

난질과 유생발생을 이용한 4개 멧게(*Halocynthia roretzi*) 어미계군 특성 비교

허영백* · 김은경 · 임영섭 · 전창영 · 조기채 · 명정인¹

국립수산과학원 남동해수산연구소, ¹국립수산과학원 전략양식연구소 육종연구센터

Differences in Egg Quality and Larval Development among Four Populations of Sea Squirt *Halocynthia roretzi* Adults

Young-Baek Hur*, Eun-Kyung Kim, Young-Seob Lim, Chang-Young Jeon,
Kee-Chae Cho and Jeong-In Myeng¹

Southeast Sea Fisheries Research Institute, NFRDI, Tongyeong 650-943, Korea

¹Biotechnology Research Center, NFRDI, Geoje 650-943, Korea

To compare four populations of sea squirt *Halocynthia roretzi* adults, their egg quality and larval development were investigated in the hatchery. The populations were: south sea wild (SSW), south sea cultured (SSC), east sea wild (ESW) and Iwate Japan cultured (IJC). Egg quality and larval development were compared using 13 factors (fertilization rate and diameter, proximate composition, amino acid and fatty acid contents of eggs, hatching rate and various sizes of tadpole larvae) which were obtained from each population. Fertilized egg diameter, hatching rate and size of tadpole larvae were significantly different among the four populations ($P < 0.05$). Eggs were produced with higher crude protein ($5.20 \pm 0.00\%$ SSW, $4.71 \pm 0.01\%$ ESW, $4.66 \pm 0.01\%$ SSC and $3.96 \pm 0.01\%$ IJC) and lipid ($1.22 \pm 0.01\%$ ESW, $1.01 \pm 0.00\%$ SSW, $0.77 \pm 0.01\%$ SSC and $0.69 \pm 0.00\%$ IJC,) contents from domestic wild populations than from Japanese or cultured populations. Also amino acid and fatty acid contents were different. The extent of similarity between domestic and Japanese populations (30.5% IJC:SSW, 34.3% IJC:SSC and 40.7% IJC:ESW) was relatively low but was very high between SSW and SSC (73.9%). These results may have been due to differences in the abundance of food types and environmental conditions in the four localities and consequent differences in the diets of the sea squirts.

Keywords: Sea squirt, *Halocynthia roretzi*, Egg quality, population differences, Tadpole larvae, Similarity

서 론

전 세계적으로 멧게(*Halocynthia roretzi*) 양식은 극동 아시아 지역에서만 이루어지고 있고, 이 중 한국과 일본이 대부분을 생산하고 있다. 최근 양국의 생산량은 일본이 10,937톤, 한국이 7,208톤으로 일본의 생산량이 높지만(FAO, 2010), 주 소비국은 한국이다.

우리나라의 멧게 양식은 1980년대 초부터 본격적인 양식이 시작된 이후 지금까지 주기적인 대량폐사로 양식어가에 많은 피해를 입혔는데, 최근에는 물렁증으로 심각한 피해를 입고 있다. 물렁증으로 인한 추정 피해액은 연간 약 200억 원을 상회하는 것으로 보고되고 있다(NFRDI, 2009). 따라서 멧게 양식산업을 안정화시키기 위해서는 무엇보다도 물렁증의 원인을 명확히 밝혀 해결점을 찾는 것이 급선무이지만, 단 기간에 이 문제를 해결하기는 어렵다. 특히 광범위한 양식현장에서 적정처리를 실시

하는 것은 매우 어렵다. 따라서 비교적 처리가 용이한 종묘단계에서 해결점을 찾는 것이 보다 효율적인 방법이다. 최근 다양한 분자생물학적인 기법이 양식기술 개발, 특히 양식품종개량 기술개발에 도입됨에 따라 다양한 기술이 개발되고 있다. 이 중 특정 유전자 지표를 이용한 선발육종기법이 양식산업 현장에서 가시적 효과를 보이고 있다(Li et al., 1998; Thodesen et al., 1999; Min et al., 2010). 멧게의 경우 물렁증 내성 유전자 지표를 이용한 선발육종으로 물렁증 내성품종을 개발하여 종묘생산용 어미로 활용하면 보다 효과적으로 물렁증에 의한 피해를 방지할 수 있다. 이와 같은 이유는 우리나라에서 멧게 양식에 이용되는 종묘는 전량 인공종묘생산에 의해 생산되기 때문이다.

지금까지 국내 멧게 인공종묘 생산에 이용되는 어미는 크게 일본 동북부 주변해역에서 양식된 인본산과 국내산 개체들이다. 이 중 국내산은 남해안 동부해역과 강원도 동해안 주변에서 양식한 2년생 및 3년생 개체와 이들 지역에 서식하고 있는 자연산 개체로 나누어진다.

그런데 지금까지 대부분 멧게양식 어업인은 어미확보 지역

*Corresponding author: hur0100@nfrdi.go.kr

에 따라 종묘생산의 결과에 차이가 있고, 특히 양성 시 성장 및 물렁증에 의한 생존율에 많은 차이를 보인다고 수년간의 현장경험을 바탕으로 주장하고 있다. 또한 최근 일부이지만, 물렁증을 유발시키는 관련 유전인자가 보고되고 있다(Cho et al., 2008). 따라서 이러한 경험적 근거와 물렁증 관련 유전자 지표 등을 이용해 선발육종 기법을 개발하면 물렁증 내성품종을 개발할 수 있을 것으로 본다.

일반적으로 양식생물의 선발육종기술 개발 과정은 먼저 목적하는 다양한 유전인자를 가진 어미집단을 확보하고, 그 특성을 양식생물학적인 관점에서 일차적으로 검증해야 한다. 그러나 지금까지 우리나라 멍게 인공종묘생산에 이용되는 지역 계군별 특성에 관련해서 보고된 것은 유전적 근연관계(NFRDI, 2009) 외는 전무한 실정이다.

