

양식산 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*) 2배체 및 유도된 3배체의 염색체 다형현상

김동수, 김종만*, 박인석*

부산수산대학교 생물공학과 · *한국해양연구소 해양생물공학실

Chromosomal Polymorphism in Diploid and Induced Triploid Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*

Dong Soo Kim, Jong-Man Kim* and In-Seok Park*

Department of Biological Science and Technology

National Fisheries University of Pusan

Pusan 608-737, Korea

*Marine Bioengineering Lab., KORDI, Ansan

425-600, Korea

ABSTRACT

Genetic analysis of rainbow trout populations in hatchery stocks is important in order to develop a strategy for their management. In this study, chromosome number and polymorphisms of diploid and artificially induced triploid rainbow trout are described. The relationship between chromosomal polymorphism and their economic values for the aquaculture industry are also discussed.

서 론

무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*)는 연어 과(Family Salmonidae)의 연어 속(Genus *Oncorhynchus*)에 속하는 어류로서 북반구 냉수계에 넓게 분포한다 (Smith and Stearly, 1989). 본 종은 연어 과 어류 중 성장이 비교적 빠르고 사육이 용이하며, 맛이 좋아 널리 양식되고 있는 어종으로써 우리나라에는 1960년대부터 도입, 사육되고 있다.

무지개송어의 염색체에 대한 연구는 Bungenberg De Jong (1955) 및 Wright (1955)에 의해 초기 발생 난을 대상으로 $2n=60$ 임이 밝혀진 후, Ohno *et al.* (1965)은 척추 동물계 최초로 무지개송어에서 개체 간 염색체 다형 현상을 보고하였고, 이후 자연 수계에서 무지개송어의 개체 내 또는 개체 간 Robertsonian 전좌에 의한 염색체 다형 현상이 빈번히 보고되고 있다. 따라서 무지개송어를 위시한 연어 속 어류에 있어 Robertsonian 전좌에 의한 염색체 다형 현상은 유전 진화학적 측면에서 매우 중요시 되고 있다 (Hartley and Horne, 1982; Heckman *et al.*, 1971; Thorgaard, 1976; Ueda *et al.*, 1983). 그러나 이제까지 염색체 다형현상을 가진 개체들에 대한 자연계에서의 생존율이나 성장률 등 그들이 자연 생태계에 미치는 영향은 물론 주요 양식 대상 어종인 무지개송어에 있어 양식 산업과 염색체 다형 현상과의 연관성은 보고된 바 없다.

이에 본 연구는 국내에서 양식되고 있는 무지개송어의 유전 육종학적 연구의 일환으로 이들에 대한 염색체 분석을 실시하여, 양식되고 있는 개체들간에 Robertsonian 전좌에 의한 염색체 다형 현상의 존재 여부를 조사하였다. 특히 무지개송어는 현재 전 세계적으로 양식 산업에 있어 성숙 및 산란기에 나타나는 문제점을 제거하기 위해 불임 3배체를 만들어 양식 산업에 이용하고 있는 점을 고려 (Bye

and Lincoln, 1981 ; Johnston *et al.*, 1979 ; Thorgaard, 1986), 최근 Kim *et al.*(1986, 1988)에 의해 유도되어 국내에서 산업화 되고 있는 3배체 집단의 염색체 수 및 그의 빈도를 조사함으로써 무지개송어 집단에서 나타나는 염색체 다형 현상이 본종의 양식 산업에 끼치는 문제점을 세포 유전학적 측면에서 고찰하였다.

재료 및 방법

강원도 춘성군 신북면 산천리에 위치한 호림 수산에서 사육 중인 친어로부터 생산된 1년생 무지개송어 60 마리를 사용하였다. 염색체 분석을 위하여 기존의 신장 직접법을 조금 수정하여 염색체 표본을 작성하였으며 현미경 관찰로 염색체 수 조사 및 핵형 분석을 행한 후 현미경 사진에 의해 idiogram을 작성하였다. 염색체의 분류는 Levan *et al.*(1964)의 기준에 의거하였으며, 염색체 분석에 사용된 각 개체들의 성 판별을 위하여 생식소 압착법 및 조직 절편법을 병행 실시하였다.

