

# 참전복, *Haliotis discus hannai*의 3배체 유도와 생물학적 특성에 관한 연구

## I. 3배체 유도

지영주 · 장영진\*

국립수산진흥원 양식과

\*부산수산대학교 양식학과

# Induction of Triploid Abalone, *Haliotis discus hannai*, and Its Biological Characteristics

## I. Induction of Triploid Abalone

Young-Ju Jee and Young Jin Chang\*

Aquaculture Division, National Fisheries Research and Development  
Agency, Kijang-gun, Pusan 626-900, Korea

\*Department of Aquaculture, National Fisheries University of Pusan,  
Pusan 608-737, Korea

### ABSTRACT

Triploid abalone, *Haliotis discus hannai*, was induced by the cold (0°C and 3°C) or the heat (35°C and 40°C) shock procedure with fertilized eggs, 12 min. or 32 min. post fertilization with the various time intervals of shock duration. Fertilization rate of each experimental group was not significantly different from that of corresponding diploid control ( $P > 0.05$ ). However hatching rates and normality rates of triploid larvae were significantly different from those of corresponding diploid control ( $P < 0.05$ ). In heat shock groups at 40°C, fertilization rate of eggs was extremely low (0~2.7%) and hatched larvae were not detected in these treatment groups.

Incidence of triploidy was confirmed by chromosome count and the highest rates of triploid (84.0%) revealed in cold (3°C) shock with 15 min. treatment duration 12 min. after fertilization. The number of diploid chromosome was  $2n=36$ , and that of triploid was  $3n=54$ .

## 서 론

수산동물에 있어서 염색체 조작에 의해 생산된 3배체 성체의 생식세포는 감수분열 동안 상동염색체가 짝을 짓기 못하기 때문에 염색체 3쌍의 분리는 부정확하게 되거나 중지되어 3배체는 보통 불임이 된다 (Beaumont and Fairbrother 1991). 이러한 불임으로 인해 성적 성숙에 쓰일 대사 에너지가 체성장에 이용될 수 있어 3배체는 2배체보다 크게 성장되는 장점이 있다. 3배체 버지니아굴, *Crassostrea virginica* (Stanley et al. 1981)과 가리비, *Argopecten irradians* (Tabarini 1984)에 대한 연구에서 3배체 성체는 정상 2배체보다 높은 육중량 및 좋은 육질을 얻을 수 있고, 산란기 동안 폐사율을 낮출 수 있다는 결과가 보고되고 있다.

이러한 패류의 3배체에 관한 연구로는 1981년 버지니아굴(Stanley et al. 1981, 1984)에 cytochalasin B (CB)를 처리함에 의해 최초로 3배체가 유도된 이후 우럭, *Mya arenaria* (Allen et al. 1982), 참굴, *Crassostrea gigas* (Chaiton and Allen 1985; Quillet and Penelay 1986; Downing and Allen 1987; Yamamoto and Sugawara 1988), 가리비류인 *A. irradians* (Tabarini 1984), *Pecten maximus* (Beaumont 1986), *Chlamys nobilis* (Komaru et al. 1988)와 black scallop, *Chlamys varia* (Baron et al. 1989)에서도 유도된 바 있다. 이 외에도 진주담치, *Mytilus edulis* (Yamamoto and Sugawara 1988), 바지락, *Tapes semidecussatus* (Beaumont and Contaris 1988; Gosling and Nolan 1989), 진주조개, *Pinctada fucata martensii* (Wada et al. 1989; Uchimura et al. 1989)등에서 고온, 저온 및 압력 등의 물리적 자극과 CB 등의 약품 처리에 의한 3배체 유도가 연구되어왔다. 최근에는 전기 자극에 의한 제1난할 억제로 굴, 진주담치의 다배체가 유도된 바 있고(Cadore 1992), 발암성인 CB 대신 비발암성이고 비교적 취급이 쉬운 6-DMAP에 의해 참굴의 3배체가 유도된 바 있다(Gerard et al. 1994). 우리 나라에서 수산생물을 대상으로 한 3배체 유도 연구는 어류를 중심으로 연구되어 왔는데, 어류의 3배체도 역시 불임에 의해 양식 생산성 증가를 가져올 수 있다 (Thorgaard 1986)고 밝히고 있어 무지개송어(Kim et al. 1986), 나일틸라피아(김 등 1990), 참돔(박 등 1994) 및 넙치(김 등 1994)등에 대한 3배체가 유도되어 세포유전학적 및 양식 산업적 연구가 이루어지고 있으며, 패류에서는 참굴(劉 등 1990)을 대상으로 한 3배체 유도 연구가 있다.

한편, 범세계적인 분포 특성을 가지고 있고 특히 아시아 동북 해역에서 중요한 수산 자원인 전복에 관하여는 1970년대에 들어서 적산수온으로서 모패의 성숙을 인위적으로 처리할 수 있게 되고(菊地·浮 1974a), 자외선조사(UV irradiation)로써 산란 유발을 쉽게 할 수 있게 되어(菊地·浮 1974b) 인공 종묘의 대량 생산이 가능하게 되었다. 따라서 전복은 천연 채묘에 전적으로 의존하는 다른 주요 양식 패류 등에 비해 염색체 조작 기술의 도입이 용이한 종이라 하겠다. 이러한 전복은 우리 나라에서는 매년 수 백만마리의 인공종묘가 생산되고 있고 또한, 채룡식 수하양식(池 等 1988)이나 배합사료 개발(鄭 等 1994b)에 의한 육상에서의 다단식 수조 사육(鄭 等 1994a)에 의해 완전 양식이 되고있어 양식 생산량은 1990년 2톤에서 1992년에는 15톤(농림수산부 1994), 1994년에는 104톤(농림수산부 1995)으로 급증하고 있다. 그러나 다른 주요 양식 패류에 비해 상품 크기까지의 성장 기간이 3년 정도로 비교적 길다는 점이 단점으로 되어 있어 이러한 점을 해결하기 위한 방법으로 3배체 생산 등의 염색체 조작 기술의 도입은 필요하다고 하겠다.