수서 무척추 동물의 어미 특성을 평가하는 방법은 다양한 기법이 있겠지만, 양식생물학적인 관점에서 가장 우선적인 것은 재생산가능능력이다. 이러한 이유로 생산된 난과 초기 유생의 발생 특성을 평가하고 있다(Vance, 1973; Christiansen and Fenchel, 1979; Morris, 1987; Liloyd, 1987; Sibly et al., 1988). 난과 초기유생의 발생 특성을 평가하는 가장 일반적인 방법은 난질과 초기유생의 성장, 생존 그리고 형태적 특징(George et al., 1990; Watanabe et al., 1984; Devauchelle te al., 1987; Fraser et al., 1987; Tomas et al., 2005)등을 비교 분석하는 것이다.

이에 본 연구는 국내 멍게 인공종묘생산에서 가장 많이 이용하고 있는 4개 집단의 어미 계군을 대상으로 생산된 난의 발생과 화학적 조성 그리고 유생의 형태적 특징을 조사하여 4개 어미 집단의 특성을 비교 평가하기 위하여 실시하였다.

재료 및 방법

어미계군

실험에 이용한 멍게 어미 계군은 4개 집단으로 경남 남해군 상주면 지선(남해자연산) 과 강원도 삼척시 임원지선(동해자연산)에서 채취한 3년생 자연산 어미, 경남 통영시 어의도 지선 국립수산물품질관리원 남동해수산연구소 시험교습어장에서 양식한 3년생 어미(남해양식산) 그리고 일본 센다이 이와테현 주변해역에서 양식된 3년생 어미(일본양식산)이었다(Table 1).

각 계군별 어미는 2010년 12월 중순 일괄적으로 확보하여 활어차와 선박을 이용하여 국립수산물품질관리원 남동해수산연구소 남해양식센터로 수송한 후 채란 전 안정을 위하여 수용적 4톤 FRP

수조에서 각 계군별로 임시 수용한 후 자연해수 유수식으로 관리하였다.

채란 및 발생

채란은 2011년 1월 5일 실시하였다. 채란 전 먼저 피낭 표면에 붙어 있는 이물질을 제거하고, 공기 중에 1시간 간출 후 계군별로 수용적 500 L 사각 FRP 수조 2개에 각각 균등 분리 수용한 후 자연 여과해수를 채운 다음 산란을 유도하였다. 수정난의 크기와 수정률 조사는 방란-방정 개시 2 시간 후 계군별로 2중 거름망을 이용하여 먼저 방란-방정과 함께 배출된 분과 큰 이물질을 제거하고 난을 분리 수거하였다. 수거된 난은 여과해수로 수 차례 세척한 다음 여과해수가 채워진 50 L 원형 플라스틱 수조에 전체 수거된 난을 각각 재 수하한 다음 5 mL 취한 후 Profile-Project(Nikon-v12, Japan)와 Counter chamber glass를 이용하여 전체 난수와 이 중 정상 발생된 난의 개수를 5회 반복 부분 조사하여 계군별로 수거된 전체 난의 개수와 정상 발생된 난의 개수를 환적법으로 계산하였다. 이 때 수정률은 전체 난 중 정상 발생된 난의 비율로 계산하였고, 수정난의 크기는 각 계군별로 Profile-Project(Nikon-v12, Japan)와 Quadra-Chek 4000 Program(Metronics, USA)을 이용하여 직경을 0.1 μm까지 측정하였다(n=50).

올챙이유생 부화율은 수집된 수정난을 12.0±1℃의 여과해수가 채워진 3 L 비이커에 mL 당 1개의 수정난을 수용한 후 미세하게 통기시키면서 24시간 사육 후 측정하였다. 부화율 실험은 3반복으로 실시하였다. 이 때 부화된 올챙이 유생의 크기는 전장, 두장 및 두폭을 수정난 크기조사와 동일한 방법으로 각 실험군 별로 30마리를 측정하였다.

성분분석

난 성분분석은 수정률 측정과 동일한 방법으로 난만 수거한 후 여과해수로 수 차례 세척한 다음 습포지로 수분을 제거한 후 성분분석용 시료로 이용하였다. 일반성분은 AOAC(1995) 방법에 따라 수분은 상압가열건조법(105℃, 4시간), 조단백질은 Kjeldahl 질소정량법(N×6.25)으로 분석하였고, 조회분은 직접회화법으로 분석하였다. 조지방은 시료를 12시간 동결 건조한 후, Soxtec system 1046(Tacator AB, Sweden)을 사용하여 soxhlet 추출법으로 분석하였다. 구성아미노산 분석은 동결 건조된 시료 20 mg을 test tube에 넣고 6 N HCl 15 mL를 가하여 밀봉한 후 110℃에서 24시간 가수분해 한 후 분해액을 여과한 다음, 감압 건조하여 HCl을 완전히 제거한 후, Sodium

Table 1. Body length, total weight and meat weight of the four population of sea squirt *H. roretzi* adults

