, 1991. Dietary factors affecting nitrogen excretion by fish. p. 37-50. In: *Nutritional Strategies & Aquaculture Waste*. eds. by C.B. Cowey and C.Y. Cho. Univ. Guelph. Canada.
- Kaushik, S.J., 1980. Influence of nutritional status on the daily patterns of nitrogen excretion in carp (*Cyprinus carpio* L.) and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Reprod. Nutr. Dev.*, 20:1751-1765.
- KFYB (Korean Fisheries Year Book). 2004. Korea Fisheries Society, Korea, pp. 476. (in Korean)
- Kim, I.N., Y.J. Chang, and J.Y. Kwon, 1995. The patterns of oxygen consumption in six species of marine fish. *J. Korean Fish. Soc.*, 28:373-381.
- Kinbb, W., et al., 1997. Selection for growth in the gilthead sea bream. *Israel J. of Aquaculture (Bamidgeh)*, 49:57-66.
- Kinbb, W., G. Gorshkova and S. Gorshkov, 1997. Selection for growth in the gilthead sea bream. *Israel J. of Aquaculture (Bamidgeh)*, 49:57-66.
- Kincaid, H.L., 1983. Results from six generation of selection for accelerated growth rate in a rainbow trout population. *The future of aquaculture in North America (Abstract)*, p. 26-27. *Fish. Cult. Sect.*, American Fisheries Society.
- Kincaid, H.L., W.R. Bridges and B. Von Limbach. 1977. Three generations of selection for growth rate in fall spawning rainbow trout. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 106:621-625.
- Knibb, W., 2000. Genetic improvement of marine fish - which method for industry? *Aquacult. Res.*, 30:11-23.
- Lee, C.S., C.H. Kim, K.Y. Park, K.E. Hong and K.K. Baik, 2001. Growth, respiration and assimilation efficiency of fingerling of chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *Bull. Nat'l Fish. Res. Devel. Inst.*, 59:40-145 (in Korean).
- Lee, S., Lee, J.H. and K. Kim. 2003. Effect of dietary essential fatty acids on growth, body composition and blood chemistry of juvenile starry flounder (*Palulichthys*

- stellatus*). Aquaculture, 225:269-281.
- Leung, K.M.Y., J.C.W. Chu, and R.S.S. Wu, 1999. Effects of body weight, water temperature and ration size on ammonia excretion by the areolated grouper (*Epinephelus areolatus*) and mangrove snapper (*Lutjanus argentimaculatus*). Aquaculture, 170:215-227.
- Li, M.H., E.H. Robinson, and W.R. Wolters, 1998. Evaluation of three strains of channel catfish *Ictalurus punctatus* fed diets containing three concentrations of protein and digestibility. J. World Aquacult. Soc., 29:155-160.
- Lovell, T., 1989. Nutrition and Feeding of Fish. Van Nostrand Reinhold, New York, 260 pp.
- Lyytikainen, T. and M. Jobling, 1998. The effects of temperature fluctuations on oxygen consumption and ammonia excretion of underyearling Lake Inari Arctic charr. J. Fish. Biol., 52:1186-1198.
- McDonald DG and CL Milligan. 1992. Chemical properties of the blood. pp. 133. In: Fish Physiology (Hoar WS, DJ Randall and AP Farrell, eds.) Academic press, San Diego.
- McMillian, I., R.W. Fairfull, R.S. Gowe and J.S. Gavora, 1990. Evidence for genetic improvement of layer stocks of chickens during 1950-80. World's Poult. Sci. J., 46 : 235-245.
- Menard C, Brousseau R, Mouton C. 1992. Application of polymerase chain reaction with arbitrary primer (AP-PCR) to strain identification of *Porphyromonas (Bacteroides) gingivalis*. FEMS Microbiol Lett. Aug 15;74(2-3):163-8.
- Ming, F.W., 1985. Ammonia excretion rate as an index for comparing efficiency of dietary protein utilization among rainbow trout (*Salmo gairdneri*) of different strains. Aquaculture, 46:27-35.
- Murata, O., S. Miyashita, K. Izumi, S. Maeda, K. Kata, and H. Kumai, 1996. Selective breeding for growth in red sea bream. Fish. Sci., 62:845-849.
- New, M.B., 1999. Global aquaculture : Current trends and challenges for the 21century. World Aquaculture, March (1):63-79.
- Nilsson-Ehle, P., Garfinkel, A. S. and Schotz, M. C. 1980. Lipolytic enzymes and plasma lipoprotein metabolism. Annu. Rev. Biochem., 49:667-693.
- Noh, C.H., K.P. Hong, S.Y. Oh, H.J. Choi, Y.J. Park, J.G. Myoung, and J.M. Kim, 2002.