전복의 생산성 향상을 위한 육종학적 연구로는 小池 等(1988)의 전복 교잡종 치패의 성장에 관한 연구와 Arai et al. (1986)의 참전복의 물리적 자극에 의한 3배체 유도 연구 등을 들 수 있다.

본 연구에서는 완전 양식이 되고 있는 우리나라 산 참전복의 3배체 생산에 관한 연구의 일환으로서 효과적인 3배체 생산을 위한 경제적이고도 효율적인 3배체 유도 조건을 밝히고자 했다.

## 재료 및 방법

실험에 사용한 전복 모패는 4~6년된 참전복, *Haliotis discus hannai*으로서 인위적인 성숙을 위해 12월 1일부터 4월 30일까지  $14^{\circ}\text{C}\pm 1$ 가 되도록 가온 유수 사육하였다. 산란유발은 菊地·等(1974b)의 방법에 의해 암수 각 1마리에 대해 간출 자극, 자외선 조사 해수 자극과 수온 상승 자극의 복합 자극을 주었다. 방란된 난은 수온  $20^{\circ}\text{C}$ 의 여과 해수에서 망목  $60\ \mu\text{m}$ 의 물리가제로 충격이 가지않게 거른 다음, 원액의 1/10,000 농도로 희석 준비된 정자 현탁액에 미수정난을 netting한 물리가제를 침지하여 수정 시키고 광학 현미경으로 수정을 확인하였다. 수정난을 여과 해수로 여러번 세란하여 여분의 정자를 제거한 다음  $20^{\circ}\text{C}$ 의 여과 해수에 수용하여 실험에 사용하였다.

수정 후 발생 과정을 관찰하기 위하여 약 3,000개의 수정난을 밀면에 망목  $50\ \mu\text{m}$ 의 물리가제를 붙인 아크릴제 실린더( $\phi 20\ \text{cm}$ , 높이  $15\ \text{cm}$ )에 넣어서  $20^{\circ}\text{C}$ 의 향온수조 (Kawasho model KS-150, Japan)에 수용하였다. 이 후 매 5분마다 100개 내외의 수정난을 피펫으로 뽑아내어 4% 포르말린으로 고정해서 발생단계를 관찰하였다.

3배체 유도는 저온 또는 고온 처리 방법을 사용하였는데 상기 발생 과정의 결과에 기초하고 Arai et al. (1986)의 방법에 의해 제1극체 방출 억제와 제2극체 방출 억제에 의해 유도하였다(Table 1). 저온 처리에 의한 경우, 제1극체 방출 억제를 위해서는 1,000개 내외의 수정난을 망목  $50\ \mu\text{m}$ 의 물리가제를 바닥에 붙인 아크릴제 실린더 ( $\phi 10\ \text{cm}$ , 높이  $15\ \text{cm}$ )에 수용하여 수정 12분 후에  $0^{\circ}\text{C}$ 와  $3^{\circ}\text{C}$ 의 해수에 각각 10분, 15분 및 20분 동안 처리하였다. 고온 처리의 경우 역시 수정 12분 후에 1,000개 내외의 수정난을 같은 크기의 실린더에 수용하여  $35^{\circ}\text{C}$ 와  $40^{\circ}\text{C}$ 의 해수에 각각 1분, 3분 및 5분 동안 처리하였다. 처리 후 각 실험구의 수정난은 수온  $20^{\circ}\text{C}$ 의 여과 해수를 담은 3,000 ml 비이커에 수용한 다음  $20^{\circ}\text{C}$ 의 향온실에서 발생시키면서 수정률, 부화율, 정상발생률, 3배체 유도율 및 3배체 생산율을 조사하였다.

수정률은 수정 4시간 후 각 실험구에서 피펫으로 100개 내외의 수정난을 꺼내어 4% 포르말린에 고정한 후 전체 난에 대한 난 분열 중인 알의 백분율로 조사하였고, 부화율은 수정 20시간 후 전체 수정난에 대한 유영하는 유생의 백분율로 파악하였다. 정상발생률은 부화유생 중 정상적인 유생의 백분율로 조사하였다. 생존율은 전체난에 대한 정상 부화유생의 백분율로 조사하였고 3배체 유도율은 염색체 표본 상의 전체 중기분열상에 대한 3배체 중기분열상의 백분율로 조사하였으며 3배체 생산율은 대조구의 생존율에 대한 3배체 처리구의 생존율에 3배체 유도율을 곱하여 구하였다.

유도된 3배체 분석을 위해서는 염색체수를 조사하였다. 이 때 염색체 표본제작은 Arai et al. (1986)의 방법을 약간 변형해서 Fig. 1과 같은 과정으로 행하였다.

