

흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*)의 유전체 기반 Microsatellite 마커 개발

동춘매 · 노은수 · 이미난 · 배선헤¹ · 황인준 · 강정하 · 정효선*

국립수산과학원 생명공학과, ¹국립수산과학원 서해수산연구소

Development of Genome-Based Microsatellite Markers for Whiteleg Shrimp *Litopenaeus vannamei*

Chun Mae Dong, Eun Soo Noh, Mi-Nan Lee, Sun-Hye Bae¹, In Joon Hwang, Jung Ha Kang and Hyo Sun Jung*

Biotechnology Research Division, National Institute of Fisheries Science, Busan 46083, Republic of Korea

¹West Sea Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science, Incheon 22383, Republic of Korea

The aim of this study was to develop genome-wide microsatellite (SSR) markers for whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* using a reference genome-based *in silico* approach and evaluate their applicability for genetic analysis in *L. vannamei* populations. A total of 9,123,781 perfect SSRs were identified from the reference genome (ASM378908v1) using the Krait software, and 96 candidate loci were initially selected. After PCR amplification and genotyping, eight polymorphic SSR markers were validated and selected. These markers were evaluated using broodstock samples ($n=82$) that were collected from three *L. vannamei* farms. The number of alleles (N_A) per locus ranged from 6 to 12 (mean=8.6), while the average observed heterozygosity (H_O) and expected heterozygosity (H_E) were 0.737 and 0.738, respectively. All markers exhibited polymorphism information content (PIC) values above 0.5 (mean = 0.685) and null allele frequencies below 0.1, indicating high informativeness and low bias. Genetic diversity analysis across the three broodstock populations revealed consistently high heterozygosity, minimal inbreeding coefficients and no significant deviation from the Hardy-Weinberg equilibrium. These results demonstrate that the developed SSR markers are reliable and effective tools for population genetics studies and selective breeding programs for *L. vannamei*.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*, Microsatellite markers, Genetic diversity

서론

흰다리새우(*Litopenaeus vannamei*)는 빠른 성장, 우수한 사료 이용 효율, 폭넓은 환경 적응력 및 질병 저항성과 같은 뛰어난 양식 형질을 바탕으로 전 세계에서 가장 널리 양식되는 갑각류이다(Khoa et al., 2020). 2019년 기준으로 흰다리새우는 전 세계 새우 생산량의 약 83.1%를 차지하였으며, 최근에는 전체 새우 생산량의 절반 이상이 양식업을 통해 공급되고 있다(Ferreira et al., 2021). 특히, 흰다리새우는 1-40 ppt 범위의 염도에서도 안정적으로 생존하고 성장할 수 있는 광염성 갑각류로, 내륙 지역의 저염분 기반 순환여과시스템(recirculating

aquaculture system) 및 바이오플락기술(biofloc technology)을 이용한 고밀도 집약 양식기술이 확대되고 있다(Yu et al., 2023; Pimentel et al., 2025). 국내에서도 흰다리새우는 전체 새우 양식 생산량의 약 52%를 차지하고 있으며, 양식 생산량은 2006년 약 600톤에서 2022년 약 9,500톤으로 증가하여 16배 이상의 성장을 보였다(Prangnell and Castro, 2016; KMI, 2023). 그러나 흰다리새우 양식 산업은 하와이산 SPF (specific pathogen free) 어미 새우의 수입에 크게 의존하고 있으며, 연간 약 5,791톤의 어미 새우가 수입되어 종자 생산에 이용하고 있다(NIFS, 2023). 이러한 구조는 국제 정세나 수출국의 여건 변화에 따라 국내 공급 안정성을 위협할 수 있으며, 장기적으로는 어미 자원

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 720. 2452 Fax: +82. 51. 720. 2456

E-mail address: jhs3010@korea.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2025.0273>

Korean J Fish Aquat Sci 58(4), 273-279, August 2025

Received 30 May 2025; Revised 8 July 2025; Accepted 23 July 2025

저자 직위: 동춘매(연구원), 노은수(연구사), 이미난(연구원), 배선헤(연구사), 황인준(연구관), 강정하(연구관), 정효선(연구사)

의 국산화와 유전적 기반 관리의 필요성이 제기되고 있다. 또한 흰반점병(white spot syndrome virus)과 급성간췌장괴사증(acute hepatopancreatic necrosis disease, AHPND) 등 치명적인 질병의 존재 역시 양식 산업의 생산성과 안정성에 중대한 위협 요소로 작용하고 있다(Park et al., 2020; Kumar et al., 2021). 특히 새우는 후천적 면역 체계가 부재하고, 예방제나 치료제가 개발되어 있지 않아 질병 발생 시 근본적인 대응이 어려우며, 연중 고위험 방역 체계에 의존할 수밖에 없다(Han et al., 2019). 실제로 2023년에는 AHPND가 전국적으로 확산되면서 새우 양식 생산량이 급감하였고, 법정 전염병 경보가 두 차례에 걸쳐 발령되었다. 이러한 구조적 취약성은 산업의 안정성과 지속 가능성을 저해할 수 있는 핵심 요인으로 작용하며, 질병 저항성과 환경 적응성이 우수한 개체를 선발하기 위한 유전 기반 육종 기술의 도입 필요성을 더욱 부각시키고 있다.