Population			No. of inds.	Body length (mean±SD, mm)	Total weight (mean±SD, g)	Meat weight (mean±SD, g)
Korea	South sea	Wild	350	71.9±11.8	96.8±22.3	25.0±7.9
	south sea	Cultured	200	90.2±7.6	82.5±34.2	21.4±11.0
	East sea	Wild	200	85.7±14.2	223.1±45.5	69.6±21.6
Japan	Iwate	Cultured	200	109.0±16.6	196.7±49.1	51.1±16.9

dilution buffer(pH 2.2)로 25 mL 되게 정량 한 후 이 용액을 일 정량 취하여 아미노산 자동분석기 S433(Sykam, Germany) 를 이용하여 Ninhydrin 방법으로 분석하였다. 분석조건은 다 음과 같다: Colum size: 4 mm×150 mm, Absorbance: 570 nm and 440 nm, Reagent flow rate: 0.25 mL/min, Buffer flow rate: 0.45 mL/min, Reactor temperature: 120℃, Reactor Size: 15 m, Analysis time: 65 min. 지방산 분석은 동결 건조한 시료에 서 Folch et al (1957)의 방법에 따라 CHCl₃ : MeOH(2:1)로 지 질을 추출하여 20 mg의 지용성 회분에 0.5 N NaOH-methanol 과 14% BF₃-methanol로 Fame 시킨 후 Heaxane으로 추출하여 methylation 시킨 후, Gas chromatography(Trace, Germany)로 분석하였다. 분석조건은 다음과 같다: injector 온도는 250℃ 였 고, detector(FID) 온도를 270℃로 하고, column(Quadrex, 30 m, Bonded carbowax 0.25 mm I. D×0.25 μm film Cat. No. : 007-CW-30-0.25F) 온도는 180℃에서 8분간 유지시킨 다음, 3 ℃/min로 230℃까지 승온시키고, 15분간 유지하였다. Carrier gas는 He(1.0 kg/cm²)을 사용하였으며, split ratio는 1:20으로 하였다.

통계분석

각 실험 결과로부터 얻어진 모든 통계적 측정값들은 평균 ±표준오차로 표시하였다. 측정값들의 유의차 유무는 SPSS program을 사용하여 ANOVA-test를 실시한 후, Tukey HSD test로 평균간의 유의성(P<0.05)을 검정하였다. 그리고 계군별 난질비교에 따른 각각의 요소별에 따라 principal coordinates and component analysis를 MVSP program을 이용한 다중분석 을 통해 각각의 결과 값들의 상관관계를 분석하였다.

결 과

어미 계군별 수정란의 크기와 수정률을 조사한 결과(Table 2), 수정란의 평균 크기는 동해자연산 465.1 μm, 일본양식산 449.4 μm, 남해자연산 435.8 μm 남해양식산 428.1 μm 순으 로 유의적 크기에 따라 동해자연산과 일본산양식산 그리고 남 해자연산과 양식산 두 그룹으로 나누어지면서 두 그룹 간에 유

의적인(P<0.05) 크기 차이를 보였다. 수정률은 각각 남해양식 산 79.8%, 남해자연산 78.0%, 동해자연산 68.9%, 일본양식산 62.5%순으로 남해양식산이 가장 높았고, 동해자연산과 일본양 식산이 낮았다.

올챙이 유생의 부화율과 부화된 유생의 크기를 조사한 결과 는 table 3에서 보는 것과 같다. 평균 부화율은 각각 남해양식산 72.1%, 남해자연산 69.8%, 동해자연산 68.2%, 그리고 일본양 식산 66.2%로 국내산 간에는 유의적인 차이를 보이지 않았지 만, 일본양식산은 남해양식산에 비해 유의적으로 낮은 부화율을 보였다(P<0.05).

남해자연산과 양식산, 동해자연산 그리고 일본양식산의 수 정 후 24시간 경과된 올챙이 유생의 크기를 조사한 결과 평균 전 장은 각각 1,650.8 μm, 1,675.4 μm, 1,646.4 μm, 1,578.2 μm로 국내산간에는 차이가 없었지만, 일본양식산은 국내산에 비해 유 의적으로 작았다. 평균 두장은 각각 344.7 μm, 336.0 μm, 339.8 μm 및 336.1 μm로 전장과 비슷한 경향을 보였는데, 남해양식산 과 일본양식산은 크기 차이가 없었다.

그리고 평균 두폭은 각각 163.0 μm, 160.3 μm, 155.1 μm 및 155.3 μm 남해자연산이 동해자연산과 일본양식산에 비해 유 의적으로 넓었다. 전체적으로 올챙이 유생의 크기는 국내산 간에 는 남해자연산과 동해자연산의 평균 두폭 차이를 제외하고는 유 의적인 차이가 없었다. 그러나 일본산양식산의 경우 평균 두장 은 유의적(P<0.05)으로 작았고, 두장과 두폭도 비교적 작았다.

남해자연산과 양식산, 동해자연산 그리고 일본양식산의 수 정란의 영양소 함량을 분석한 결과 평균 조단백질 함량은 각각 5.20±0.00%, 4.66±0.01%, 4.71±0.01% 및 3.96±0.01% 였 으며, 평균 조지방 함량은 각각 1.01±0.00%, 0.77±0.01%, 1.22±0.01%, 0.69±0.00%였다. 그리고 평균 회분함량은 3.39 ±0.02%, 3.34±0.02%, 3.68±0.01%, 2.91±0.00%로 나타나 일본양식산이 국내산에 비해 전체적으로 비교적 낮은 영양소 함 량을 보였다. 그리고 전체적으로 지역에 관계없이 자연산에 비 해 양식산의 영양소함량이 비교적 낮게 나타났다(Table 4).

아미노산 함량은 어미계군에 관계없이 전체적으로 Glutamic acid가 0.5%이상으로 가장 높은 함량을 보였고, 다음으로 Aspartic acid가 0.4%이상으로 높은 함량을 보였다. 그 외 아미

Table 2. Total number, fertilized egg diameter and fertilization rate from the four population sea squirt *H. roretzi* eggs

Locality	No. of eggs (× 1,000 inds.)		¹ Rate of fertilization (%)	² Fertilized egg diameter (μm)	
	Total (mean±SD)	Developed (mean±SD)			
South sea	Wild	2,256±57	1,762±147	78.0±2.3 ^{bc}	435.8±3.2 ^a
	Cultured	2,216±40	1,770±145	79.8±2.5 ^c	428.1±4.2 ^a
East sea	Wild	3,140±48	2,162±201	68.9±2.9 ^{ab}	465.1±3.1 ^b
	Cultured	3,134±53	1,958± 72	62.5±1.0 ^a	449.4±2.1 ^b
Anova		F-values		12.799	38.947
		P-values		0.000	0.000

¹Values (means ± SE, n=2), ²Values (means ± SE, n=50) with different superscripts in the same column are statistical different at P<0.05.

