

근친교배에 의한 북방전복 (*Haliotis discus hannai*) 의 근교약세 현상

박철지, 남원식, 이명석, 강지윤, 김경길

국립수산과학원 육종연구센터

Inbreeding depression of Pacific abalone, *Haliotis discus hannai* by inbreeding mating experiments

Choul Ji Park, Won Shik Nam, Myeong Seok Lee, Ji-Yun Kang and Kyung Kil Kim

Genetics and Breeding Research Center, NFRDI, Gyeongsangnam-do Geoje, 656-842, Korea

ABSTRACT

Inbreeding depression may be an avoidable phenomenon for abalone culture. However, only a few studies were carried out on inbreeding depression. In the present study, to demonstrate inbreeding depression in growth trait of Pacific abalone, *H. discus hannai*, inbreeding and outbreeding families were produced in 2010. Inbred and outbred families from each experiment were reared in same tank until 10 month for the same breed environment. The individual of inbred and outbred were distinguished by paternity test using microsatellite DNA. The shell length between inbred and outbred families was compared. At the results, significantly higher shell length was observed in the outbred families at 10 mon ($P < 0.05$). These results indicate that inbreeding depression is obviously observed in growth traits in the first generation of full-sib family of the *H. discus hannai*.

Keywords: *Haliotis discus hannai*, Inbreeding depression. Growth trait

서 론

북방전복 (*Haliotis discus hannai*) 은 원시복족목의 전복과에 속하며, 우리나라 전 연안에 서식하는 종으로 산업적으로도 중요한 수산 자원이다. 전복은 한 개체의 산란량이 많아 적은 수의 어미를 이용하여 대량의 종묘를 생산할 수 있기 때문에 현장에서는 생산규모에 따라 암컷 수백마리 사용에 비하여 수컷은 10-20마리 정도로 매우 적은 수를 사용하고 있다. 이러한 수정방식은 유전적다양성을 저하시키는 요인이 될 수 있다. 또한 자원회복을 위한 방류용 전복종묘에 있어서도 유전적 다양성 저하현상이 나타나고 있으며, 이러한 전복종묘의 방류로 인하여 자연산 집단의 동형접합율 (Homozygosity) 이 증가하

고, 자연산 집단 내에 있어서도 이러한 동형접합율의 증가로 근친교배의 가능성을 시사하고 있다 (Fujino, 1978; Fujio *et al.*, 1986).

북방전복의 자연산 및 양식산 간의 유전적 다양성을 비교한 연구결과를 보면 양식산이 자연산보다 유전적 다양성이 낮은 것으로 나타난다 (Fujio *et al.*, 1986; Hara and Fujio, 1992; Kijima *et al.*, 1992). 이러한 결과는 양식산을 지속적으로 사용하여 세대를 거듭할 경우 근친교배로 인한 근교약세 현상이 나타날 수 있다. 또한, 전복양식용 품종개발을 위한 선발육종 연구에 있어서도 선발을 통하여 유전적 향상을 도모하고 있지만 육종을 위한 초기집단 크기가 작을 경우 세대를 거치면서 근교계수의 상승으로 근친교배가 일어날 수 있으며 근교약세현상이 나타날 수 있다. 따라서 방류용 종묘생산 및 양식용 품종개발에 있어 근교약세현상은 중요한 연구과제이다. 그러나 근교약세현상을 명확히 파악하기 위해서는 실제 근친교배 실험과 긴 시간에 걸친 사육관리 실험을 필요로 하기 때문에 아직까지 전복을 대상으로 근친교배에 대한 실증적인 연구는 많지 않다 (Deng *et al.*, 2005; Park *et al.*, 2006; Kobayashi and Kijima, 2010).

본 연구에서는 북방전복의 근친교배에 의한 근교약세현상이

Received: November 24, 2014; Revised: December 20, 2014; Accepted: December 26, 2014

Corresponding author : Choul Ji Park

Tel: +82 (55) 639-5812 e-mail: choulji@korea.kr

1225-3480/24554

This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License with permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproducibility in any medium, provided the original work is properly cited.