국내 양식 현장에서 활용되는 SPF 종자의 대부분은 해외에서 공급하고 있으나, 유전적 개량 및 다양성 관리 측면에서의 활용은 여전히 제한적인 실정이다. 특히 제한된 계통 내에서의 반복적인 증식은, 장기적으로 유전적 다양성 감소와 유전적 병목 현상을 초래할 가능성이 있으며, 이는 산업 전반의 지속 가능성을 저해할 수 있다(Doyle, 2014; Knibb et al., 2020). 이에 따라 국내 보유 개체군의 유전적 구조를 과학적으로 분석하고, 적응력과 내병성을 갖춘 개체 선발을 위한 분자마커 개발을 통한 유전학적 평가가 필요하다.

Microsatellite (simple sequence repeat, SSR) 마커는 반복 단위가 짧고 유전체 전반에 널리 분포하는 특성을 가지며, 높은 다형성(polymorphism), 공우성(co-dominance), PCR 기반 분석의 용이성 등의 장점으로 인해 수산생물의 유전학 및 분자육종 연구에 널리 활용된다(Wenne, 2023). SSR 마커는 개체 식별, 유전적 다양성 평가, 계통 구조 분석, 친자 확인 등 다양한 분야에 유용하며, 비교적 저비용으로 활용 가능한 효율적인 분자 마커로 평가된다(Vieira et al., 2016). 특히, 차세대 염기서열 분석 기술(next generation sequencing)의 발달은 SSR 마커를 유전체 전체 수준에서 고효율로 탐색하고 선별할 수 있게 하여, 다양한 수산생물 중에서 고신뢰성 마커 개발을 가능하게 하고 있다(Hung et al., 2016; Ariede et al., 2018). 흰다리새우의 경우, 과거에는 EST (expressed sequence tag) 기반 또는 전사체 기반의 SSR 마커가 일부 개발되었으나, 유전체 전반을 포괄하지 못하고 반복 서열 수와 다형성에 제한이 있어 실용성 면에서 활용에 제약이 있었다(Perez et al., 2005; Ren et al., 2022; Mangabeira-Silva et al., 2024).

본 연구에서는 이러한 한계를 보완하고 기능유전자 및 비암호화 영역을 포함한 포괄적 마커 후보군을 확보하고자 하기 위해 National Center for Biotechnology Information (NCBI)에 등록된 흰다리새우 참조 유전체(ASM378908v1)를 바탕으로 Krait 소프트웨어를 활용해 perfect SSR 마커를 탐색하였다. 이중 다형성 잠재력이 높은 마커를 선별하여 프라이머를 설계하

고, 실제 개체군을 대상으로 PCR 증폭성과 유전학적 특성을 평가함으로써, 흰다리새우의 개체 식별, 친자 확인, 분자육종 등에 활용 가능한 SSR 마커 세트를 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

시료 및 Genomic DNA 추출

흰다리새우의 microsatellite 마커를 개발에 사용된 시료는 총 84개체로 2023년 서산지역 양식장 3개소(A 집단, n=22; B 집단, n=30; C 집단, n=32)에서 확보된 모하들을 대상으로 분석하였다(Table 1).

흰다리새우의 genomic DNA는 DNeasy® 96 Blood & Tissue Kit (Qiagen GmbH, Hilden, Germany)를 사용하여 제조사의 매뉴얼에 따라 추출하였다. 근육 조직 25 mg을 E-tube에 넣고 ATL buffer 140 µL와 Proteinase K 10 µL를 첨가한 후, 혼합하여 56°C에서 8시간 반응시켰다. 이후 AL buffer 180 µL와 99% ethanol 180 µL를 첨가한 뒤, 혼합물을 S-Blocks의 DNeasy 96 plate에 옮겨 8,000 rpm (6,000 g)으로 1분간 원심분리하였다. 이어 column plate를 교체하고 AW1 buffer 450 µL를 첨가하여 동일한 조건으로 1분간 원심분리하였다. 같은 방식으로 column plate를 교체한 후 AW2 buffer 450 µL를 첨가하고 20,000 rpm (14,000 g)에서 3분간 원심분리하였다. 이후 컬럼을 공기 중에 건조시켜 ethanol을 제거하고, AE buffer 100 µL를 첨가하여 genomic DNA를 용출하였다. 추출된 DNA는 분광광도계를 이용해 농도를 측정하고, 적정 농도로 희석하여 분석에 사용하였다. 남은 DNA는 사용 전까지 4°C에서 냉장 보관하였다.