Table 3. Hatching rate and size of the tadpole larvae of the four populations of sea squirt *H. roretzi*

Locality		¹ Rate of hatching (%)	² Size (μm)			
			Total length	Head length	Head width	
Korea	South sea	Wild	69.8±2.2 ^{ab}	1650.8±8.9 ^a	344.7±2.9 ^a	163.0±1.4 ^a
	South sea	Cultured	72.1±1.2 ^b	1675.4±12.7 ^a	336.0±4.4 ^{ab}	160.3±1.6 ^{ab}
	East sea	Wild	68.2±1.0 ^{ab}	1646.4±10.9 ^a	339.8±4.1 ^a	155.1±1.8 ^b
Japan	Iwate	Cultured	66.2±0.8 ^a	1578.2±15.4 ^b	336.1±2.1 ^b	155.3±1.5 ^b
Anova	F-value		3.146	11.658	4.816	6.061
	P-values		0.039	0.000	0.003	0.001

¹Values (means ± SE, n=3), ²Values (means ± SD, n=30) with different superscripts in the same column are statistical different at P < 0.05.

Table 4. Proximate composition of moisture, crude protein, lipid and ash contents of the four population of sea squirt *H. roretzi* eggs (wet weight base %)

Locality			Proximate compositions (means±SD, n=2)			
			Moisture	Protein	Lipids	Ash
Korea	South sea	Wild	86.94±0.23	5.20±0.00	1.01±0.00	3.39±0.02
	South sea	Cultured	88.11±0.18	4.66±0.01	0.77±0.01	3.34±0.02
	East sea	Wild	87.24±0.15	4.71±0.01	1.22±0.01	3.68±0.01
Japan	Iwate	Cultured	89.56±0.15	3.96±0.01	0.69±0.00	2.91±0.00

Table 5. The amino acids compositions in total protein from four population of sea squirt *H. roretzi* eggs (dry weight base %, means ± SD, n=2)

Amino acid	Korea			Japan
	South sea wild	South sea cultured	East sea wild	Iwate cultured
Aspartic acid.	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.4±0.0
Threonine	0.2±0.1	0.3±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0
Serine	0.2±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
Glutamic acid	0.7±0.1	0.6±0.0	0.6±0.0	0.5±0.0
Proline	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.1±0.0
Glycine	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.1±0.0
Alanine	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
Valine	0.2±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0
Isoleucine	0.2±0.1	0.3±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0
Leucine	0.5±0.0	0.5±0.0	0.5±0.0	0.4±0.0
Tyrosine	0.2±0.1	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
Phenylalanine	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0
Histidine	0.2±0.0	0.2±0.0	0.2±0.0	0.1±0.0
Lysine	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0
Arginine	0.3±0.0	0.3±0.0	0.3±0.0	0.2±0.0
Total amino acids	4.5±0.0	4.6±0.1	4.4±0.0	3.5±0.0
Total EAA ¹	2.2±0.1	2.2±0.0	2.1±0.0	2.2±0.0

¹Essential amino acid.

노산 조성은 비슷한 경향을 보였다. 그러나 총 구성 아미노산 함량은 각각 4.5±0.0%, 4.6±0.1%, 4.4±0.0%, 3.6±0.0%로 남

해양식산이 비교적 높은 함량을 보였고, 일본양식산이 낮은 함량을 보였다. 그리고 총 분석된 구성아미노산 중 필수아미노산의 조성은 각각 2.2±0.1%, 2.2±0.0%, 2.1±0.0%, 2.2±0.0%로 비슷한 함량을 보였다.

한편, 지방산 조성은 Myristic acid(C14:0) 7.5-8.3%, Palmitic acid(C16:0) 17.8-19.8%, Oleic, Elaidic acid(C18:1) 13.7-14.7%, EPA(C20:5) 20.3-29.5% 그리고 Pentadecenoic acid(C24:1) 12.2-18.3%로 어미 계군에 관계없이 77.5% 이상으로 주지방산을 이루고 있었고, 그 외 지방산은 비슷한 조성 경향을 보였다.

계군별 총 포화지방산, 일불포화지방산 및 다불포화지방산의 조성은 뚜렷한 경향 없었는데, 총 포화지방산과 총 다불포화지방산은 동해자연산이 각각 33.1±0.0%와 30.9±0.1%로 다른 계군에 비해 비교적 높은 함량을 보였고, 총 일불포화지방산은 남해양식산이 37.0±0.1%로 비교적 높은 함량을 보였고, 다불포화지방산은 일본양식산이 높은 함량을 보였다. 각종 난질 평가 9개 요소와 올챙이 유생의 발생형태 특성요소 4개 항목을 이용해 어미 계군별 유사도(similarity coefficient)를 비교 분석한 결과 어미 계군별 유사도는 많은 차이를 보였다. 국내산인 남해자연산과 남해양식산이 73.9%, 남해자연산과 동해자연산은 63.6%, 남해양식산과 동해자연산은 61.6%를 보였다. 그러나 국내산과 일본산과는 30.5-40.7%로 매우 낮은 유사도를 보였다 (Table 6, Fig. 1).