무지개송어 3배체 유도는 수정난에 Kim *et al.*(1986, 1988)의 방법을 약간 수정하여 처리 유도하였으며, 유도된 3배체 72 마리를 분석에 사용하였다. 유도 3배체의 염색체수, 핵형 분석, idiogram 작성 및 성 판별은 역시 2배체 분석 시 사용된 방법과 동일하게 실시하였다. 단, 염색체의 숫자가 많은 점을 고려 countable metaphase 만을 현미경 사진 작성하여 상기 분석을 실시하였다.

결 과

양식산 무지개송어 2배체의 염색체 분석 결과 염색체 수 60 개 및 61 개의 개체간 염색체 다형 현상이 관찰되었으며 그 빈도는 분석된 55 마리 중 21 마리에서 $2n=60$ 으로 나타나 38.2%의 빈도를 보였고 $2n=61$ 인 개체는 분석된 55 마리중 34 마리에서 나타나 61.8%의 빈도를 보였다 (Table 1). 2배체의 핵형 분석 결과 $2n=60$ 인 개체는 44 개의 meta 또는 submetacentric 염색체 및 16 개의

Table 1. Sex ratio and chromosome frequency in diploid population

Chromosome number	Sex* (%)		Total number of fish observed(%)
	Female	Male	
60	10(47.6)	11(52.4)	21/55(38.2)
61	20(58.8)	14(41.2)	34/55(61.8)

* Number. of individual

subtelocentric 또는 acrocentric 염색체로 구성되어 있었다 (Fig. 1a). $2n=61$ 인 개체에 있어서는 43 개의 meta 또는 submetacentric 염색체와 18 개의 subtelocentric 또는 acrocentric 염색체로 구성되어 있었으며, idiogram 작성 결과 분석된 개체 모두에서 metacentric 염색체인 11 번 염색체 1 개가 결실되어 있어, $2n=60$ 인 개체들에 비해 acrocentric 염색체 1 쌍이 증가되어 있었으나 모든 개체의 arm number는 104 개로 동일하였다 (Fig. 1b and 1c).

분석된 개체 모두에서 암컷의 경우 subtelocentric 염색체 1 쌍이 존재하여 XX 염색체로 확인되었으며 수컷의 경우 1 개의 subtelocentric 염색체와 1 개의 acrocentric 염색체(Y)로 구성되어 성염색체가 존재하였다. 또한 가장 작은 submetacentric 염색체는 그의 장완에 부수체(satellite)가 존재하였다.

유도된 3배체의 염색체 수 및 그의 빈도는 Table 2에서 보듯이 염색체 수 각각 $n=30$ 인 정, 난자의

양식산 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*) 2 배체 및 유도된 3 배체의 염색체 다형현상