즉, 부화 직후의 담륜자(trochophore) 유생 약 30마리를 해수가 담긴 20 ml 시험관에 수용하고 0.1% colchicine액에 2시간 동안 처리하였다. 이 후 시험관에 같은 용적의 0.075 M KCl 용액을 첨가해서 저장액 처리를 하고 표본이 침전하면 새로운 KCl 용액으로 치환하여 1시간 이상 저장액 처리를 반복했다. KCl 용액의 상등액을 버리고 냉장된 Carnoy액을 넣어 고정한 다음  $4^{\circ}\text{C}$ 에 보관했다. 고정 처리된 담륜자 유생은 50 g로 10분간 원심분리해서 피펫으로 상등액은 버리고 50%의 acetic acid 용액이 든 원심관에 수용하고 20분 정도 유리막대로 저어서 교반시켰다. 10분 정도 방치 후 파스퇴르 피펫으로 뽑아서

Table 1. Selected conditions of treatments for inducing triploid abalone, *Haliotis discus hannai*

Treatment	Treatment time (min.)*	Treatment temperature (°C)	Duration of treatment (min.)
Cold shock	12	0	10
			15
			20
		3	10
			15
			20
	32	0	10
			15
			20
		3	10
			15
			20
Heat shock	12	35	1
			3
			5
		40	1
			3
			5
	32	35	1
			3
			5
		40	1
			3
			5

\* Time after fertilization

50°C로 가열한 슬라이드 글라스에 도말했다. 공기 건조 후 4% Giemsa 염색액에 15분 정도 염색한 다음 수세 건조 후 100~200배의 배율로 현미경 검경을 해서 염색체를 조사하고 조사된 염색체는 1,000배로 확대해서 염색체수를 계수하였다.

3배체 유도 실험은 3회 반복하였고 실험 결과는 일원분류(one-way ANOVA)로 처리하고 Duncan's multiple range test로 평균간의 유의성을 검정하였다.

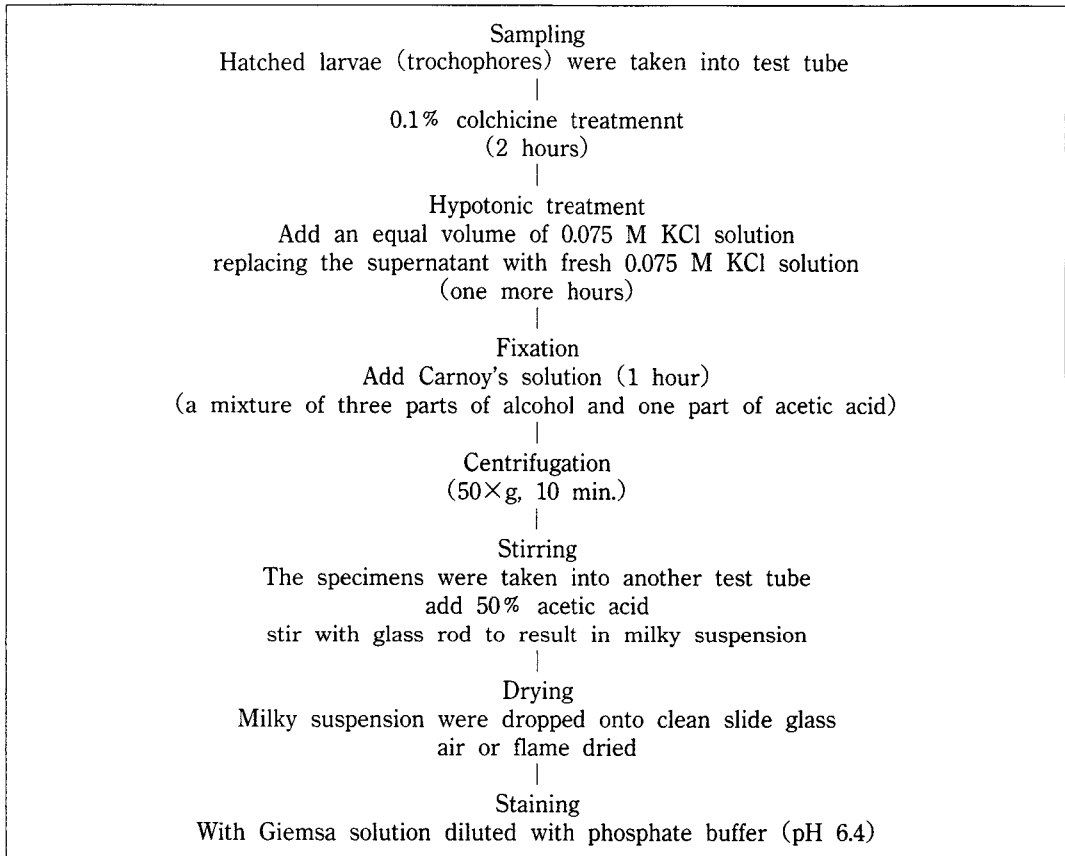


Fig. 1. Scheme of chromosome preparation.

## 결 과

Table 2는 수온 20°C에서 참전복 수정란의 초기 발생 과정을 나타낸 것인데 제1극체 방출이 관찰된 것은 수정 후 약 15분부터였고 50% 이상의 수정란에서 제1극체를 방출하기까지는 수정 후 약 20분이었으며, 제2극체 방출이 관찰된 것은 수정 후 약 35분부터였고 50% 이상의 수정란에서 제2극체를 방출하기까지는 수정 후 약 40분이었다. 제1난할이 관찰된 것은 수정 후 약 80분부터였고 50% 이상의 수정란에서 제1난할이 관찰된 것은 수정 후 약 85분이었다.