Microsatellite 탐색 및 프라이머 설계

흰다리새우(*L. vannamei*)의 유전자 마커 개발을 위해 NCBI에 등록된 참조 유전체인 ASM378908v1 (2018.11.16.)을 활용하였다. Krait v1.3.3 소프트웨어를 사용하여 유전체 내 SSR 서열을 탐색하였으며, annotation 정보를 기반으로 SSR의 위치를 exon, CDS, intron 등 기능적 영역별로 분류하였다.

탐색 과정에서는 불완전 SSR (imperfect SSR) 및 복합 SSR (compound SSR)을 제외하고, 완전 반복 구조를 가지는 완벽한 SSR (perfect SSR)만을 선별하였다. 이후 양측 500 bp 범위의 인접 염기서열 확보가 가능한 SSR 중에서, 유전적 다양성이 클

Table 1. Collections of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* samples used in the present study

No.	Sampling name (abbreviation)	Year of collection	Number of samples
1	A pop	2023	22 (♀ 7/♂ 15)
2	B pop	2023	30 (♀ 15/♂ 15)
3	C pop	2023	32 (♀ 18/♂ 14)

것으로 예상되는 intron 영역을 우선적으로 선발하고, 추가로 exon 및 CDS 영역에서도 SSR을 선택하였다.

선발된 SSR 마커 중에서는 반복 단위 수가 8회 이상이며, 2-3 개 유형의 반복 모티프를 포함한 마커를 우선적으로 고려하였다. 최종 SSR 마커 후보에 대해 Primer3 소프트웨어를 활용해 프라이머를 설계하였으며, 반복 서열의 양단 인접 영역을 기반으로 안정적인 PCR 증폭이 가능하도록 프라이머 서열을 설정하였다.

Microsatellite 마커의 PCR 증폭 및 검증

탐색된 microsatellite 영역의 증폭 가능성을 검토하기 위해, 각 집단(A, B, C)에서 4개체씩 총 12개체를 선별하여 PCR 분석을 수행하였다. PCR 반응 혼합물은 총 10 µL로 구성되었으며, 10× Ex Taq buffer (Mg²⁺ 포함) 1 µL, dNTP mixture (2.5 mM each) 0.8 µL, TaKaRa Ex Taq polymerase (5 U/µL) 0.1 µL, forward 및 reverse primer (각각 10 µM) 0.3 µL씩, template DNA 0.5 µL, 그리고 멸균 증류수로 구성되었다.

증폭은 Veriti™ 96-Well Fast Thermal Cycler (Applied Biosystems, Waltham, MA, USA)를 사용하여 다음과 같은 조건으로 수행되었다: 95°C에서 10분간 사전 변성 후, 95°C 1분(변성), 54°C 1분(annealing), 72°C 1분(신장)을 35회 반복하였으며, 72°C에서 7분간 최종 신장을 수행하였다. PCR 증폭산물은 1.8% agarose gel 전기영동을 통해 확인하였으며, 증폭이 확인된 마커에 대해 forward primer에 형광물질(6-FAM 또는 HEX)을 부착하여 동일한 조건으로 PCR을 반복 수행하였다. 형광표지된 PCR 산물은 GeneScan™ 400HD ROX size standard와 Hi-Di Formamide를 혼합하여 95°C에서 2분간 변성한 뒤, ABI PRISM® 3730XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems)를 이용하여 단편 크기를 분석하였다. 이 과정을 통해 마커의 안정적인 증폭 여부와 증폭산물의 정확한 크기를 확인하였다.

Microsatellite 마커 효율성 검증 및 유전적 다양성 분석

2023년 서산지역 3개소 양식장에서 확보된 3집단을 대상으로 최종 탐색된 microsatellite 마커의 효율성을 검증하였다. 각 마커의 다형성 정보지수(polymorphic information content, PIC)은 Cervus ver. 3.0.7 (Kalinowski et al., 2007)의 대립유전자 빈도 분석법을 적용하여 산출하였다. Null 대립유전자는 MICRO-CHECKER (v2.2.3; Oosterhout et al., 2004)를 통해 확인하였다. Arlequin version 3.1 (Excoffier et al., 2005) 소프트웨어를 이용하여 대립유전자 수(number of alleles, N_A), 관찰 이형접합률(observed heterozygosity, H_o), 기대 이형접합률(expected heterozygosity, H_e), 그리고 Hardy-Weinberg 평형(Hardy-Weinberg equilibrium, HWE) 이탈 여부를 분석하였다. 또한, FSTAT version 2.9.3 (Goudet, 1995)를 사용하여 집단 크기를 보정한 대립유전자 수(allelic richness, AR)와 근친교배 계수(inbreeding coefficient, F_{IS})를 산출하였다.