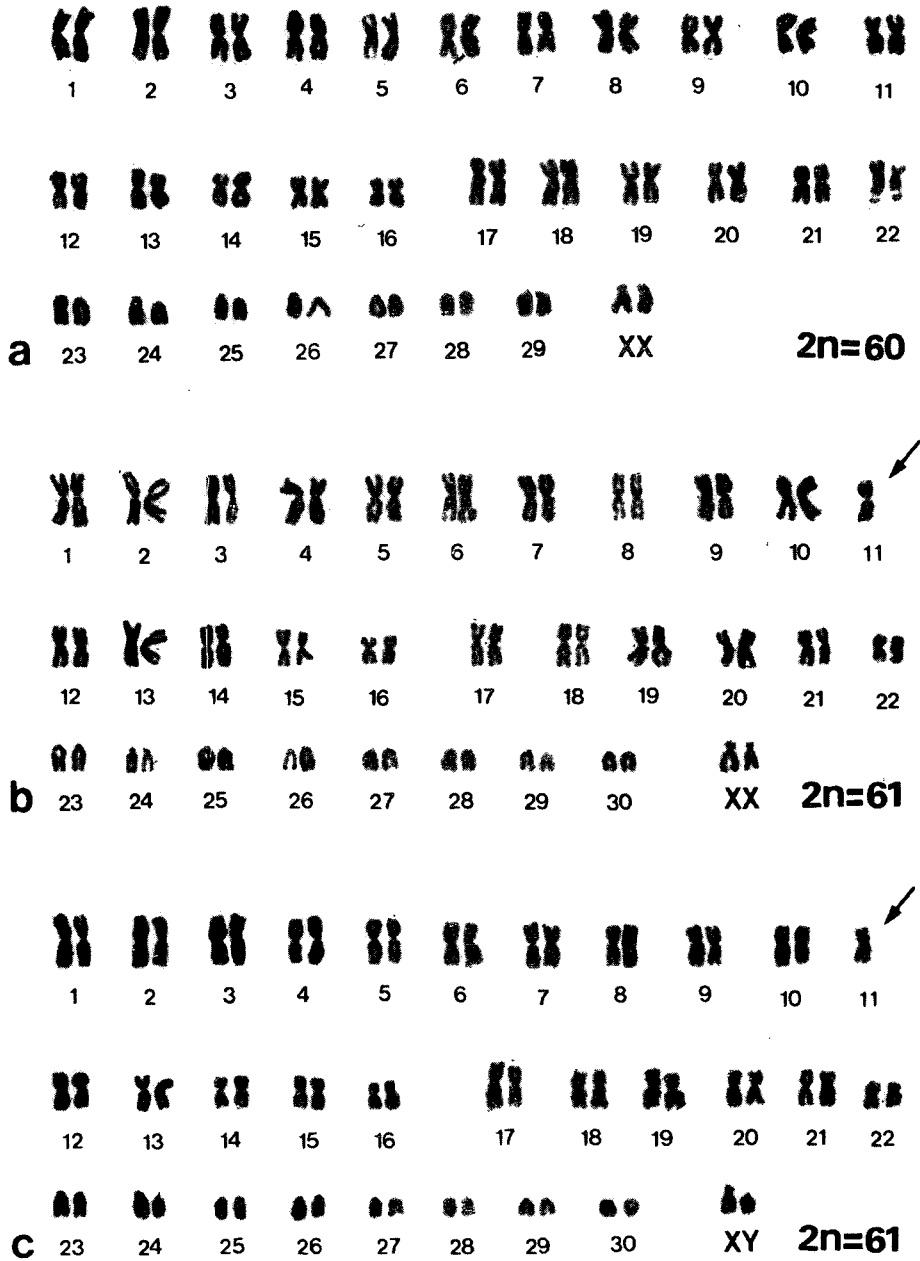


Fig. 1. Karyotypes of diploid population. The arrows indicate Robertsonian translocated chromosomes.

a ; 2n=60 (female) b ; 2n=61 (female) c ; 2n=61 (male)

Table 2. Sex ratio and chromosome frequency in triploid population

Chromosome number	Sex* (%)		Total number of fish observed(%)
	Female	Male	
90	6	7	14/34(38.2)
91	2	2	4/34(11.8)
92	8	6	14/34(41.2)
93	1	2	3/34(8.9)