Table 2. Lag time in the early stages of developmental processes of zygotes in the abalone, *Haliotis discus hannai* under 20°C water temperature

Stage	Lag time (min.)
Releasing 1st polar body	15~20
Releasing 2nd polar body	35~40
1st cleavage of zygote	80~85

수정난의 발생 단계 별 소요 시간에 관한 Table 2의 실험 결과를 기초로 하여 실험한 3배체 유도 실험 결과는 Table 3 및 Table 4와 같다.

Table 3은 저온 자극에 의한 3배체 유도 결과를 나타낸 것으로 처리 지속 시간에 따른 결과를 보면, 수정률은 제1극체 방출 억제(수정 후 12분)구, 제2극체 방출 억제(수정 후 32분)구 및 대조구가 다같이 처리 지속 시간에 따른 유의한 차이는 없었다( $P > 0.05$ ). 수정 20시간 후 생존율로 조사된 부화율은 처리 지속 시간이 길어짐에 따라 낮아지는 경향이었으며 정상발생률 역시 처리 지속 시간이 길어짐에 따라 낮아졌는데 처리 지속 시간이 20분인 것은 정상 2배체구의 부화율 및 정상발생율과 유의한 차이를 나타냈다( $P < 0.05$ ).

처리 온도에 따른 결과를 보면 수정률, 부화율 및 정상발생률 모두에서 3°C 처리구가 0°C 처리구보다 높은 경향을 나타냈지만 유의차는 없었다( $P > 0.05$ ).

Table 3. Effects of cold shock treatments on development and triploidization in abalone, *Haliotis discus hannai*

Treatment time (min.) <sup>1</sup>	Treatment temperature (°C)	Treatment Duration of Fertilization (min.)	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Normality rate (%)	Survival rate <sup>4</sup> (%)	Triploid rate (%)	Triploid yield <sup>5</sup> (%)
12 <sup>2</sup>	0	10	76.9± 4.3 <sup>a</sup>	67.0± 5.7 <sup>ab</sup>	70.3± 3.3 <sup>ab</sup>	36.2	58.3	35.5
		15	73.8± 4.4 <sup>a</sup>	64.0± 5.1 <sup>ab</sup>	66.6± 3.3 <sup>b</sup>	31.5	71.9	38.1
		20	75.5± 5.0 <sup>a</sup>	57.3± 4.1 <sup>b</sup>	63.5± 3.6 <sup>b</sup>	27.5	72.7	33.6
	3	10	76.5± 8.9 <sup>a</sup>	67.0± 4.2 <sup>ab</sup>	77.3± 5.3 <sup>ab</sup>	39.6	70.4	46.9
		15	73.1± 10.8 <sup>a</sup>	63.8± 7.0 <sup>ab</sup>	73.3± 3.0 <sup>ab</sup>	34.2	84.0	48.3
		20	77.9± 7.9 <sup>a</sup>	59.6± 8.2 <sup>b</sup>	72.3± 2.2 <sup>ab</sup>	33.6	82.8	46.8
32 <sup>3</sup>	0	10	74.6± 6.7 <sup>a</sup>	67.0± 4.6 <sup>ab</sup>	76.0± 5.7 <sup>ab</sup>	38.0	61.5	39.3
		15	75.4± 4.0 <sup>a</sup>	63.4± 6.4 <sup>ab</sup>	71.3± 5.0 <sup>ab</sup>	34.1	69.7	39.9
		20	70.7± 12.7 <sup>a</sup>	53.5± 6.2 <sup>b</sup>	61.5± 8.9 <sup>b</sup>	23.2	72.2	28.2
	3	10	76.2± 4.3 <sup>a</sup>	79.6± 10.7 <sup>ab</sup>	85.7± 10.2 <sup>a</sup>	52.0	65.6	57.3
		15	78.1± 5.6 <sup>a</sup>	76.1± 9.7 <sup>ab</sup>	78.9± 11.3 <sup>ab</sup>	46.9	79.1	62.3
		20	73.0± 3.1 <sup>a</sup>	50.4± 11.9 <sup>b</sup>	59.9± 14.9 <sup>b</sup>	21.7	78.0	28.4
Control			80.5± 6.7 <sup>a</sup>	82.3± 7.8 <sup>a</sup>	89.8± 8.2 <sup>a</sup>	59.5	0	0

<sup>1</sup>Time after fertilization.

<sup>2</sup>Correspond to the inhibition of releasing first polar body.

<sup>3</sup>Correspond to the inhibition of releasing second polar body.

<sup>4</sup>Survival rate (%) = fertilization rate × hatching rate × normality rate

<sup>5</sup>Triploid yield (%) =  $\frac{\text{survival rate of treated exp.}}{\text{survival rate of control}} \times \text{triploid rate}$

Values in same columns having the different superscripts are significantly different ( $P < 0.05$ ).

미수정난을 수정시킨 후 정상적인 부화유생까지의 생존율은 대조구가 59.5% 였는데 비해 3배체 처리구는 21.7~52.0% 를 나타내었다.

3배체 유도율은 처리 지속 시간이 가장 짧은 10분간 처리구에서는 58.3~70.40% 로 다른 실험구에

비해 비교적 낮았으나, 15분간 처리구와 20분간 처리구는 각각 69.7~84.0% 및 72.2~82.8%로 비슷하였다. 가장 높은 3배체 유도율은 수정 12분 후 3°C로 15분간 처리한 84.0%였다.