결과 및 고찰

흰다리새우 유전 분석을 위한 SSR 마커 후보 탐색

본 연구에서는 흰다리새우(*L. vannamei*)의 유전적 다양성 분석을 위해 SSR 마커를 개발하고 적용성을 평가하고자, 참조 유전체를 기반으로 마커를 탐색하고 실제 양식 개체군을 대상으로 유전학적 분석을 수행하였다. 먼저, SSR 마커 탐색의 정확도와 특이성을 확보하기 위해 사용된 참조 유전체의 기본 특성을 분석하였다. 흰다리새우 참조 유전체(ASM378908v1, 1.66 Gb)는 총 1,663,581,301 bp로 구성되어 있으며, 이 중 A, T, G, C로 명확히 규명된 유효 염기서열은 약 1.62 Gb로 전체의 97.26%에 해당한다. 유전체의 GC 함량은 36.69%, N 염기 비율은 2.74%로 SSR 마커 탐색의 정확성에 영향을 미치지 않는 수준임을 확인하였다(Teneva, 2009; Sigang et al., 2021) (Table 2). 참조 유전체를 기반으로 Krait v1.3.3 소프트웨어를 이용하여 perfect SSR을 탐색한 결과, 총 9,123,781개의 SSR이 검출되었으며, 이들의 반복 길이를 합산한 총 길이는 약 295 Mb로 전체 유전체의 약 17.76%를 차지하였다. 평균 SSR 반복 길이는 32.38 bp였으며, 유전체 1 Mb당 평균 5,638.8개의 SSR 유전자좌(loci)가 분포되었다. 반복 총 길이를 기준으로 한 상대 밀도는 182,539.22 bp/Mb로 나타났다(Table 2). 반복 유형별 분포는 di-nucleotide SSR이 7,250,157개로 가장 많았으며, tri-, tetra-, penta-, hexa-nucleotide SSR은 각각 628,311개, 654,474개, 60,135개, 100,171개로 나타났다(Table 3).

Microsatellite 마커 선발

탐색된 SSR 마커 중 분석의 정확성과 결과 해석의 신뢰도를 고려하여, 2-3개 염기 모티프를 가지며 최소 8회 이상 반복되는

Table 2. Genome assembly statistics

Item	Value
Total number of scaffolds	4,683
Total length of sequences (bp)	1,663,581,301
Total valid length of sequences (bp)	1,618,035,433
Unkown bases (Ns) in sequences (bp)	45,545,868
Percentage of unkown bases (%)	2.74
GC content (%)	36.69
Total number of perfect SSRs	9,123,781
Total length of perfect SSRs (bp)	295,354,926
The average length of SSRs (bp)	32.38
SSRs per scaffold	1,948
The percentage of sequence covered by SSRs (%)	17.76
Relative abundace (loci/Mb)	5,638.8
Relative density (bp/Mb)	182,539.22

SSR, Simple sequence repeat.

Table 3. Distribution and characteristics of perfect SSR motifs identified in the whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* genome

Motif type	Number of SSRs	Proportion (%)	Average length (bp)
Mono	430,533	4.72	18.49
Di	7,250,157	79.46	34.84
Tri	628,311	6.89	23.52
Tetra	654,474	7.17	22.92
Penta	60,135	0.66	28.67
Hexa	100,171	1.10	32.65
Total	9,123,781	100.00	-

SSR, Simple sequence repeat.

마커를 우선적으로 선발하였다. 이후 반복 염기의 유형과 반복 수, 프라이머 위치, 증폭산물의 크기 등을 종합적으로 고려하여 총 96개의 SSR 마커를 1차 후보로 선정하였다. 1차 후보 마커들을 대상으로 PCR 증폭 여부와 증폭산물의 크기 등을 확인한 결과, 52개의 마커가 안정적으로 증폭되어 microsatellite 마커 후보로 확정되었다. 이들 52개 후보 마커에 형광 표지(6-FAM 또는 HEX)를 부착한 후 유전자형 분석을 수행하였으며, 대립 유전자의 수 및 크기 변이를 기반으로 평가한 결과, 최종적으로 8개의 microsatellite 마커를 선발하였다(Table 4).