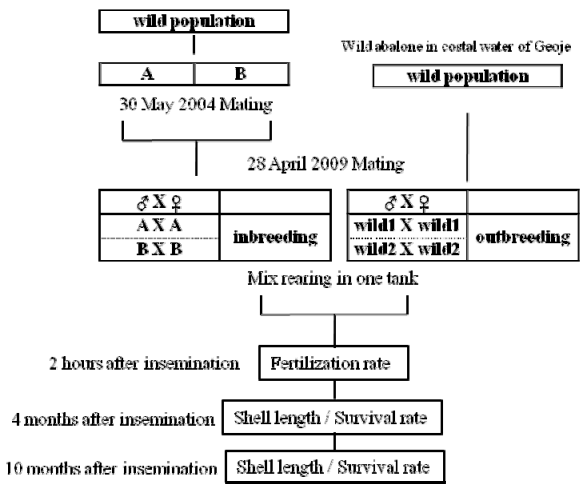


Fig. 1. Mating system and flow of experiments.

생존율 및 성장형질에서 나타나는지를 명확히 파악하기 위하여 근친교배 실험구와 비근친교배 실험구를 만들어 비교실험을 하였다. 각 실험구의 사육관리는 환경적 요인을 최소화하기 위하여 수정후 혼합하여 사육 관리하였으며 형질분석 시에는 micorsatellite DNA를 이용한 친자확인을 통하여 각 개체의 가계를 확인한 후 가계간의 성장형질을 분석하였다. 본 연구는 전복의 양식산업 및 육종연구에 있어 기초자료를 제공하고자 수행되었다.

재료 및 방법

1. 실험재료 및 Mating system

본 연구에 이용된 실험재료는 북방전복이며, 근친교배 및 비근친교배 실험구는 Fig. 1에 나타난 Mating system에 따라

각각 수정하여 각 가계별 동일유생수를 계수하여 혼합 사육관리 하였다. 근친교배구 실험구는 경북 포항 인근에서 채취한 자연산 전복을 이용하여 2004년 1:1 인공수정을 통하여 A 및 B의 가계를 각각 생산하여 5년간 분리 사육관리하여 어미로 사용하였다. 따라서 본 실험에서 생산된 근친교배구 (AA가계 및 BB가계) 의 근교계수 0.25이다. 비근친교배구는 경남 거제시 남부면 다포리 인근에서 채취한 자연산 전복이며 암수 1:1 인공수정방법으로 생산한 ww1가계 및 ww2 가계이다. 근친교배구 및 비근친교배구의 모든 실험구는 2009년 4월28일 같은날 동시에 생산되었으며 혼합사육 관리하였다.

2. DNA를 이용한 친자확인 및 성장형질 측정

근친교배구 및 비근친교배구 간의 성장도를 조사하기 위하여 수정후 4개월째 및 10개월째 200마리를 무작위로 채취하여 각장 (shell length; SL) 을 측정하였다. 그리고 근친교배구 및 비근친교배구의 4가계 구분을 위하여 Table 1에 나타난 6개의 microsatellite DNA *Hdh1321*, *Hdh512*, *Awb017*, *Hdh145*, *Awb098*, *Awb083*를 사용하여 친자확인 실험을 실시하여 (Li *et al.*, 2002; Park *et al.*, 2003; Sekino *et al.*, 2005) 각 가계의 생존개체수를 확인하고 그 비율을 생존율로 나타내었다.

3. 통계분석

근친교배구 및 비근친교배구간의 4개월 및 10개월째 생존율 차이의 유의성 검정은 평균값에 대한 t-test를 이용하였으며, 성장에 대한 차이의 유의성 검정은 SAS Enterprise Guide (Ver.4.2) 를 이용하여 분석하였으며, SAS/GLM (General Liner Model) 분석에 있어서 최소제곱 평균치간의 유의성 검정으로 유의수준 5%로 검정하였다.

Table 1. 6 microsatellite markers for offspring assigned

Locus	Repeat type	Primer sequences (5'-3')	Accession No.
<i>Hdh145</i>	(CA)7	F-TAGTTGTTGAACCTTTCTGTTG	AB091480
		R-TAGACAAACAGAAAACCTTCACC	
<i>Hdh512</i>	(GA)23	F-CCGAGATGTTTACAGAGAGA	AB091482
		R-CACACTCGCTTTCTCACTCA	
<i>Hdh1321</i>	(CGCA)4(CA)18	F-TTCTGAGATGAGACGCACCAC	AB084076
		R-TTGGCAGCAGGCGTCGTGT	
<i>Awb017</i>	(CA)16	F-ACATGTCGTGATTGTTTCCAC	AB177912
		R-TCCTGACCACATACTGTTTCACATTAG	
<i>Awb083</i>	(ATC)8	F-GCTTAGAAGGGACATAACTCGCAATA	AB177936
		R-AATAGACATTCTACAAGCGAGGAAA	
<i>Awb098</i>	(AC)13	F-ACATGGAAGTGCAGTCTAGAAAGC	AB177937
		R-TGATTATTTTCAGATCGCCGTCATA	