생존율에 3배체 유도율을 곱한 3배체 생산율은 28.4~62.3%였으며 3°C 처리구가 0°C 처리구보다 높은 경향을 나타내었고 가장 높은 3배체 생산율은 3배체 유도율과는 달리 수정 32분 후 3°C로 15분간 처리한 62.3%였다.

Table 4는 고온 자극에 의한 3배체 유도 결과를 나타낸 것으로 처리 지속 시간에 따른 결과를 보면, 수정률은 제1극체 방출 억제(수정 후 12분)구에서나 제2극체 방출 억제(수정 후 32분)구 다같이

Table 4. Effects of heat shock treatments on development and triploidization in abalone, *Haliotis discus hannai*

Treatment time (min.) <sup>1</sup>	Treatment temperature (°C)	Duration of treatment (min.)	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Normality rate (%)	Survival rate <sup>4</sup> (%)	Triploid rate (%)	Triploid yield <sup>5</sup> (%)
12 <sup>2</sup>	35	1	83.9± 9.6 <sup>a</sup>	72.3±10.9 <sup>a</sup>	80.5±7.4 <sup>b</sup>	48.8	41.7	30.8
		3	81.6±10.6 <sup>a</sup>	57.5±14.7 <sup>a</sup>	78.1±4.9 <sup>b</sup>	36.6	70.8	39.3
		5	75.7±14.2 <sup>a</sup>	32.6±25.2 <sup>b</sup>	0	0	—	—
	40	1	1.3± 0.6 <sup>b</sup>	0	0	0	—	—
		3	0	0	0	0	—	—
		5	0	0	0	0	—	—
32 <sup>3</sup>	35	1	79.2± 7.2 <sup>a</sup>	57.0±12.1 <sup>a</sup>	61.7±4.2 <sup>c</sup>	27.9	40.6	17.2
		3	72.8± 7.5 <sup>a</sup>	40.5±14.1 <sup>ab</sup>	57.2±6.7 <sup>c</sup>	16.9	72.0	18.4
		5	65.7± 9.0 <sup>a</sup>	14.6±10.3 <sup>b</sup>	0	0	—	—
	40	1	2.7± 0.6 <sup>b</sup>	0	0	0	—	—
		3	1.0± 1.0 <sup>b</sup>	0	0	0	—	—
		5	2.0± 1.0 <sup>b</sup>	0	0	0	—	—
Control	—	—	82.2± 3.9 <sup>a</sup>	84.2± 3.1 <sup>a</sup>	95.3± 3.7 <sup>a</sup>	66.0	0	0

<sup>1</sup>Time after fertilization.

<sup>2</sup>Correspond to the inhibition of releasing first polar body.

<sup>3</sup>Correspond to the inhibition of releasing second polar body.

<sup>4</sup>Survival rate (%) = fertilization rate × hatching rate × normality rate

<sup>5</sup>Triploid yield (%) =  $\frac{\text{survival rate of treated exp.}}{\text{survival rate of control}} \times \text{triploid rate}$

Values in same columns having the different superscripts are significantly different (P < 0.05).

처리 지속 시간에 따른 유의한 차는 없었다(P > 0.05). 수정 20시간 후 부화율은 처리 지속 시간이 길어짐에 따라 낮아졌으며 정상발생을 역시 처리 지속 시간이 길어짐에 따라 낮아져서 35°C에서 처리 지속 시간이 5분인 경우에는 부화한 유생이 모두 비정상 개체였다. 처리 온도에 따른 결과를 보면 40°C 처리구에서 수정률이 0~2.7%로 매우 낮았으며 부화 개체는 관찰되지 않았다. 제1극체 방출 억제구와 제2극체 방출 억제구의 결과를 비교해 보면, 수정률과 부화율은 유의한 차가 없었으나 정상발생물에서는

제1극체 방출 억제구가 제2극체 방출 억제구보다 유의하게 높았다( $P < 0.05$ ). 생존율은 대조구가 66% 였는데 비해 3배체 처리구는 16.9~48.8%로 매우 낮았으며 3배체 유도율은 처리 지속 시간이 길어짐에 따라 증가하는 경향이었는데 수정 32분 후 35°C로 3분간 처리한 구에서 72.0%로 가장 높았다. 3배체 생산율은 18.4~39.3%로 저온 처리구보다 낮았으며 제1극체 방출 억제구(30.8~39.3%)가 제2극체 방출 억제구(17.2~18.4%)보다 높았으며 가장 높은 3배체 생산율은 3배체 유도율과는 달리 수정 12분 후 35°C로 3분간 처리한 39.3% 였다.