- Selection and intraspecific hybrid for growth in the red sea bream (Abstract). p. 41-42.. In: Proceedings of 2002 Korea-Japan Joint Symposium on Aquaculture, Kunsan, Korea. October 10-13. Korean Aquacult. Soc.
- Ogata, H.Y., H. Oku, and T. Murai, 2002a. Growth performance and macronutrient retention of offspring from wild and selected red sea bream (*Pagrus major*). *Aquaculture*, 206:279-287.
- Ogata, H.Y., H. Oku, and T. Murai, 2002b. Growth, feed efficiency and feed intake of offspring from selected and wild Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Aquaculture*, 211:183-193.
- Ogino, C., J. Kakino, and M.S. Chen, 1973. Protein nutrition in fish - II. Determination of metabolic fecal nitrogen and endogenous nitrogen excretion of carp. *Bull. Japanese Soc. Sci. Fish.*, 39:519-523.
- Oh, S.Y. 2001. Nitrogen loading rate of nile tilapia and nitrification rate of rotating biological contactor. Korea. Ph.D. Thesis, Pukyong National University. 155 pp.
- Okamoto, N. et al., 1993. Resistant of a rainbow trout strain to infectious pancreatic necrosis. *Aquaculture*, 117:71-76.
- Oku, H., Ogata, H. Y. and Liang, X. F. 2002. Organization of the lipoprotein lipase gene of red sea bream *Pagrus major*. *Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol.*, 131:775-785.
- Padi, J.N., 1995. Response and correlated response to four generation of selection for increased body weight in the Kansas strain channel catfish growth in earthen ponds. Ph. D. Thesis. Auburn University, US.
- Peck, M.A., L.J. Buckley, and D.A. Bengtson, 2004. Inter-individual differences in rates of routine energy loss and growth in young-of-the-year juvenile Atlantic cod. *J. Fish Biol.*, 64:984-995.
- Peruzzi, S., Varsamos, S., Chatain, B., Fauvel, C., Menu, B., Falguiere, J., Severe, A. and G. Flik. 2005. Haematological and physiological characteristics of diploid and triploid sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., *Aquaculture*, 244:359-367.
- Porter, C.B., M.D. Krom, M.G. Robbins, L. Brickell, and A. Davidson. 1987. Ammonia excretion and total N budget for gilthead sea bream (*Sparus aurata*) and its effect on water quality conditions. *Aquaculture*, 66:287-297.
- Rezk, M.A., R.O. Smitherman, J.C. Williams, A. Nichols, H. Kucuktas, R.A. Dunham,

2003. Response to three generation of selection for increased body weight in channel catfish, grown in earthen ponds. *Aquaculture*, 228: 69-79.
- Roche , H. and G. Boge. 2000. In vivo effects of phenolic compounds on blood paramaters of a marine fish (*Dicentrarchus labrax*). *Com. Bio. Phy. Part C*, 125:345-353.
- Ross, L.G., and R.W. McKinney, 1988. Respiratory cycles in *Oreochromis niloticus* (L.) measured using a six-channel microcomputer-operated respirometer. *Comp. Biochem. Physiol.*, 89:637-643.
- Rueda, F.M. F.J. Martinez, M. Kentouri and P. Divanach, 1998. Effect of fasting and refeeding on growth and body composition of red porgy, *Pagrus pagrus* L. *Aquat. Res.* 29:447-452.
- Russell, N.R. and R.J. Wootton, 1992. Appetite and growth compensation in the European minnow, *Phoxinus phoxinus* (Cyprinidae) following short periods of food restriction. *Environ. Biol. Fish.*, 34:277-285.
- Rye, M. and B. Gjerde, 1992. Phenotypic and genetic parameters of body composition traits and flesh color in Atlantic salmon. Ph. D. thesis. Agriculture University of Norway, 33 pp.
- Sadler, J., Wells, R.M.G., Pankhurst, P.M. and N.W. Pankhurst. 2000. Blood oxygen transport, rheology and haematological responses to confinement stress in diploid and triploid Atlantic salmon, *Salmo salar*. *Aquaculture*, 184:349-361.
- Semenkovich, C. F., Chen, S. H., Wims, M., Luo, C. C., Li, W. H. and Chan, L. 1989. Lipoprotein lipase and hepatic lipase mRNA tissue specific expression, developmental regulation, and evolution. *J. Lipid Res.*, 30:423-431.
- Strickland, J.D.G and T.R. Parsons, 1972. A practical handbook of seawater analysis. J. Fish. Board. Canada. 167, 310 pp.
- Taniguchi, N. and R. Perez-Enriquez, 2000. Genetic evaluation of brood stock for aquaculture of red sea bream by DNA markers. Recent advances in marine biotechnology vol. 4. *Aquaculture*, (eds) M. Fingerman and R. Nagabhushanam, Science Publishers, Inc. UK, pp.1-16.
- Taniguchi, N., S. Matsumoto, A. Komatsu and H. Yamanaka, 1995. Differences observed in qualitative and quantitative traits of fisve red sea bream strains propagated under the same rearing conditions. *Nipp. Suis. Gakkai...*, 61:717-726.