* Number. of individual

수정시 유도된 $3n=90$ 인 개체의 빈도수는 38.2%이었다. 그리고 난자의 염색체수 $n=31$ 과 정자의 염색체수 $n=30$ 의 수정시 유도된 것으로 보이는 $3n=92$ 인 개체의 집단내 빈도는 41.2%로써 정자의 염색체수 $n=30$ 으로부터 유도된 개체들이 전체 3배체 집단의 약 80%정도 차지하고 있었다. 또한 난자의 염색체수 $n=30$ 또는 31 과 $n=31$ 개의 염색체수를 가진 정자와 수정되어 형성된 3배체인 $3n=91$ 및 $3n=93$ 의 개체는 분석된 전체 34 마리 중 4 마리 및 3 마리로서 유도된 3배체 집단에서의 빈도가 각각 11.8% 그리고 8.9%로 낮았다. 그러나 염색체 다형화를 나타내는 유도 3배체의 암수간 빈도에는 큰 차이를 발견할 수 없었다. 유도된 3배체의 핵형 분석 결과 $3n=90$ 인 개체는 $2n=60$ 인 개체와 비교시 염색체가 3 조로 이루어진 것을 제외하고는 핵형이 동일하였다(Fig. 2a). 그러나 Fig. 2의 b, c 그리고 d에서 보듯이 11 번 염색체에 있어 $3n=91$ 인 개체에서는 2 개, $3n=92$ 인 개체에서는 1 개 그리고 $3n=93$ 인 개체에서는 3 개 모두가 결실되어 있음이 관찰되었다. 또한 acrocentric 염색체에서는 $3n=90$ 개체와 비교시 $3n=91$ 및 92 인 개체의 경우 3개 그리고 $3n=93$ 인 개체의 경우 6개의 염색체가 더 존재하였다. 그러나 $3n=90, 91, 92$ 및 93 인 개체 모두에서의 arm number는 156 개로 동일하였다.

고 찰

현재까지 사육되고 있는 무지개송어의 modal 염색체 수는 $2n=60$ 으로 보고되고 있다 (Bungenberg De Jong, 1955 ; Cuellar and Uyeno, 1972 ; Muramoto *et al.*, 1974 ; Simon and Dollar, 1963 ; Wright, 1955). 그러나 Thorgaard (1983a)는 북미 대륙 서쪽에 서식하는 무지개송어 집단의 평균 염색체 수는 모두 $2n=58$ 임을 밝힌 바 있어 Hartley (1987)는 현재 양식되고 있는 송어는 지구상의 일부 지역에서 사육되던 동일 계통이 전 세계적으로 퍼져나간 것으로 추측한 바 있다. 우리나라의 경우에도 있어서도 미국 또는 일본으로 통하여 수입된 발안 난으로 부터 사육된 무지개송어가 양식 산업에 이용되고 있으므로 우리나라에서 사육되고 있는 무지개송어의 modal 염색체 수는 $2n=60$ 인 개체가 수입되었을 것으로 사료되나 분석된 개체중 $2n=61$ 인 개체의 빈도가 $2n=60$ 인 개체보다 높아 수입시 이미 $2n=60$ 및 61의 염색체 수를 가진 발안 난이 도입되었을 가능성도 배제할 수는 없다.

무지개송어의 염색체 다형 현상은 자연 수계에 서식하는 계통들에서 잘 보고되어, 염색체수에 있어 $2n=58$ 로 부터 $2n=64$ 에 이르는 광범위한 숫적 다형 현상을 보여주고 있으며 이러한 염색체 다형화의 주 기작은 Robertsonian 형의 전좌에 의한 것으로 보고되어 있다 (Hartley, 1987 ; Hartley and Horne, 1982 ; Heckman *et al.*, 1971 ; Ohno *et al.*, 1965 ; Thorgaard, 1976, 1983a ; Ueda *et al.*, 1983). 본 연구의 결과 $2n=60$ 및 $2n=61$ 인 개체의 핵형 분석 시 염색체 숫자는 상이하나 arm number는 모두 104 로 동일하여 염색체 다형 현상은 기존의 보고와 마찬가지로 Robertsonian 전좌에 의한 것으로