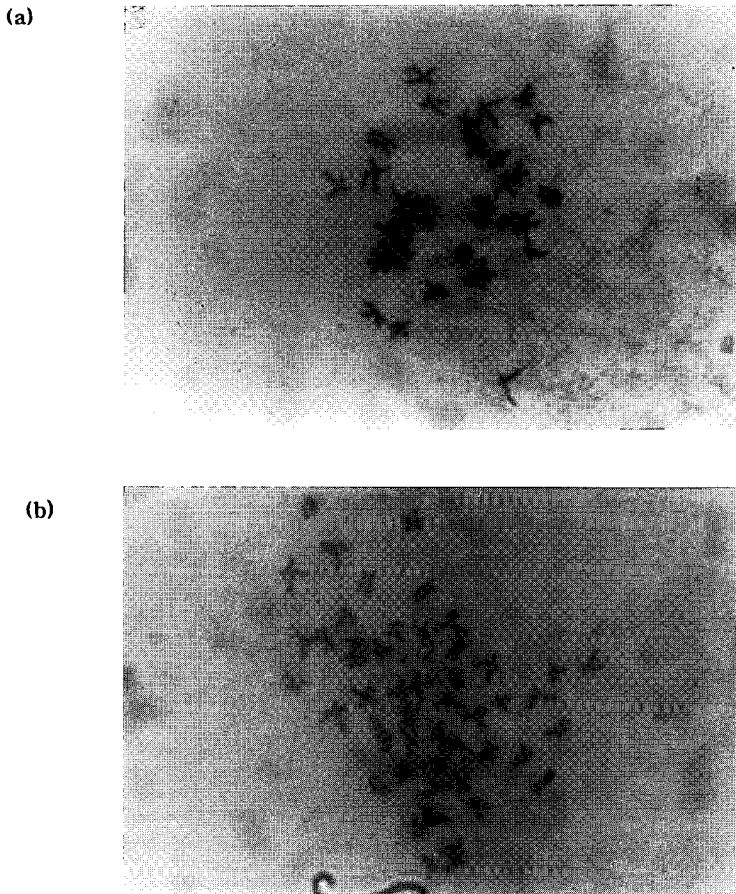


Fig. 2. Mitotic metaphase chromosome spread from a diploid larval cell (a) and triploid larval cell (b) in abalone, *Haliotis discus hannai*.

2배체 및 유도된 3배체의 염색체 조사에 대한 결과는 Table 5 및 Fig. 2에 나타내었다. 2배체 참전복의 염색체 수는  $2n=36$ 으로 나타났으며 heteromorphic한 성염색체는 찾아볼 수 없었다. 3배체의 경우에는  $3n=54$ 로 나타나 2배체 염색체 수의 정확한 1.5배를 나타내었다.



Table 5. Numbers of chromosomes recorded in preparations of diploid and triploid abalone, *Haliotis discus hannai*

Ploidy	Chromosome No.	No. of counts
2N	< 34	4
	35	5
	36	52
3N	< 52	6
	53	6
	54	42

## 고찰

패류의 난은 일반적으로 제1감수분열 중기의 단계에서 방란되어 수정 후에 제1극체를 방출하고 곧이어 제2극체를 방출한다. 따라서 어류와는 달리 패류는 제1극체 및 제2극체 방출 억제에 의한 두가지 방법의 3배체 유도를 할 수 있다. 극체 방출을 억제하는 방법으로는 CB 등의 약품 처리 및 고온, 저온, 압력 등의 물리적 처리가 있다. 본 실험에서 참전복 3배체 유도 시 최적 조건인 수정 후 12분(제1극체 방출 억제) 혹은 32분(제2극체 방출 억제) 후에 3°C의 저온 처리에 의해 15분간 처리한 결과, 각각 84.0% 및 79.1%의 3배체 유도율을 얻었으며, 35°C의 고온 처리에 의해서는 70.8% 및 72.0%의 3배체 유도율을 얻었는데 이것은 같은 조건으로 실험한 Arai et al. (1986)의 저온 처리구(70~80%) 및 고온 처리구(50~80%) 3배체 유도율의 상위값에 해당한다고 하겠다. 또한 3배체 생산율은 18.4~62.3%로서 Arai et al. (1986)의 3배체 유도 결과를 3배체 생산율의 계산식에 의해 계산한 값인 14.0~62.9%에 비해 결코 떨어지지 않는 값이라고 하겠다. 김 등(1994)은 넙치, *Paralichthys olivaceus*를 대상으로 저온 처리에 의해 3배체를 유도했을 때 수정률은 대조군과 처리군 사이에 차이가 없었고, 부화율과 정상발생률에서는 대조구가 처리구보다 높은 값을 나타냈다고 했는데, 본 실험에서 참전복의 경우도 마찬가지로의 결과를 나타냄으로써 온도 처리는 참전복 수정난의 부화와 부화 유생의 초기 생존율에 영향을 미치는 것으로 나타났다.

본 실험에서 고온 처리한 40°C의 경우에는 수정률이 0~2.7%로 매우 낮았고 부화율은 0%로 전량 폐사하였으며, 35°C의 경우에는 처리 시간이 길어질수록 부화율이 감소하는 경향이였다. Yamamoto and Sugawara (1988)는 진주담치, *M. edulis*의 고온처리에 의한 3배체 유도 결과, 고온 처리 온도가 38°C일 때는 수정률과 부화율이 급격히 감소하지만 35°C에서는 수정율과 부화율이 대조구에 비해 약간 감소한다고 보고하고 있고, Quillet and Penelay (1986)는 참굴, *C. gigas*의 고온 처리에 의한 3배체 유도 결과, 수정 24시간 후의 생존율은 35°C까지는 유의하게 감소하지 않지만 38°C에서는 낮은 생존율을 유발한다고 보고하고 있어 종이 서로 다름에도 불구하고 본 연구 결과와 일치했다. 따라서 주요 양식 패류에 있어서 고온 처리에 의해 초기 생존율이 영향을 받는 수온은 38°C이상 이라고 생각되며, 종에 따라 다르겠지만 앞으로 주요 양식 패류의 고온에 의한 3배체 유도시에는 38°C가 상한 수온으로 되어야 할 것으로 생각된다.