Microsatellite 마커 효율성 검증 및 유전적 다양성 분석

최종 선발된 8개의 microsatellite 마커의 효율성을 검증하기

위해, 국내 흰다리새우 양식장 3개소(A, B, C)에서 확보한 어미 그룹(3집단, n=82)을 대상으로 유전학적 특성 분석을 수행하였다.

Microsatellite 마커의 다형성 정보량을 나타내는 PIC는 평균 0.685로 나타났으며, 가장 높은 값은 LVms_09 (0.793), 가장 낮은 값은 LVms_18 (0.545)로 확인되었다(Table 5). 모든 마커의 PIC 값이 0.5 이상으로, 이는 높은 다형성과 신뢰도를 바탕으로 개체 식별 및 집단 간 분화 분석에 유용한 수준으로 평가된다(Serrote et al., 2020). 또한 null 대립유전자 분석 결과, 전체 8개 마커 중 2개(LVms_24 및 LVms_27)에서 null 대립유전자가 검출되었으며, 각각의 빈도는 0.0716 및 0.098로 나타났다. 일반적으로 null 대립유전자 빈도가 0.1 미만이면 유전 분석에 미치는 영향은 제한적이며 허용 가능한 수준으로 간주된다(Dakin and Avise, 2004; Chapuis and Estoup, 2007). 따라서 본 연구에서 확인된 null 대립유전자의 빈도 역시 허용 범위 내에 있어, 분석 신뢰도나 마커의 실용성을 저해하지 않는 것으로 판단된다. 이러한 결과는 해당 마커들이 수산생물 유전다양성 연구에서 고다형성(highly polymorphic) 마커로 간주되는 기준(Liu and Cordes, 2004)을 충족함을 의미하며, 개체 식별, 집단 구분 등 다양한 유전학적 분석에 적합한 도구로 활용 가능성을 시사한다.

각 유전자좌의 N_A 는 3개에서 10개 사이로 분포하였으며, 평균 9개로 확인되었다. H_O 은 0.364–0.955 범위로 평균 0.737, H_E 은 0.554–0.879 범위로 평균 0.738로 나타났다(Table 5). 이처럼 H_O 과 H_E 가 모두 높은 수준(≥ 0.5)을 보이고, 양자 간 차이도 작을 경우(≤ 0.15), 해당 마커는 정보성이 우수하고 집단 내

Table 4. Characteristics of 8 microsatellite loci developed in whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*

Name (id)	Primer sequence (5'→3')	Repeat	Dye	Observed range size (bp)	Locus
LVms_09	F-GTAGTATAGCCGTCGGGAG R-CGCTGTTCAGGAAGATGACA	(ACA) ₁₃	FAM	124-160	CDS
LVms_18	F-GCATTCCAGATAGCTGCACT R-AGCCTATGCATTATAGCCTGC	(TC) ₁₁	FAM	172-182	Exon
LVms_22	F-TTCAGCAGTCCAATACAGCC R-ACATTCTCCACCGCAAGATC	(AGA) ₉	FAM	180-201	Exon
LVms_24	F-GAATTTACGCATACGCAGGC R-GCAGGGTTGGAGAAGTACAG	(TC) ₁₁	FAM	195-207	CDS
LVms_32	F-CCTACGTGGGCTATTGGTCT R-CCGACACTTTACCACTGCAC	(TC) ₁₀	HEX	190-210	CDS
LVms_33	F-ACCTTACCTGCCTATTTACCA R-ACATTCCAACGACGATGTCA	(AGG) ₉	HEX	197-218	CDS
LVms_27	F-TGACCGTGGTACCATTCTTG R-CAAATCCTCCACCAGCTTA	(GA) ₉	FAM	303-319	Exon
LVms_28	F-TGGATCTCTAAGCTTTAGCAGT R-AGGCAACAGTTTCTGGATTGA	(TG) ₈	FAM	294-318	Exon

이형접합체 결핍이 적어 유전다양성 분석에 적합한 것으로 판단된다(Taniguchi, 2003; Liu et al., 2022).

집단 내 무작위 교배 여부를 평가하기 위해 F_{IS} 를 분석한 결과, 평균 0.002로 나타났으며, 값의 범위는 -0.323에서 0.403 사이였다(Table 5). 이는 본 연구에 포함된 흰다리새우 집단 내에서 무작위 교배(random mating)가 이루어지고 있으며, 근친교배로 인한 유전적 다양성 감소 위험이 낮은 것으로 판단된다. 또한, 이형접합체 결핍 여부를 확인하기 위해 수행한 HWE 검정 결과, 8개의 microsatellite 마커 모두에서 Bonferroni 보정 ($\alpha=0.00625$)을 적용한 유의성 검정에서 통계적으로 유의한 이탈이 관찰되지 않아, 전체 집단이 유전적 평형 상태를 유지하고