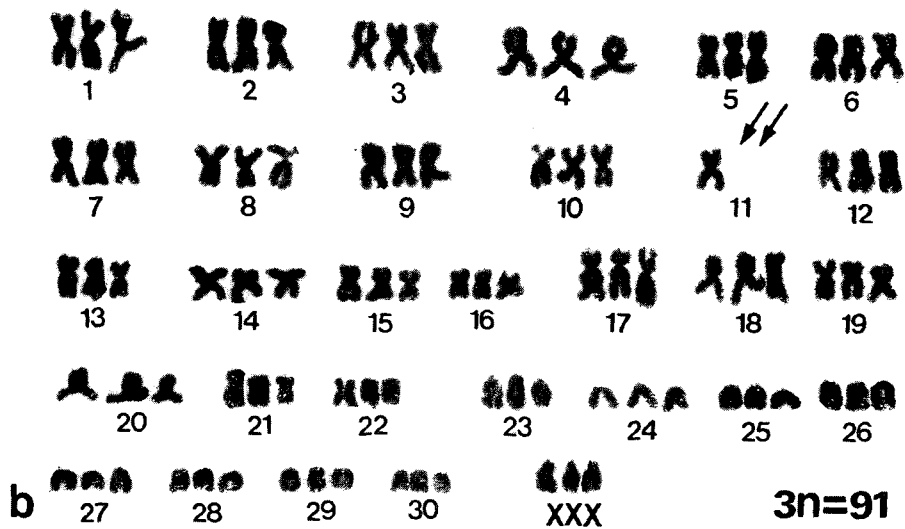
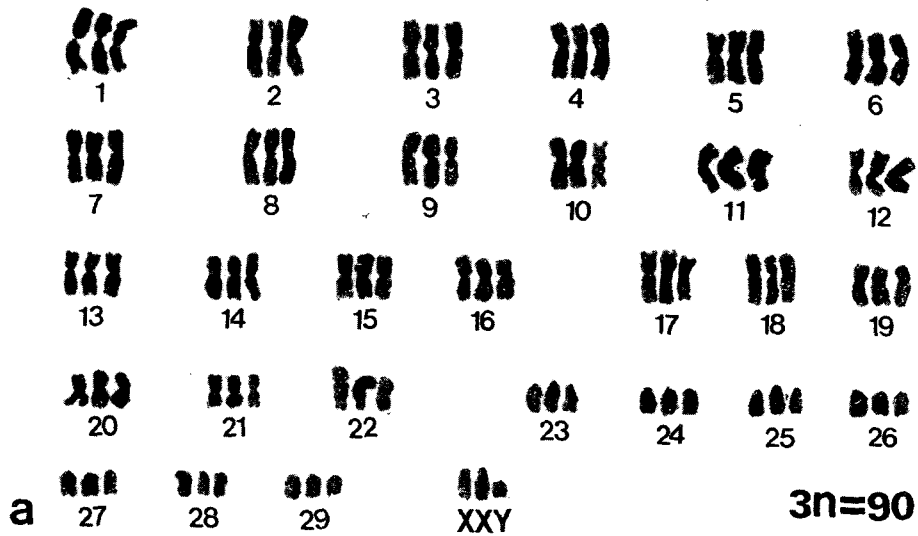


Fig. 2. Karyotypes of triploid population. The arrows indicate Robertsonian translocated chromosomes.

a : 3n=90 (male) b : 3n=91 (female)