본 실험에서 저온 처리와 고온 처리의 정상 발생률을 비교해 보면 저온 처리구는 59.9~85.7%

(대조구에 대한 평균 정상 발생률 79.5%)인데 비해 고온 처리구는 57.2~80.5% (대조구에 대한 평균 정상 발생률 66.1%)로 고온 처리구의 기형률이 높았다. 이러한 결과는 CB 혹은 고온 처리가 유생의 기형률을 증가시키고 수정란의 발생을 더디게 한다는 끝에 대한 3배체 연구(Stanley et al. 1984; Quillet and Penelay 1986; Downing and Allen 1987; 劉 等 1990)와 가리비에 대한 3배체 연구(Tabarini 1984)와 일치하므로 3배체 유도에 있어서 고온 처리보다는 저온 처리가 참전복의 3배체 유도에 효과적이라 하겠다.

본 실험에서 고율의 3배체 유도율을 나타내는 고온 처리와 저온 처리의 처리 지속 시간이 현저히 다른데, Arai et al. (1986)은 전복에 있어서 고온 처리와 저온 처리 사이에서 처리 시간에 차이가 나는 것은 극체 방출 억제에 관련된 기작이 서로 약간 다르기 때문이며, Yamamoto and Sugawara (1988)는 고온 처리와 저온 처리 사이에서 유도 효율과 효과적인 처리 개시 시간에 차이가 나는 기작에 대해서는 명백히 밝혀지지 않았다고 말하고 있어 앞으로 더 많은 연구가 있어야 할 것으로 생각된다.

패류의 경우에는 제1극체 및 제2극체 방출 억제의 2가지 방법으로 3배체를 유도할 수 있는데, 본 연구에서도 두 방법 모두에서 성공적으로 3배체를 유도할 수 있었다. 제1극체 방출 억제형 3배체와 제2극체 방출 억제형 3배체의 차이점에 대해서 Arai et al. (1986)은 제1극체 방출 억제로 유도된 3배체들이 제2극체 방출 억제로 유도된 3배체보다 heterozygosity가 크다고 보고하고 있고, Stanley et al. (1984)도 버지니아굴 *C. virginica*에서 제1극체 방출 억제형 3배체의 각고 성장이 제2극체 방출 억제형 3배체나 대조구인 2배체보다 빠른 것은 heterozygosity가 제1극체 방출 억제형 3배체가 높기 때문이라고 보고하고 있다. 따라서 제1극체 또는 제2극체 방출 억제로 유도된 3배체의 생리 생태학적 비교 실험은 앞으로의 과제라 하겠다.

Komaru and Wada (1985)는 어류의 염색체와는 달리 패류의 염색체는 그 크기가 매우 작고 세포 분열이 왕성하지 못하여 양호한 핵상을 얻기가 매우 어렵지만, 담륜자 유생에서는 쉽게 염색체 표본을 관찰할 수 있어서 이때패인 진주조개에서 담륜자 유생을 이용하여 명확한 중기분열상을 얻을 수 있었다고 하였다. 참전복의 경우도 Arai et al. (1986)과 본 연구에 의해 담륜자 유생으로부터 염색체 표본을 만들 수 있었다.

2배체 참전복의 염색체수는  $2n=36$ 으로 나타났고 heteromorphic한 성염색체는 찾아볼 수 없었으며 3배체의 경우에는  $3n=54$ 로 나타나 3배체는 모계의  $2n$ 과 부계의  $n$ 으로 구성되어 있음을 알 수 있었다. 한편 염색체 수가 부족한 것은 aneuploid가 아니라 염색체가 서로 겹치거나 압착할 때 서로 떨어져 나간 것으로 추정된다. 이러한 현상은 바지락 *T. semidecussatus*의 3배체 유도(Beaumont and Contaris 1988)에서도 나타나고 있다.

## 요 약

참전복의 3배체 유도를 위하여 수정 12분후 및 32분 후에 저온( $0^{\circ}\text{C}$ ,  $3^{\circ}\text{C}$ ) 해수 혹은 고온( $35^{\circ}\text{C}$ ,  $40^{\circ}\text{C}$ ) 해수 속에서 여러 처리 지속 시간으로 3배체 유도 실험을 한 결과, 수정율은 실험군 사이에 유의한 차가 없었다( $P > 0.05$ ). 그러나 부화율과 정상발생율은 3배체구가 2배체 대조구보다 유의하게 낮았다( $P < 0.05$ ).  $40^{\circ}\text{C}$ 의 고온처리구에서 수정율은 매우 낮았고( $0\sim 2.7\%$ ) 부화되는 유생은 없었다. 3배체 유도율은 염색체수를 직접 계수해서 구했는데 가장 높은 3배체 유도율은 수정 12분 후에  $3^{\circ}\text{C}$  해수에 15분 동안 처리했을 때 84.0%였다. 참전복 2배체의 염색체 수는  $2n=36$ 이었고 3배체의 염색체 수는  $3n=54$ 이었다.