Table 2. Survival rate in inbred and outbred at 4 months and 10 months

	Family	Survival rate	
		4 months	10 months
Inbred	AA	14.5% (29/200)	10.5% (21/200)
	BB	19.0% (38/200)	18.5% (37/200)
Outbred	ww1	38.5% (77/200)	32.0% (64/200)
	ww2	28.0% (56/200)	39.0% (78/200)

* P < 0.05 (t-test, between mean of inbred and outbred)

Table 3. Shell length in inbred and outbred at 4 months and 10 months

	Family	Fertilization rate (%)	SL (mm)	
			4 months	10 months
Inbred	AA	73.1	8.46 ^b ± 0.233	28.53 ^c ± 1.269
	BB	87.1	8.93 ^{ab} ± 0.149	29.01 ^c ± 0.931
Outbred	ww1	82.4	8.99 ^{ab} ± 0.200	35.30 ^a ± 0.727
	ww2	96.1	9.35 ^a ± 0.172	32.70 ^b ± 0.646

a, b, c : Means in the same column with different letter are statistically significant at 5% level of significance.

결 과

검정을 한 결과 유의적 차이는 나타나지 않았다.

1. 수정률

근친교배구 및 비근친교배구를 각각 2가계씩 만들기 위하여 각 교배실험구의 생산을 위한 암수어미를 1:1 인공수정을 하였으며, 수정후 20시간 경과 후에 수정률을 조사하였다. 그 결과 Table 2에 나타낸 것과 같이 근친교배구 AA는 73.1%, BB는 87.1%로 나타났으며 비근친교배구 ww1는 82.4%, ww2는 96.1%로 나타났다. 각 교배구 간의 수정률은 통계적 유의차이는 나타나지 않았다.

2. 생존율

근친교배구 (AA 및 BB) 와 비근친교배구 (ww1 및 ww2) 의 4개월째와 10개월째 생존율을 조사한 결과를 Table 2에 나타내었다. 4개월째 생존율을 조사하기 위하여 무작위로 200마리를 채취하여 친자확인 실험을 통하여 가계를 확인하였다. 그 결과 근친교배구 AA가계의 개체는 총 200마리 중 29마리로 14.5%의 생존율을 나타내었으며, BB가계는 38마리로 19.0%의 생존율을 나타내었다. 반면, 비근친교배구인 ww1가계는 77마리가 확인 되어 38.5%로 가장 높은 생존율을 나타내었으며 ww2가계의 경우에서도 56마리로 28.0%로 높은 생존율을 나타내었다. 또한 10개월째 생존율에 있어서도 근친교배구인 AA가계 및 BB가계는 각각 10.5%, 18.5%로 낮게 나타난 반면, 비근친교배구인 ww1가계 및 ww2가계는 각각 32.0% 및 38.0%로 높게 나타났다. 이러한 근친교배구 및 비근친교배구간의 생존율 차이에 대하여 t-test를 이용한 유의성

3. 성장

근친교배구 (AA 및 BB) 와 비근친교배구 (ww1 및 ww2) 의 4개월째와 10개월째 성장형질 중 각장 (Shell length) 을 조사한 결과를 Table 3에 나타내었다. 4개월째 각장을 보면, 근친교배구 AA가계는 8.46 ± 0.23 mm, BB가계는 8.93 ± 0.15 mm으로 나타난 반면 비근친교배구인 ww1은 8.99 ± 0.20 mm, ww2가계는 9.35 ± 0.17 mm로 근친교배구 보다 높은 값을 나타내었다. 또한 10개월째의 성장에 있어서도 근친교배구 AA가계는 28.53 ± 0.127 mm, BB가계는 29.01 ± 0.93 mm으로 나타난 반면 비근친교배구인 ww1은 35.30 ± 0.73 mm, ww2가계는 32.70 ± 0.65 mm로 근친교배구 보다 높은 값을 나타내었다. 이러한 근친교배구 및 비근친교배구 간에 성장차이에 대하여 유의성 검정을 한 결과 4개월째 근친교배구 AA가계는 비근친교배구 ww1 및 ww2가계와 유의적으로 성장이 느린 것으로 나타났으며, 10개월째에는 근친교배구 AA가계 및 BB가계 모두 비근친교배구 ww1 및 ww2가계보다 성장이 유의적으로 느린 것으로 나타났다 (P < 0.05).