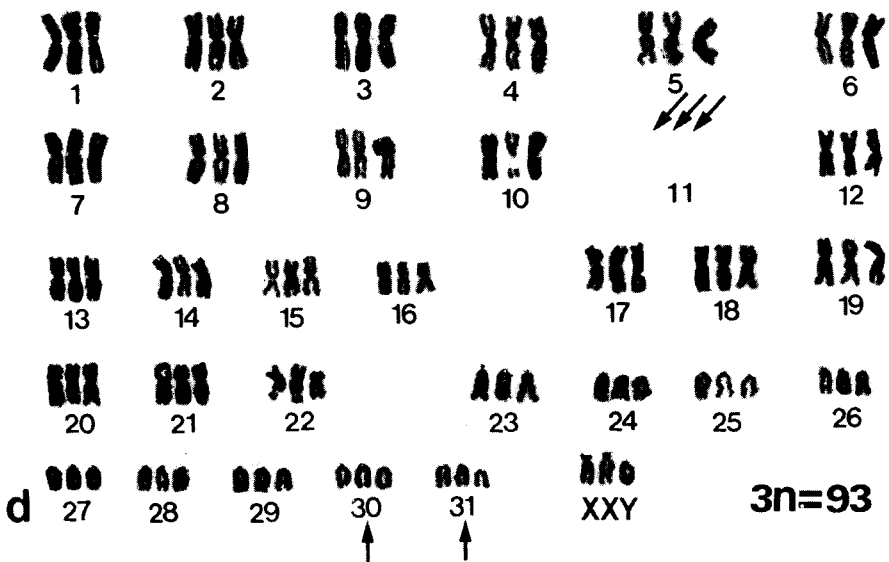
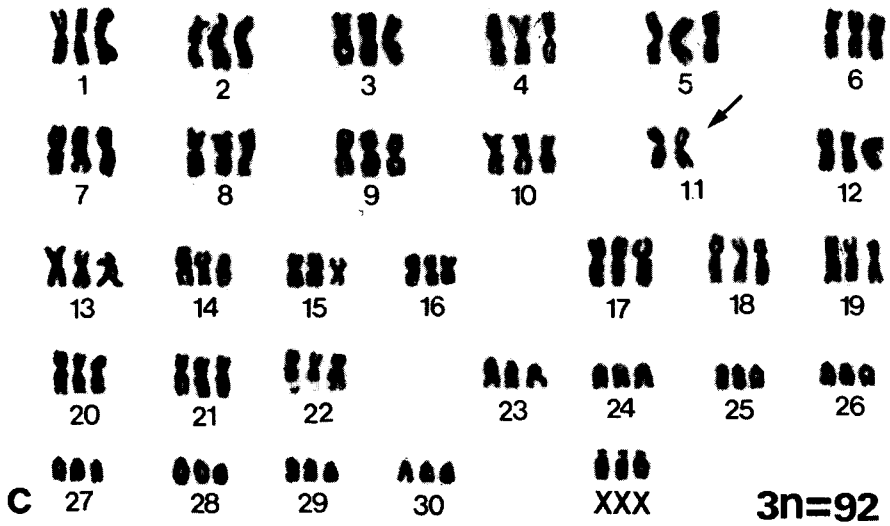


Fig. 2. Karyotypes of triploid population. The arrows indicate Robertsonian translocated chromosomes.

c ; 3n=92 (female) d ; 3n=93 (male)

사료된다.

Robertsonian 형 전좌는 fusion과 fission의 두 기작에 의한다 (White, 1973). 본 연구 결과 앞서 Hartley (1987)의 보고대로 $2n=60$ 의 염색체를 가진 개체가 최초로 사육된 개체였다면 $2n=61$ 인 개체는 11번 염색체의 동원체 부위가 Robertsonian fission에 의해 떨어져나가 2개의 acrocentric 염색체를 구성한 것으로 사료된다.

무지개송어의 3배체 유도는 Refstie *et al.* (1977)이 성공적으로 수정란에서 제 2극체의 분열을 억제함으로써 산업화가 가능한 3배체 무지개송어를 유도한 이래 많은 성공사례가 보고되고 있으며, 그 산업성이 크게 인정받아 영국에서 super trout라는 명칭으로 상품화되고 있음은 물론 외국에도 수출하고 있고 (Benfey and Sutterlin, 1984; Chourrout, 1980; Lincoln and Scott, 1983; Thorgaard, 1983b; Thorgaard *et al.*, 1981), 우리나라의 경우에도 이미 Kim *et al.* (1986, 1988)에 의해 유도되어 산업화 되고 있다. 본 연구에서 3배체 유도시 수정란의 제 2분열을 억제한 결과, 유도된 3배체 유전 물질 중 2배체는 암컷의 유전 물질로부터 그리고 반수체는 수컷의 유전 물질로부터 전달된 것이 부수체를 가진 염색체 분석 결과 뚜렷이 나타났다 (Fig. 1). 더우기 11번 염색체가 Robertsonian fission을 일으킨 결과로 인하여 acrocentric 염색체 수가 증가되는 결과도 아울러 수반되어 나타나 염색체 수의 분포는 $3n=90-93$ 에 달하였으나 arm number는 모두 156이었다.

