

넙치 우량혈통 선발육종을 위한 연구

Ⅲ. 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체 넙치의 유도

이운아 · 박상용 · 방인철

순천향대학교 생명과학부

서론

넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 1980년대 초부터 일본으로부터 수정란을 도입하여 양식되기 시작하였으며, 현재 전 연안에서 종묘생산 또는 양식이 이루어지고 있다. 그러나 최근 연안어장의 오염과 질병의 발생으로 인해 넙치 양식 생산성이 크게 낮아지고 있다. 또한 장기간 동일계통의 넙치를 친어로 이용함으로써 유전적 열성화로 인한 많은 문제점이 나타나고 있는 실정이다.

체세포분열 억제성 자성발생 기법은 감수분열 억제성 자성발생과 달리 정자 불활성 및 제 1난할 억제에 의한 모계 유전자만으로 발생이 이루어지는 염색체공학 기법으로서, 단기간 내에 우수한 품종의 순계 획득과 유전적으로 동일한 clone 집단을 생산할 수 있는 장점이 있다. 체세포분열 억제성 자성발생 기법은 넙치의 경우 田畑·五利江(1988)의 압력처리에 의한 유도가 보고된 바 있고, 우리나라에서는 메기와 미꾸라지 2종의 보고가 있다(Im et al, 2000; Nam et al, 2000). 그러나 기존 압력처리 방법은 생존율이 2.7~5.3%로 매우 낮고, 조작의 번거로움과 고가의 장비가 필요한 단점이 있어 본 연구에서는 고온처리를 통해 저렴하고 간단한 처리방법을 개발하고자 하였다.

재료 및 방법

채란 및 수정 : 전남 여수시 경양수산 내에서 관리 중인 넙치 암컷(양식산) 20마리에서 채란한 알과 감성돔 수컷 4마리에서 얻은 정자를 이용하였다. 우선 감성돔 정자는 3,200 erg/mm² 조건으로 불활성화한 다음 넙치 알과 수정시켜 실험에 사용하였고, 자외선 조사를 하지 않은 감성돔 정자와 넙치 난을 수정시켜 sham control로 사용하였다.

적정 처리방법 결정 : 먼저 적정 처리 개시 시간을 알아보하고자 수온 19℃에서 수정

후 24분부터 52분까지 2분간격으로 처리하여 각 그룹별 생존율과 자성발생성 2배체 유도율을 조사하였다. 또 적정 처리 온도 및 처리 시간을 알아보기 위해 35℃, 37℃, 39℃, 41℃에서 2분, 2분30초, 3분으로 처리하여 각각의 생존율을 구하였다.

자성발생성 2배체의 유도율 및 반수체의 분석 : 실험군의 넙치를 부화 직전에 70% alcohol에 고정시킨후 silver staining하여 NOR의 염색수를 관찰하였으며, chopping method에 의해 염색체 수를 관찰하였고 반수체 증후군 개체를 counting하여 적정 처리 조건을 구명하였다.

결과 및 요약

- 적정 처리 개시 시간 결정

부화직후 생존율을 조사한 결과 control은 38.2%였으며, sham control은 0%였다. 수정 후 28분 처리군은 1.8%, 30분 처리군은 4.5%, 32분 처리군은 2.1%로 30분에서 가장 높게 나타났으며, 이후 감소하다가 수정 후 44분 처리군에서 3.4%로 다시 높아지는 결과를 나타내었다. 이러한 결과는 수정 후 30분에 넙치의 제 1난황을 위한 핵분열기가 일어나는 시기이며, 44분에 세포분열이 일어나는 시기인 것으로 판단된다.

- 적정 처리 온도 및 처리 시간 결정

수정 후 30분에 37℃에서 3분간 처리한 실험군이 4.8%로 가장 생존율이 높아 적정 처리 온도 및 처리시간으로 나타났다.

- 자성발생성 2배체와 반수체의 분석

NOR 염색 결과 자성발생성 2배체는 1개 또는 2개의 염색부위가 관찰되었지만 반수체는 1개만이 관찰되었고, 염색체 수는 반수체는 24개만이 관찰되었으나 자성발생성 2배체는 48개의 염색체가 관찰되어 자성발생성 2배체가 정상적으로 유도되었음을 입증하였다.

참고문헌

- 임재현·방인철·노충환·박인석, 2000. 체세포분열 억제성 자성발생 2배체 메기, *Silurus asotus* 유도. 한국양식학회지, 13: 359-362.
- Nam Y. K., G. C. Choi and D. S. kim, 1999. Blocking the 1st cleavage in mud loach, *Misgurnus mizolepis*. *Aquaculture*, 9: 463-469.
- Nam Y. K., Y. S. Cho and D. S. Kim, 2000. Isogenic transgenic homozygous fish induced by artificial parthenogenesis. *Transgenic Res.*, 9: 463~469.
- 田畑和男, 五利江 重昭, 1988. 第 1 卵割阻止によるヒラメの雌性發生 2배체의誘起と飼育特性. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54: 1867-1872.