한편, 난질 평가 9개 요소와 올챙이 유생의 발생형태 특성요소 4개 항목, 총 13 가지 평가요소와 각 계군과의 상호 상관관계를 비교 분석한 결과 구성요소 간의 상관관계는 낮게 나타났지

Table 6. The fatty acids compositions in total lipids from four population of sea squirt *H. roretzi* eggs (dry weight base %, means \pm SD, n=2)

Fatty acid	Korea			Japan
	South sea wild	South sea cultured	East sea wild	Iwate cultured
C14:0	7.6 \pm 0.0	8.3 \pm 0.1	7.6 \pm 0.1	7.5 \pm 0.2
C14:1	1.2 \pm 0.1	1.1 \pm 0.1	1.4 \pm 0.0	1.1 \pm 0.0
C16:0	19.8 \pm 0.5	18.9 \pm 0.1	19.7 \pm 0.0	17.8 \pm 0.2
C16:1	5.0 \pm 0.3	6.5 \pm 0.0	5.1 \pm 0.0	5.9 \pm 0.0
C17:0	0.6 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	0.6 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
C18:0	3.9 \pm 0.0	3.8 \pm 0.0	3.8 \pm 0.0	3.5 \pm 0.1
C18:1	13.7 \pm 0.0	14.5 \pm 0.2	13.9 \pm 0.0	14.7 \pm 0.1
C18:2	2.8 \pm 0.0	2.5 \pm 0.0	3.3 \pm 0.0	2.3 \pm 0.0
C18:3	0.0 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0	0.3 \pm 0.0	0.7 \pm 0.0
C18:3	2.7 \pm 0.0	2.4 \pm 0.0	3.0 \pm 0.0	1.4 \pm 0.0
C20:1	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0	0.5 \pm 0.0
C20:3	0.0 \pm 0.0	0.4 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
C20:4	1.6 \pm 0.0	2.2 \pm 0.0	1.8 \pm 0.0	1.2 \pm 0.0
C21:0	0.0 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0	0.7 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
C20:5	20.3 \pm 0.5	22.0 \pm 0.2	21.2 \pm 0.1	29.5 \pm 0.3
C22:2	1.3 \pm 0.1	1.0 \pm 0.0	1.3 \pm 0.0	1.7 \pm 0.0
C24:0	0.7 \pm 0.1	0.6 \pm 0.0	0.7 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
C24:1	18.3 \pm 0.2	14.4 \pm 0.1	15.1 \pm 0.1	12.2 \pm 0.2
Total	100.0	100.0	100.0	100.0
Σ Saturated	32.6 \pm 0.3	32.1 \pm 0.1	33.1 \pm 0.0	28.8 \pm 0.2
Σ Monoenes	28.7 \pm 0.1	37.0 \pm 0.1	36.0 \pm 0.1	34.4 \pm 0.1
Σ Polyenes	28.7 \pm 0.4	30.9 \pm 0.1	30.9 \pm 0.1	36.8 \pm 0.3

만, 수정율, 부화률, 올챙이 유생의 전장, 총 아미노산의 함량이 높을수록 남해양식산과의 관계가 높았고, 조단백질, 조지질 및 총 포화지방산의 함량이 높고 클수록 남해자연산과의 관계가 높았다. 일본자연산과 동해자연산은 비교적 총다불포화 지방산의 함량이 높고, 수정난의 난경 크기가 클수록 관계가 높았지만, 명확한 상관관계는 보이지 않았다(Fig. 2).

고찰

국내 명계 인공종묘생산에서 가장 많이 이용하고 있는 4개 집단의 어미 계군을 대상으로 생산된 난의 발생과 화학적 조성 그리고 유생의 형태적 특징을 조사하여 4개 어미 집단의 특성을 비교 평가한 결과 어미 계군별로 차이가 있었다. 특히 지리적 서식거리에 따라 차이가 많이 나타났다. 이와 같은 결과는 비슷한 조건으로 4개 명계 계군을 이용하여 집단 간의 유전적인 근연관계를 조사한 결과 집단 간 차이가 서식거리에 따라 높게 나타났는데, 이러한 유전적 근연관계 차이의 주요원인은 지리적 거리

Table 7. Gower general similarity coefficient analysis of the four population of sea squirt *H. roretzi* (Analysing 13 variables; fertilized egg: diameter, fertilized rate, crude protein, crude lipid, Σ amino acids, Σ essential amino acids, Σ Saturated, Σ Monoenes, Σ Polyenes, Tadpole larvae : hatching rate, Total length, head length, head width x 4cases)

Similarity matrix				
	South sea wild	South sea cultured	East sea wild	Iwate Japan cultured
South sea wild	1.00			
South sea cultured	0.739	1.000		
East sea wild	0.636	0.616	1.000	
Iwate Japan cultured	0.305	0.343	0.407	1.000
Eigenvalues				
	Axis 1	Axis 2	Axis 3	
Eigenvalues	0.824	0.396	0.258	
Percentage	55.737	26.815	17.449	
Cum. Percentage	55.737	82.551	100.000	
PCO case scores				
	Axis 1	Axis 2	Axis 3	
South sea wild	-0.359	0.161	-0.369	
South sea cultured	-0.303	0.269	0.343	
East sea wild	-0.107	-0.536	0.056	
Iwate Japan cultured	0.769	0.106	-0.029	

와 서식조건에 기인한 것으로 보고하였다(NFRDI, 2009), 본 조사에서도 이와 같은 요인이 계군별 어미 특성의 차이를 유발시킨 것으로 판단된다.