고 찰

근교약세현상은 근친교배에 의해 개체가 보유하고 있는 우성효과를 나타내는 이형접합체의 감소 또는 열성유해유전자의 동형접합체의 증가로 인하여 성장 및 생존과 같은 적응관련형질이 열성화 현상으로 나타나는 것을 말한다. 근교약세현상으

로는 생존율 감소, 성장률 감소, 수정능력 감소 및 기형률 증가 등의 많은 연구결과가 보고되고 있다 (Kincaid, 1976; Markovic and Haley, 1979; Winemiller and Taylor, 1982; Su *et al.*, 1996). 특히 패류에 있어서는 *Crassostrea virginica*의 비정상적인 유생성장 및 수정율 감소 (Longwell and Stiles, 1973), *Pinctada fucatomartensii*는 생존율 및 체중감소 (Wada and Komaru, 1994), *Pomacea canaliculata*는 생존율, 체중 및 부화율 감소 (Fujio *et al.*, 1992, 1997), *Crassostrea gigas*는 생존율 및 성장의 감소 (Evans *et al.*, 2004) 등 많은 연구결과가 보고되었다. 그러나 성장이 느리며 장기간의 양식기간을 요하는 전복에 있어서는 Deng *et al.* (2005) 의 유생 변태율 및 성장의 감소, Park *et al.* (2006) 의 유생 기형률 증가 및 생존율 저하, Kobayasi *et al.* (2010) 의 수정율 및 기형률 저하를 나타낸 매우 적은 수의 연구만이 수행되었다.

Park *et al.* (2006) 및 Kobayasi *et al.* (2010) 는 근친교배구와 비근친교배구 간의 성장을 각각 1년 및 3년간 비교실험을 하였으나 유의적 차이는 없는 것으로 보고하고 있다. 이것은 각 실험구의 분리사육으로 인한 환경적인 영향 및 실험에 사용된 가계간의 근교약세의 정도에 따라 차이를 나타내거나 또는 나타내지 않을 수도 있다고 보고하고 있다 (Kobayasi *et al.*, 2010).

본 연구에서는 이러한 환경적 효과에 따른 성장차이를 최소화 하기 위하여 유생단계부터 각 가계별 같은 유생수를 계수하여 동일한 수조에 혼합 사육관리한 후 6개의 microsatellite DNA를 이용한 친자확인 기술을 통하여 4개월째 및 10개월째 각각 가계별 생존율 및 성장을 비교분석 하였다. 그 결과, 근친교배구 AA가계 및 BB가계의 생존율 및 성장이 비근친교배구 ww1 및 ww2가계보다 낮은 값을 나타냈다. 더욱이 성장의 경우는 근친교배구와 비근친교배구 간에 유의적 차이를 나타내었다. 이것은 근친교배에 의한 근교약세현상이 성장에서 나타나고 있는 것을 시사하고 있다.

본 연구결과에서 나타난 북방전복의 성장에 대한 근교약세 현상은 지속적인 전복양식산업의 발전에 있어 매우 중요한 연구 분야이다. 이러한 근교약세현상이 일어나지 않도록 종묘생산 시 유전적 다양성확보 및 어미계통관리 등 체계적이며 과학적인 방법을 도입하여 관리할 필요가 있다. 또한 방류용 종묘 생산에 있어서도 이러한 현상을 피할 수 있는 방안을 모색하여야 한다.

요 약

북방전복의 근친교배로 인한 근교약세현상의 유무를 명확히 하기 위하여 근친교배 2가계 (AA 및 BB) 와 비근친교배

(ww1 및 ww2) 2가계를 같은날 동시에 생산하여 유생단계부터 동일한 수조에 혼합 사육관리한 후 친자확인 기술을 통하여 4개월째 및 10개월째 각각의 가계별 생존율 및 성장을 비교분석하였다. 성장의 경우, 4개월째 근친교배구 AA가계만이 비근친교배구 ww1 및 ww2가계보다 유의적으로 낮은 값으로 나타났지만, 10개월째는 근친교배구 AA가계 및 BB가계 모두 비근친교배구 ww1 및 ww2가계보다 유의적으로 낮은 값을 나타냈다. 또한 생존율에 있어서도 근친교배구가 비근친교배구에 비하여 낮은 값을 나타내었다. 이것은 한세대의 근친교배 (근교계수 : 0.25) 에 있어서도 근교약세현상이 나타난다는 것을 보고하고 있다.