염색체 다형 현상을 보인 $2n=60$ 및 $2n=61$ 염색체의 집단 내에서의 빈도를 감안할 때 Robertsonian fission에 의해 생성된 것으로 사료되는 $2n=61$ 개체의 빈도가 $2n=60$ 보다 높아 $2n=61$ 의 개체는 생존에 있어 Robertsonian fission에 의해 큰 영향을 받지 않는 것으로 사료된다. 그러나 유도된 3배체의 경우 염색체 수가 $n=30$ 및 31인 난자와 $n=30$ 인 정자가 수정되어 유도되는 것으로 사료되는 $3n=90$ 및 92의 염색체 수를 가진 개체들의 빈도가 $n=31$ 염색체 수의 정자와 수정된 것으로 추정되는 $3n=91$ 및 93개체의 빈도보다 약 4배 정도 높은 것을 감안할 때 수컷의 염색체 수는 3배체 유도시 배수체의 생존력에 영향을 끼치는 것으로 사료된다. Ueda 등 (1983)은 일본 산 무지개송어의 염색체 다형 현상을 조사한 결과 $2n=59-64$ 의 염색체 다형 현상을 보고하고 이들로부터 3배체를 유도한 후 3배체의 염색체 수를 조사하였으나 $3n=90$ 개체만이 발견된 바 있다. 따라서 차후 배수체 유도시 염색체 다형 현상에 따른 생존력의 문제점과 함께 양식산업에 있어 중요시되는 성장율과 염색체 수와의 연관성도 아울러 조사되어야 할 것이다.

요 약

국내에서 양식되고 있는 무지개송어의 유전학적 동정 (genetic stock identification)의 일환으로 염색체 분석을 실시한 결과 염색체 수 $2n=60$ 및 $2n=61$ 의 개체 간 염색체 다형 현상이 발견되었다. Idiogram 분석 결과 이와 같은 염색체 다형 현상은 Robertsonian 전좌에 의해 중부 염색체 (metacentric chromosome) 1개가 1쌍의 단부 염색체 (acrocentric chromosome)로 나누어지기 때문 (Robertsonian fission)이었다. 염색체수 60개 및 61개인 개체의 집단 내 빈도는 각각 38% 및 62%였으며 염색체 수 61개인 개체들에서는 암컷의 비율이 수컷에 비해 높게 나타났다. 염색체 다형 현상을 보인 친어들로부터 3배체를 유도한 결과 유도된 3배체의 염색체 수 분포는 90, 91, 92 및 93개로 나타났다. 염색체 arm의 수는 모두 156개로 2배체와 동일하게 Robertsonian 전좌에 기인한 다형 현상을 나타내었다.