있는 것으로 나타났다. 이러한 결과는 Zhang et al. (2023)이 보고한 중국 내 4개 선발 계통군의 유전다양성 지표($H_O=0.446$, $H_E=0.566$, $F_{IS}=0.057$) 및 Ren et al. (2018)이 중국 전역 22개 양식장에서 확보한 36개 계통의 평균 지표($N_A=5.85$, $H_O=0.66$, $H_E=0.69$, $F_{IS}=0.08$)와 비교할 때, 본 연구 집단이 더 높은 이형접합도(H_O , H_E)와 더 낮은 F_{IS} 를 보여주어, 상대적으로 유전적 다양성이 높고 안정적인 유전 구조를 유지하고 있는 것으로 판단된다. 그러나 Tong et al. (2009)은 흰다리새우의 경우 세대가 거듭될수록 유전적 다양성이 점차 감소하고 근친도가 높아져 유전원 퇴화(germplasm degradation)의 위험이 존재한다고 지적하였으며, 이를 예방하기 위해 외부 계통의 주기적인 유입

Table 5. Genetic diversity indices of 8 microsatellite loci in three whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* broodstock populations

Loci	Locus									Mean all loci
	LVms_09	LVms_18	LVms_22	LVms_24	LVms_32	LVms_33	LVms_27	LVms_28		
A pop (n=22)	N_A	10	3	7	3	10	6	5	6	6
	AR	10	3	7	3	10	6	5	6	6
	H_O	0.955	0.727	0.682	0.364	0.909	0.773	0.591	0.955	0.744
	H_E	0.841	0.554	0.592	0.604	0.879	0.711	0.689	0.770	0.705
	F_{IS}	-0.138	-0.323	-0.156	0.403	-0.034	-0.088	0.146	-0.248	-0.055
	PIC	0.803	0.463	0.544	0.518	0.845	0.642	0.623	0.712	0.644
	HW*	0.934	0.171	0.885	0.023	0.912	0.957	0.054	0.212	0.518
B pop (n=30)	N_A	7	4	6	6	8	5	7	8	6
	AR	7	4	5	6	7	5	7	8	6
	H_O	0.800	0.533	0.567	0.833	0.667	0.733	0.600	0.833	0.696
	H_E	0.793	0.593	0.597	0.820	0.732	0.706	0.803	0.817	0.732
	F_{IS}	-0.009	0.102	0.051	-0.017	0.09	-0.04	0.256	-0.02	0.052
	PIC	0.748	0.497	0.547	0.779	0.689	0.639	0.758	0.778	0.679
	HW*	0.507	0.365	0.166	0.926	0.889	1.000	0.019	0.626	0.562
C pop (n=32)	N_A	10	6	5	7	9	6	7	9	7
	AR	10	6	5	7	8	6	7	8	7
	H_O	0.844	0.844	0.813	0.719	0.906	0.688	0.625	0.719	0.770
	H_E	0.856	0.720	0.764	0.782	0.843	0.725	0.774	0.747	0.776
	F_{IS}	0.015	-0.176	-0.064	0.082	-0.077	0.052	0.195	0.038	0.008
	PIC	0.827	0.674	0.712	0.736	0.808	0.676	0.727	0.698	0.732
	HW*	0.425	0.194	0.338	0.437	0.748	0.006	0.003	0.520	0.334
Mean all loci	N_A	12	6	8	7	11	8	8	9	9
	H_O	0.866	0.701	0.687	0.639	0.827	0.731	0.605	0.836	0.737
	H_E	0.830	0.622	0.651	0.735	0.818	0.714	0.756	0.778	0.738
	F_{IS}	-0.044	-0.132	-0.056	0.156	-0.007	-0.025	0.199	-0.077	0.002
	PIC	0.793	0.545	0.601	0.678	0.781	0.652	0.703	0.729	0.685
	HW*	0.622	0.243	0.463	0.462	0.849	0.654	0.025	0.453	0.471

N_A , Number of alleles per locus; AR, Allelic richness; H_O , Observed heterozygosity; H_E , Expected heterozygosity; F_{IS} , Inbreeding coefficient; PIC, Polymorphic information content; HW, Hardy-Weinberg equilibrium. *Not in conformity with Hardy-Weinberg equilibrium ($P<0.00625$, Bonferroni-corrected value)

이 필요하다고 강조한 바 있다. 따라서 이번 연구에서 확인된 집단들의 유전적 다양성 수준은 비교적 양호하나, 장기적인 유전적 건강성과 산업적 지속 가능성을 위해 계획적인 계통 관리와 유전적 다양성 확보를 위한 체계적인 관리 전략이 필요하다고 판단된다.