- Tave, D. 1993. Genetics for fish hatchery managers, Chapman and Hall, UK, 415 pp.
- Thodesen J., B. Grisdale-Helland, S.J. Helland, and B. Gjerde, 1999. Feed intake, growth and feed utilization of offspring from wild and selected Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 180:237-246.
- Valente, L.M.P., B. Fauconneau, E.F.S. Gomes, and T. Boujard, 2001. Feed intake and growth of fast and slow growing strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed by automatic feeders or by self-feeders. *Aquaculture*, 195:121-131.
- Vandeputte, M., 2003. Selective breeding of quantitative traits in the common carp (*Cyprinus carpio*): a review. *Aquat. Liv. Res.*, 16:399-407.
- Vangen, O., 1984. Framtidig avlsopplegg pa svin i en KS-situasjon (Future breeding in pigs in a situation with artificial insemination). *Aktuelt fra Statens fagteneste for landbruket* 1, 300-306, In Norwegian.
- Wang, Y., Y. Cui, Y. Yang and F. Cai, 2000. Compensatory growth in hybrid tilapia, *Oreochromis mossambicus* × *O. niloticus* reared in seawater. *Aquaculture*, 189:101-108.
- Watanabe, T., T. Takeuchi, and S. Satoh, 1988. Studies on evaluation methods for dietary energy in fish. p. 1-100. In: Research report of grant-in-aid for scientific research. The Ministry of Education, Science and Culture of Japan.
- Welsh J, McClelland M. 1990. Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* Dec 25;18(24):7213-8.
- Wion, K. L., Kirchgessner, T. G., Lusi, A. J., Schotz, M. C. and Lawn, R. M. 1987. Human lipoprotein lipase complementary DNA sequence. *Science*, 235:1638-1641.
- Withey, K.G. and R.L. Saunders, 1973. Effect of reciprocal photoperiod regime on standard rate of oxygen consumption of postsmolt Atlantic salmon (*Salmo salar*). *J. Fish. Res. Board of Canada*, 30:1898-1900.
- Wolfarth, G. 1993. Heterosis for growth rate in common carp. *Aquaculture*, 113:31-46.
- Wuenschel, M.J., R.G. Werner and D.E. Hoss, 2004. Effect of body size, temperature and salinity on the routine metabolism of larval and juvenile spotted sea trout. *J. Fish Biol.*, 64:1088-1102.
- Xie, S., X. Zhu, Y. Cui, R.J. Wootton, W. Lei and Y. Yang, 2001. Compensatory growth in the gibel carp following feed deprivation: temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition. *J. Fish Biol.*, 58:999-1009.
- Yager, T.K. and R.C. Summerfelt, 1993. Effects of fish size and feeding frequency on

- metabolism of juvenile walleye. *Aquacult. Engineer.*, 12:19-36.
- Yang, S.D., C.H. Liou, and F.G. Liu, 2002. Effects of dietary protein level on growth performance, carcass composition and ammonia excretion in juvenile silver perch (*Bidyanus bidyanus*). *Aquaculture*, 213:363-372.
- Zhu, X., Y. Cui, M. Ali and R.J. Wootton, 2001. Comparison of compensatory growth responses of juvenile three-spined stickleback and minnow following similar food deprivation protocols. *J. Fish Biol.*, 58:1149-1165.
- 강주찬, 지정훈, 송승엽, 문상욱, 강지웅, 이영돈, 김세재. 2004. 양식장 배출물 발표물의 어류 사료 첨가에 따른 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 혈액학적 변동에 미치는 영향. *한국어병학회지*, 17:57-66.
- 김강웅, 박기영, 임영순, 김태우, 양재형, 박헌우, 배승철, 2003. 치어기 조피볼락의 사료 내 에너지와 단백질 함량에 따른 성장, 호흡 및 생태효율에 미치는 영향. *한국양식학회지*, 16:88-93.
- 김유희, 1999. 순환여과식 틸라피아 양식장에서의 산소 소비와 대기중 산소의 공급. 박사학위논문, 부경대학교, 124 pp.
- 심두생, 정승희, 이생동. 1995. *Staphylococcus epidermidis*에 자연감염된 양식 넙치 *Paralichthys olivaceus*의 혈액지수 변동. *수진원연구보고*, 49:149-155.
- 정승희, 심두생. 1992. 병원성 세균에 자연감염된 양식넙치에 대한 혈액학적 연구. *수진원연구보고*, 46:151-160.
- 조규석, 민은영, 강주찬. 2002. HCB와 PCBs에 노출된 나일틸라피아, *Oreochromis niloticus*의 혈액 성분 변화. *한국수산학회지*, 35:110-114.
- 최혜승, 박승렬, 정춘구. 2002. 저수온기 돛류의 녹간증 혈청성분. *한국어병학회지*, 15:43-48.