참 고 문 헌

- Benfey, T. J. and A. M. Sutterlin. 1984. Growth and gonadal development in triploid landlocked Atlantic Salmon (*Salmo salar*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 41 : 1387~1392.
- Bungenberg De Jong, C. M.. 1955. Cytological studies on *Salmo irideus*. Genetica 27 : 472~483.
- Bye, V. T. and R. F. Lincoln. 1981. Get rid of the males and let the female prosper. Fish Farm. 4 : 22~24.
- Chourrout, D.. 1980. Thermal induction of diploid gynogenesis and triploidy in the eggs of rainbow trout. Repro. Nutr. Develop. 20 : 727~733.
- Cuellar, O. and T. Uyeno. 1972. Triploidy in rainbow trout. Cytogenetics 11 : 508~515.
- Hartley, S. E.. 1987. The chromosomes of salmonid fishes. Biol. Rev. 62 : 197~214.
- Hartley, S. E. and M. T. Horne. 1982. Chromosome polymorphism in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). Chromosoma 87 : 461~468.
- Heckman, J. R., F. W. Allendorf and J. E. Wright. 1971. Trout leukocytes : growth in oxygenated cultures. Science 173 : 246~247.
- Johnston, R., T. H. Simpson, A. F. Youson and C. Whitehead. 1979. Sex reversal in salmonid culture. Part II. The progeny of sex-reversed rainbow trout. Aquaculture 18 : 13~19.
- Kim, D. S., I.-B. Kim and Y. G. Baik. 1986. A report of triploid rainbow trout production in Korea. Bull. Kor. Fish. Soc. 19 : 575~580.
- Kim, D. S., I.-B. Kim and Y. G. Baik. 1988. Early growth and gonadal development of triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri*. J. Aquaculture 1 : 41~51.
- Levan, A., K. Fredga and A. A. Sanberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas 52 : 201~220.
- Lincoln, R. F. and A. P. Scott. 1983. Production of all-female triploid rainbow trout. Aquaculture 30 : 375~380.
- Muramoto, J.-I., J.-I. Azumi and H. Fukuoka. 1974. Karyotypes of 9 species of the Salmonidae. Chro. Inf. Ser. 17 : 20~23.
- Ohno, S., C. Stenius, E. Faisst and M. T. Zenzen. 1965. Post-zygotic chromosomal rearrangements in rainbow trout (*Salmo irideus* Bibbins). Cytogenetics 4 : 117~129.
- Refstie, T., V. Vassric and T. G. M. Giedrem. 1977. Induction of polyploidy in salmonids by cytochalasin B. Aquaculture 10 : 65~74.
- Simon, R. C. and A. M. Dollar. 1963. Cytological aspects of speciation in two North American teleosts, *Salmo gairdneri* and *Salmo clarki lewisi*. Can. J. Genet. Cyto. 5 : 48~49.
- Smith, G. R. and R. F. Stearley. 1989. The classification and scientific names of rainbow and cutthroat trouts. Fisheries 14 : 4~10.
- Thorgaard, G. H.. 1976. Robertsonian polymorphism and constitutive heterochromatin distribution in chromosomes of the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Cytogenet. Cell Genet. 17 : 174~184.

- Thorgaard, G. H.. 1983a. Chromosomal differences among rainbow trout populations. *Copeia* 3 : 650~662.
- Thorgaard, G. H.. 1983b. Chromosome set manipulation and sex control in fish. In : *Fish Physiology*, Vol. IX B (Hoar, W. S., D. J. Randall and E. M. Donaldson, eds), pp. 405~434. Academic Press, New York.
- Thorgaard, G. H.. 1986. Ploidy manipulation and performance. *Aquaculture* 57 : 57~64.
- Thorgaard, G. H., M. E. Jazwin, and A. R. Steir. 1981. Polyploidy induced by heat shock in rainbow trout. *trans. Am. Fish. Soc.* 110 : 550~565.
- Ueda, T., Y. Ojima, T. Kato, and Y. Fukuda. 1983. Chromosomal polymorphism in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Proc. Japan Acad.* 59B : 168~171.
- White, M. J. D.. 1973. Chromosomal rearrangements in mammalian population polymorphism and speciation. In : *Cytotaxonomy and Vertebrate Evolution* (Chiarelli, A. B. and E. Capanna, eds), pp. 95~128. Academic Press, New York.
- Wright, J. E.. 1955. Chromosome number in trout. *Prog. Fish Cult.* 17 : 172~176.