한편, 각각의 평가 요소별, 특히 난질 평가요소와 올챙이 유생의 발생 결과는 지금까지 보고된 해양무척추 동물의 난질 평가 결과와는 상이한 결과를 보였다. 단일개체 또는 동일계군 내에서 비교적 난경(Hoar, 1969)이 클수록 난질이 우수하다고 평가하고 있다. 그러나 본 조사에서는 반대의 결과를 보였다. 유의적으로 난경이 적은 남해자연산과 양식산이 동해자연산, 특히 일본양식산에 비해 수정율과 부화률 그리고 올챙이 유생의 전장 크기는 유의적으로 높고 크게 나타났다. 이와 같은 결과는 난 내에 함유되어 있는 영양성분의 차이에서 기인된 것으로 판단되지만, 조사된 결과는 또 다른 차이가 있었다. 최근 난질 평가 기준이 단순 난의 크기보다는 난 내에 함유되어 있는 생화학적 조성(Watanabe et al., 1984; Fraser et al., 1987; Tomas et al., 2005), 특히 조단백질과 아미노산 조성(Whyte, 1987; Whyte et al., 1990; His and Maurer, 1988) 그리고 조지질 및 지방산의 조성(Holland and Spencer, 1973; Waldock and Nascimento, 1979) 등이 난질을 결정하는 중요한 지표로 보고되고 있다(Ringo et al., 1987; Sargent et al., 1989). 이들 대부분의 연구자들은 난 발생 또는 유생 발달기 동안 조직구성 및 필요 시 에너지원으로 이용되는 단백질과 아미노산, 조지질 특히 불포화지방산과 다불포

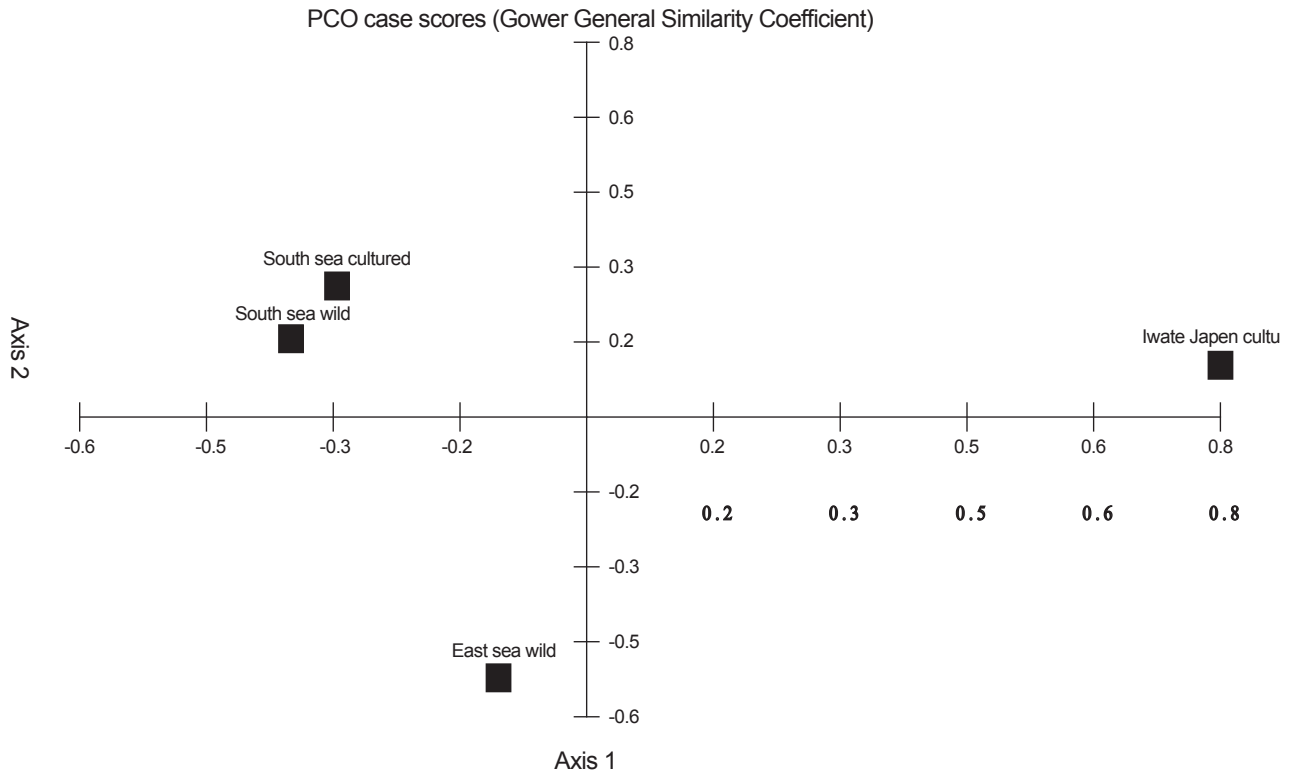


Fig. 1. Principal coordinates analysis of the four population of sea squirt *H. roretzi* adults (Gower general similarity coefficient, analysing 13 variables x 4 cases, reference to table 6).

화지방산의 함량이 높을수록 난질이 우수하다고 평가하고 있다.

본 조사에서도 수정율과 부화율이 높고, 올챙이 유생의 전장 길이가 길었던 국내산이 일본산에 비해 난 내 유기물질 함량이 비교적 높게 나타났다. 그러나 국내산 3개 계군의 경우 남해양식산이 가장 좋은 발생결과를 보였지만, 분석된 총 구성아미노산과 총 일불포화지방산을 제외하고는 남해자연산과 동해자연산 계군에 비해 낮은 영양소함량을 보였다. 특히 다불포화지방산은 발생 결과가 가장 낮은 일본양식산에서 가장 높은 함량을 보였다. 그렇지만, 난과 유생에서 조사된 전체적인 결과를 종합해보면 국내산과 일본산, 남해산과 동해산 그리고 양식산과 자연산 계군으로 구획화가 되었다. 이러한 결과는 난의 특성과 유생의 발생 결과 특성이 높은 상관성이 있음을 시사하고 있다 (Grahame and Branch, 1985; George, 1990). 따라서 난의 특성을 정확하게 판단하면 전체 계군의 특성을 간접적으로 평가할 수 있을 것으로 판단된다. 일반적으로 수서동물의 난질에 영향을 미치는 요인은 어미의 성숙과정에서 노출되는 가용먹이 상태(Banegal, 1971), 수온, 염분, 광주기와 같은 다양한 환경조건 (Bromley et al., 1986; Hart and Purser, 1995; Watanabe et al., 1998), 어미의 산란횟수(Niklosky, 1963; Kuo et al., 1972)와 연령(Schoenberr, 1977) 그리고 유전적인 특징(Scott, 1962) 등이 영향을 미치는데, 본 조사의 4개 계군의 난 특성차이는 주로 지리적 거리에 따른 다양한 환경조건이 가장 큰 요인으로 작용한