사 사

본 연구는 국립수산물과학원 (RP-2014-BT-051) 의 지원에 의해 연구 되었습니다.

REFERENCES

- Deng, Y., Liu, X., Zhang, G., Guo, X. (2005) Inbreeding depression and maternal effects on early performance of Pacific abalone. *North American Journal of Aquaculture*, **67**: 231-236.
- Evans, F., Matson, S., Brake, J., Langdon, C. (2004) The effects of inbreeding on performance traits of adult Pacific oyster (*Crassostrea gigas*). *Aquaculture*, **230**: 89-98.
- Fujino, K., (1978) Genetic studies on the Pacific abalone. I. Inbreeding and overdominance as evidenced by biochemical polymorphism in a wild population. *Nippon Suisan Gakkaishi*, **44**: 357-361.
- Fujio, Y., Yuzawa, A., Kikuchi, S., Koganezawa, A. (1986) Genetic study on the population structure of abalone. *Bulletin of Tohoku Regional Fisheries Research Laboratory*, **48**: 59-65.
- Fujio, Y., Kobayashi, M., Nakajima, M., (1992) Inbreeding depression in apple snail, *Pomacea canaliculata*. *Fish Genetics and Breeding Science*, **31**: 31-38. [in Japanese with English abstract].
- Fujio, Y., Nakajima, M., Showa, H., (1997) Selection and inbreeding depression in maintenance of a stock population of the apple snail *Pomacea canaliculata*. *Fisheries Science*, **63**: 368-371.
- Hara, M., Fujio, Y., (1992) Geographic distribution of isozyme genes in natural abalone. *Bulletin of Tohoku Regional Fisheries Research Laboratory*, **54**: 115-124.
- Kijima, A., Ikeda, M., Fujio, Y. (1992) Genetic characteristics of the artificial seed populations of abalone. *Fish Genetics and Breeding Science*, **18**: 53-63.
- Kincaid, H.L. (1976) Inbreeding in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Journal of the Fisheries Research Board of*

- Canada*, **33**: 2420-2426.
- Kobayashi, T. and Kijima, A. (2010) Effects of inbreeding depression in Pacific abalone *Haliotis discus hannai*. *Journal of Shellfish Research*, **29**: 643-649.
- Li, Q., Park, C., Kijima, A. (2002) Isolation and characterization of microsatellite loci in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*, *Journal of Shellfish Research*, **21**: 811-815.
- Longwell, A.C. and Stiles, S.S. (1973) Gamete cross incompatibility and inbreeding in the commercial American oyster, *Crassostrea virginica* Gmelin. *Cytologia (Tokyo)*, **38**: 521-533.
- Markovic, M. and Haley, L.E. (1979) Inbreeding depression in the Zebra fish *Brachydanio reio* (Hamilton Buchanan). *Journal of Fish Biology*, **15**: 323-327.
- Park, C.J., Li, Q., Kobayashi, T., Kijima, A. (2003) Characterization novel microsatellite DNA marker in the Pacific abalone, *Haliotis discus hannai*. *Fish genetics and Breeding science*, **33**: 19-24.
- Park, C., Li, Q., Kobayashi, T., Kijima, A., (2006) Inbreeding depression traits in Pacific abalone *Haliotis discus hannai* by factorial mating experiments. *Fisheries Science*, **12**: 774-780.
- Sekino, M., Saido, T., Fujita, T., Kobayashi, T., Takami, H. (2005) Microsatellite DNA markers of Ezo abalone (*Haliotis discus hannai*): a preliminary assessment of natural populations sampled from heavily stocked areas. *Aquaculture*, **243**: 33-47.
- Su, G.S., Liljedahl, L.E., Gall, G.A.E. (1996) Effects of inbreeding on growth and reproductive traits in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, **142**: 139-148.
- Wada, K.T. and Komaru, A. (1994) Effect of selection for shell coloration on growth rate and mortality in the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata martensii*. *Aquaculture*, **125**: 59-65.
- Winemiller, K.O. and Taylor, D.H. (1982) Inbreeding depression in the convict cichlid, *Cichlasoma nigrofasciatum* (Baird and Girard). *Journal of Fish Biology*, **21**: 399-402.