본 연구에서는 NCBI에 등록된 참조 유전체를 기반으로 SSR 마커를 탐색하고, 유전적 다양성이 높은 마커를 선별하여 총 8개의 고신뢰성 microsatellite 마커를 개발하였다. 이들 마커는 높은 다형성과 안정적인 유전학적 특성을 바탕으로, 흰다리새우의 개체 식별, 친자확인, 유전적 다양성 모니터링은 물론, 향후 국산 종자의 유전적 기반 관리 및 분자육종 적용을 위한 핵심 도구로 활용될 수 있을 것으로 기대된다.

사 사

이 논문은 국립수산물과학원 수산과학연구사업(R2025018, 수산 유전자원의 탐색 및 활용)의 지원으로 수행되었습니다.

References

- Ariede RB, Freitas MV, Hata ME, Mastrochirico-Filho VA, Pilarski F, Batlouni SR, Porto-Foresti F and Hashimoto DT. 2018. Microsatellites associated with growth performance and analysis of resistance to *Aeromonas hydrophila* in *Tambaquí Colossoma macropomum*. *Front Genet* 9, 3. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00003>.
- Chapuis MP and Estoup A. 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation. *Mol Bio Evol* 24, 621-631. <https://doi.org/10.1093/molbev/msl191>.
- Dakin EE and Avise JC. 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis. *Heredity* 93, 504-509. <https://doi.org/10.1038/sj.hdy.6800545>.
- Doyle RW. 2014. Inbreeding and disease in tropical shrimp aquaculture: A reappraisal and caution. *Aquac Res* 47, 21-35. <https://doi.org/10.1111/are.12472>.
- Excoffier L, Laval G and Schneider S. 2005. Arlequin (ver.3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. *Evol Bioinform* 1, 47-50. <https://doi.org/10.1177/117693430500100003>.
- Ferreira GS, Santos D, Schmachtl F, Machado C, Fernandes V, Bogner M, Schleder DD, Seiffert WQ and Vieira FN. 2021. Heterotrophic, chemoautotrophic and mature approaches in biofloc system for Pacific white shrimp. *Aquaculture* 533, 736099. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.736099>.
- Goudet J. 1995. FSTAT (version 1.2): A computer program to calculate F-statistics. *J Hered* 86, 485-486. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jhered.a111627>.
- Han JE, Kim JE, Jo H, Eun JS, Lee C, Kim JH, Lee KJ and Kim JW. 2019. Increased susceptibility of white spot syndrome virus-exposed *Penaeus vannamei* to *Vibrio parahaemolyticus* causing acute hepatopancreatic necrosis disease. *Aquaculture* 512, 734333. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734333>.
- Hung CM, Yu AY, Lai YT and Shaner PJ. 2016. Developing informative microsatellite markers for non-model species using reference mapping against a model species' genome. *Sci Rep* 6, 23087. <https://doi.org/10.1038/srep23087>.
- Kalinowski ST, Taper ML and Marshall TC. 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Mol Ecol* 16, 1099-1106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2007.03089.x>.
- Khoa TND, Tao CT, Van Khanh L and Hai TN. 2020. Super-intensive culture of white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in outdoor biofloc systems with different sunlight exposure levels: Emphasis on commercial applications. *Aquaculture* 524, 735277. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735277>.
- KMI (Korea Maritime Institute). 2023. Fisheries Trend Analysis Report. FTA 2020-03, KMI, Busan, Korea, 1-30.
- Knibb W, Giang CT, Premachandra HKA, Ninh NH and Domínguez BC. 2020. Feasible options to restore genetic variation in hatchery stocks of the globally important farmed shrimp species, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture* 518, 734823. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2019.734823>.
- Kumar V, Roy S, Kumar Behera B, Bossier P and Das BK. 2021. Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): Virulence, pathogenesis and mitigation strategies in shrimp aquaculture. *Toxins* 13, 524. <https://doi.org/10.3390/toxins13080524>.
- Liu B, Li J, Zhang K, Peng Y, Liu Y, Jin X, Zheng S, Wang Y, Liu L, Lü Z, Zhang S4 and Gong L. 2022. Population structure and genetic diversity in wild dotted gizzard shad (*Konosirus punctatus*) revealed by microsatellite markers. *Front Mar Sci* 9, 1048279. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.1048279>.
- Liu ZJ and Cordes JF. 2004. DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* 238, 1-37. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.05.027>.
- Mangabeira-Silva IS, Soares PET, Vieira da Silva YT, Rodrigues de Albuquerque BHD, Câmara de Oliveira MTF, Ferreira LAH, Bezerra de Souza MF, Lucena DV, Paiva Pereira JM, Pinheiro e Silva RP and Lanza DCF. 2024. Characterization of microsatellite markers in the coding regions of the *Penaeus vannamei* genome. *PLoS One* 19, e0289351. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0289351>.
- NIFS (National Institute of Fisheries Science). 2023. A Value Chain Analysis of Major Aquaculture Products (White Leg Shrimp). National Institute of Fisheries Science, Busan, Korea, 1-141.
- Oosterhout CV, Hutchinson WF, Wills DPM and Shipley P. 2004. MICRO-CHECKER: Software for identifying and