것으로 보여진다. 한편, 본 실험에 사용된 어미의 연령은 동일하였지만, 계군별 성장 특성의 차이로 인해 어미의 생물학적 개체 차이가 많이 나타나고 있는데, 이것이 실험적 오류로 작용했을 가능성도 있다. 또한 국내 명계의 산란 시기는 지역에 따라 조금 차이는 있지만, 주 산란기는 12월 중순에서 1월 초로 상업적 인공종묘생산도 이 시기에 실시된다. 따라서 일부 계군에서 실험 전 부분 산란이 발생했을 가능성도 배제할 수 없다. 그러므로 이 점들은 차후 보다 명확한 재검정이 있어야 할 것이다.

그러나 정확한 난질을 평가하여 어미의 특성을 규명하는 것은 양식생물학적 측면에서는 매우 중요하고, 본 연구의 결과도 명계 *H. roretzi* 인공종묘생산 과정에 필요한 계군별 어미특성 차이에 대한 기초적인 정보를 제공할 수 있겠지만, 물렁증 내성 품종개발을 위한 평가지표로 이용하는 데는 어려움이 있다. 따라서 물렁증 내성 품종개발을 위한 선발육종지표를 개발하기 위한 어미특성 평가는 분자육종학적 지표와 함께 발생생물학적 요인을 동시에 검정하는 평가기법을 개발해야 할 것이다.

사 사

본 연구는 국립수산과학원 수산시험연구사업비(RP-2011-AQ-036) 지원에 의해 수행된 연구 결과입니다. 성분 분석을 도와주신 부경대학교 사료연구소 팀원분들께 감사드립니다.

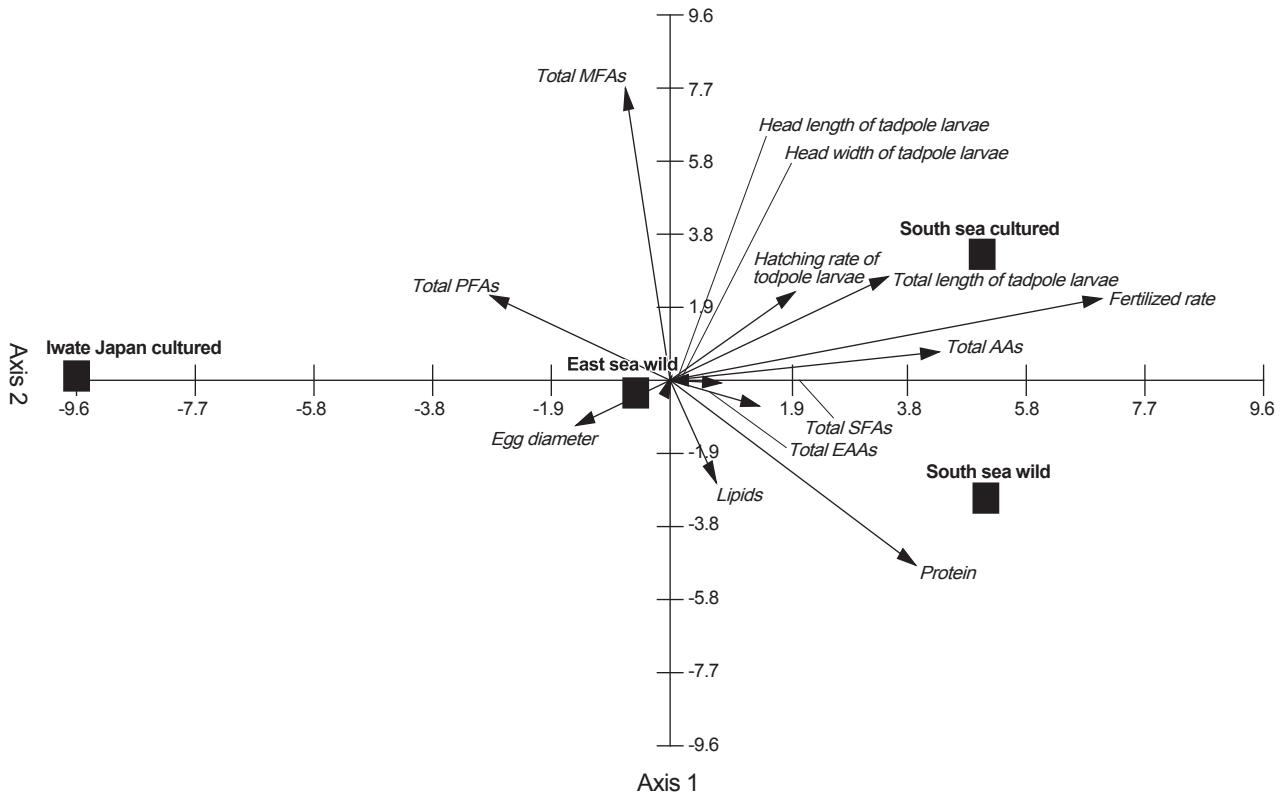


Fig. 1. Principal coordinates analysis of the four population of sea squirt *H. roretzi* adults (Gower general similarity coefficient, analysing 13 variables x 4 cases, reference to table 6).

참고문헌

- AOAC. 1995. Official methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC, U.S.A., 69-74.
- Banegal T. 1971. The interrelation of the size of fish eggs, the date of spawning and the production cycle. *J Fish Biol* 3, 207-209.
- Bromley P, Sykes P and Howell B. 1986. Egg production of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) spawning in tank condition. *Aquaculture* 53, 287-293.
- Cho HK, Nam BH, Kong HJ, Han HS, Hur YB, Choi TJ, Choi YH, Kim WJ and Cheong JH. 2008. Identification of softness syndrome-associated candidate genes and DNA sequence variation in the sea squirt *Halocynthia roretzi*. *Mar Biotechnol* 10, 447-456.
- Christiansen FB and Fenchel TM. 1979. Evolution of marine invertebrate reproductive patterns. *Theor Pop Biol* 16, 267-282.
- Devauchelle N, Alexandre J, Le corre N and Letty Y. 1987. Spawning of sole (*Solea solea*) in captivity. *Aquaculture* 66, 125-147.
- FAO. 2011. Aquaculture production 1950-2009, Fishstat plus v. 2.32.
- Folch J, Lees M and Stanley GHS. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *J Biol Chem* 226, 497-509.
- Fraser A, Sargent J, Gamble J and MacLachlan P. 1987. Lipid class and fatty acid composition as indicators of the nutritional condition of larval Atlantic herring. *Am Fish Soc Sympos* 2, 129-143.
- George SB. 1990. Population and seasonal differences in egg quality of *Arbacia lixula* (Echinodermata : Echinoidea), *Int. J Invert Reprod Dev*, 111-121.
- George SB, Cellario C and Fenaux L. 1990. Population differences in egg quality of *Arbacia lixula* (Echinodermata : Echinoidea): proximate composition of eggs and larval development. *J Exp Mar Biol* 141, 107-118.
- Grahame J and Branch GM. 1985. Reproductive patterns of marine invertebrates. *Oceanogr Mar Biol Annu Rev* 23, 373-398.
- Hart P and Purser G. 1995. Effects of salinity and temperature on eggs and yolk sac larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther). *Aquaculture* 136, 221-

230.

His E and Maurer D. 1988. Shell growth and gross biochemical composition of oyster larvae (*Crassostrea gigas*) in the field. *Aquaculture* 69, 185-194.

Hoar W. 1969. Reproduction, In: *Fish Physiology* 3. Hoar W and Randall D, eds. Academic Press, New York, U.S.A., 1-72.

Holland DL and Spencer BE. 1973. Biochemical changes in fed and starved oysters, *Ostrea edulis* L. during larval development, metamorphosis and early spat growth. *J Mar Biol Assoc UK* 53, 287-298.

Kuo C, Shehadeh Z and Nash C. 1972. Induced spawning of captive grey mullet (*Mugil cephalus* L.) females by injection of human chorionic gonadotropin (HCG). *Aquaculture* 1, 429-432.

Li MH, Robinson EH and Wolters WR. 1998. Evaluation of three strains of channel catfish *Ictalurus punctatus* fed diets containing three concentrations of protein and digestible energy. *J. World Aquac Soc* 29, 155-160.

Lloyd DG. 1987. Selection of offspring size at independence and other size-versus-number strategies. *Am Nat* 129, 800-817.

Min BH, Kim HC, Lee JH, Noh JK, An HS, Park CJ, Choi SJ and Myeong JI. 2010. Comparison of growth parameters in selected and unselected strains of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *Kor J Fish Aquat Sci* 43, 457-461.

Morris DW. 1987. Optimal allocation of parental investment. *Oikos* 49, 332-339.

NFRDI. 2009. The studies on stability of cultured sea squirt aquaculture fisheries. National Fisheries Research and Development Institute Report, 1-311.

Niklosky G. 1963. *The Ecology of Fishes*. Academic Press, London, U.K., 352.

Ringo E, Olsenand R and Boe B. 1987. initial feeding of wolf fish (*Anarhichas lupus* L.) fry. *Aquaculture* 62, 33-43.

Sargent J, Henderson R and Tocher D. 1989. The lipids. In: *Fish Nutrition*. Halver, JE. and Hardy RW, eds. Academic Press, London, U.K., 257-274.

Schoenberr A. 1977. Density dependent and density independent regulation of reproduction in the gila topminnow, *Peec illiopsis occidentalis* (Baud and Girard). *Ecology* 58, 438-

444.

Scott D. 1962. Effecto of food quantity on fecundity of rainbow trout *salmo gairdneri*. *J Fish Res Bd Can* 19, 715-731.

Sibly R, Calow P and Smith RH. 1988. Optimal size of seasonal breeders. *J Theor Biol* 49, 332-339

Thodesen J, Grisdale-Hellend B, Helland SJ and Gjerde B. 1999. Feed intake, growth and feed utilization of offspring from wild and selected atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture* 180, 237-246.

Tomas C, Bae JH and Hur SB. 2005. Chemical composition and size of floating and sunken eggs of olive flounder *Paralichthys olivaceus*. *J Fish Sci Technol* 8, 132-137.

Vance RR. 1973. On reproductive strategies in marine benthic invertebrates. *Am Nat* 107.

Waldock MJ and Nascimento IA. 1979. The triacylglycerol composition of *Crassostrea gigas* larvae fed on different algal diets. *Mar Biol Lett* 1, 77-86.

Watanabe T, Ohhashi S, Itoh A, Kitajima C and Fujita S. 1984. Effect of nutritional composition of diets on chemical components of red sea bream broodstock and eggs produced. *Bull Jap Soc Sci Fish* 50, 503-515.

Watanabe T, Arakawa T, Kitajima C and Fujita S. 1998. Effect of nutritional quality of broodstock diets on reproduction of red sea bream. *Bull Jap Soc Sci Fish* 50, 495-501.

Whyte JNC. 1987. Biochemical composition and energy content six species of phytoplankton used in mariculture of bivalves. *Aquaculture* 60, 231-241.

Whyte JNC, Bourne N and Ginthe NG. 1990. Biochemical and energy changes during embryogenesis in th rock scallop, *Crassadoma gigantea* (Gray). *Aquaculture* 86, 25-40.

2011년 6월 7일 접수
 2011년 7월 27일 수정
 2011년 10월 5일 수리