- correcting genotyping errors in microsatellite data. *Mol Ecol Notes* 4, 535-538. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00684.x>.
- Park SC, Choi SK, Han SH, Park S, Jeon HJ, Lee SC, Kim KY, Lee YS, Kim JH and Han JE. 2020. Detection of infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus and white spot syndrome virus in whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) imported from Vietnam to South Korea. *J Vet Sci* 21, e31. <https://doi.org/10.4142/jvs.2020.21.e31>.
- Perez F, Ortiz J, Zhinaulta M, Gonzabay C, Calderon J and Volckaert FAMJ. 2005. Development of EST-SSR markers by data mining in three species of shrimp: *Litopenaeus vannamei*, *Litopenaeus stylirostris*, and *Trachypenaeus birdy*. *Mar Biotechnol* 7, 554-569. <https://doi.org/10.1007/s10126-004-5099-1>.
- Pimentel OALF, Schwarz MH, van Senten J, Wasielesky W, Urick S, Carvalho A, McAlhaney E, Clarington J and Krummenauer D. 2025. The super-intensive culture of *Penaeus vannamei* in low salinity water: A comparative study among recirculating aquaculture system, biofloc, and synbiotic systems. *Aquaculture* 596, 741774. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2024.741774>.
- Prangnell DI and Castro LF. 2016. Some limiting factors in superintensive production of juvenile Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei* in no-water-exchange, biofloc-dominated systems. *J World Aquacult Soc* 47, 396-413. <https://doi.org/10.1111/jwas.12275>.
- Ren S, Mather PB, Tang B and Hurwood DA. 2018. Levels of genetic diversity and inferred origins of *Penaeus vannamei* culture resources in China: Implications for the production of a broad synthetic base population for genetic improvement. *Aquaculture* 491, 221-231. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2018.03.036>.
- Ren S, Mather PB, Tang B and Hurwood DA. 2022. Standardized microsatellite panels for pedigree management of farmed white-leg shrimp (*Penaeus vannamei*) stocks validated in a VIE tagged family selection line. *Aquaculture* 551, 737946. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.737946>.
- Serrote CML, Reiniger LRS, Silva KB, Rabaiolli SMDS and Stefanel CM. 2020. Determining the polymorphism information content of a molecular marker. *Gene* 726, 144175. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2019.144175>.
- Sigang F, Hao H, Yong L, Pengfei W, Chao Z, Lulu Y, Xiuting Q and Lihua Q. 2021. Genome-wide identification of microsatellite and development of polymorphic SSR markers for spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*). *Aquac Rep* 20, 100677. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100677>.
- Taniguchi N, Perez-Enriquez R and Estu N. 2003. DNA markers as a tool for genetic management of brood stock for aquaculture. In: *Aquatic Genomics*. Shimizu N, Aoki T, Hirono I and Takashima F, eds. Springer, Tokyo, Japan, 417-429. https://doi.org/10.1007/978-4-431-65938-9_38.
- Teneva A. 2009. Molecular markers in animal genome analysis. *Biotechnol Anim Husb* 25, 1267-1284.
- Tong X, Gong S, Yu D, Huang G, Du B and Li S. 2009. Genetic diversity of cultured Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) stocks of different generations in China. *Oceanol Limnol Sin* 40, 214-220.
- Vieira MLC, Santini L, Diniz AL and Munhoz CF. 2016. Microsatellite markers: What they mean and why they are so useful. *Genet Mol Biol* 39, 312-328. <https://doi.org/10.1590/1678-4685-GMB-2016-0027>.
- Wenne R. 2023. Microsatellites as molecular markers with applications in exploitation and conservation of aquatic animal populations. *Genes* 14, 808. <https://doi.org/10.3390/genes14040808>.
- Yu YB, Lee JH, Choi JH, Choi YJ, Jo AH, Choi CY, Kang JC and Kim JH. 2023. The application and future of biofloc technology (BFT) in aquaculture industry: A review. *J Environ Manag* 342, 118237. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.118237>.
- Zhang Z, Lu C, Lin K, You W and Yang Z. 2023. Genetic diversity and genetic structure among four selected strains of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) using SSR markers. *Fishes* 8, 544. <https://doi.org/10.3390/fishes8110544>.