## 참 고 문 헌

- Allen, Jr., S. K., P. S. Gagnon and H. Hidu, 1982. Induced triploidy in the soft-shell clam : Cytogenetic and allozymic confirmation. *J. Hered.* 73 : 421~428.
- Arai, K., H. Tsubaki, Y. Ishitani, and K. Fujino, 1982. Chromosomes of *Haliotis discus hannai* I<sub>NO</sub> and *H. discus* R<sub>EVE</sub>. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 48 : 1689~1691.
- Arai, K., F. Naito and K. Fujino, 1986. Triploidization of the Pacific abalone with Temperature and Pressure treatments. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 52 : 417~422.
- Baron, J., A. Diter and A. Boday, 1989. Triploidy induction in the black scallop (*Chlamys varia* L.) and its effect on larval growth and survival. *Aquaculture* 77 : 103~111.
- Beaumont, A. R., 1986. Genetic aspects of hatchery rearing of the scallop, *Pecten maximus*. *Aquaculture* 57 : 99~110.
- Beaumont, A. R. and J. E. Fairbrother, 1991. Ploidy manipulation in molluscan shellfish : a review. *J. Shellfish Res.* 10 : 1~18.
- Beaumont, A. R. and M. H. Contaris, 1988. Production of triploid embryos of *Tapes semidecussatus* by the use of cytochalasin B. *Aquaculture* 73 : 37~42.
- Cadore, J. -P., 1992. Electric field-induced polyploidy in mollusc embryos. *Aquaculture* 106 : 127~139.
- Chaiton, J. A. and S. K. Allen Jr., 1985. Early detection of triploidy in the larvae of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, by flow cytometry. *Aquaculture* 48 : 35~43.
- Downing, S. L. and S. K. Allen Jr., 1987. Induced triploidy in the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* : Optimal treatment with cytochalasin B depend on temperature. *Aquaculture* 60 : 1~15.
- Gerard, A., Y. Naciri, J. M. Peignon, C. Ledu and P. Phelip, 1994. Optimization of triploid induction by the use of 6-DMAP for the oyster *Crassostrea gigas*(Thunberg). *Aquacult. Fish. Manage.* 25 : 709~719.
- Gosling, E. M. and A. Nolan, 1989. Triploidy induction by thermal shock in the Marila clam, *Tapes semidecussatus*. *Aquaculture* 78 : 223~228.
- 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.
- Komaru, A. and K. T. Wada, 1985. Karyotype of the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata martensii*, observed in the trochophore larvae. *Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture* 7 : 105~107.
- Komaru, A., Y. Uchimura, H. Ieyama and K. T. Wada, 1988. Detection of induced triploid scallop *Chlamys nobilis*, by DNA microfluorimetry with DAPI staining. *Aquaculture* 69 : 201~209.
- Quillet, E. and P. J. Penelay, 1986. Triploidy induction by thermal shocks in the Japanese oyster, *Crassostrea gigas*. *Aquaculture* 57 : 271~279.
- Stanley, J. G., H. Hidu and S. K. Allen Jr., 1984. Growth of American oyster increased by polyploid induced by blocking meiosis I but not meiosis II. *Aquaculture* 37 : 147~155.
- Stanley, J. G., S. K. Allen Jr. and H. Hidu, 1981. Polyploidy induced in the American oyster, *Crassost-*

- rea virginica*, with cytochalasin B. *Aquaculture* 23 : 1~10.
- Tabarini, C. L., 1984. Induced Triploidy in the bay Scallop, *Argopecten irradians*, and its effect on growth and gametogenesis. *Aquaculture* 42 : 151~160.
- Thorgaard, G. H., 1986. Ploidy manipulation and performance. *Aquaculture* 57 : 57~64.
- Uchimura, Y., A. Komaru, K. T. Wada, H. Ieyama, M. Yamaki and H. Furuta, 1989. Detection of induced triploidy at different ages for larvae of the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata martensii*, by microfluorometry with DAPI staining. *Aquaculture* 76 : 1~9.
- Wada, K. T., A. Komaru and Y. Uchimura, 1989. Triploid induction in the Japanese pearl oyster, *Pinctada fucata martensii*. *Aquaculture* 76 : 11~19.
- Yamamoto, S. and Y. Sugawara, 1988. Induced triploidy in the mussel, *Mytilus edulis*, by temperature shock. *Aquaculture* 72 : 21~29.
- 菊地省吾 · 浮 永久, 1974a. 아와비屬의採卵技術에關する研究. 第1報 エゾアワビ *Haliotis discus hannai* I<sub>No</sub>의性成熟と溫度との關係. 東北水研報 33 : 69~78.
- 菊地省吾 · 浮 永久, 1974b. 아와비屬의採卵技術에關する研究. 第2報 紫外線照射海水의産卵誘發效果. 東北水研報 33 : 79~86.
- 김동수 · 김종만 · 박인석, 1990. 3배체 나일틸라피아 생산에 관하여. 한국양식학회지 3 : 135~144.
- 김동수 · 정창화 · 이영돈 · 노섬, 1994. 3배체 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 유도에 관한 연구. 한국양식학회지 7 : 55~61.
- 농림수산부, 1994. 농림수산통계연보. 동양문화, 서울, 304 pp.
- 농림수산부, 1995. 1994년 12월 어업생산량통계. 동양문화, 서울, 111 pp.
- 박인석 · 김형배 · 손진기 · 김동수, 1994. 3배체 참돔(*Pagrus major*)의 생산. 한국어류학회지 6 : 71~78.
- 小池康之 · 孫振興 · 隆島史夫, 1988. 아와비交雜種稚貝의攝餌と成長について. 水産増殖 36 : 231~235.
- 劉明淑 · 李定美 · 金日奉, 1990. 참굴의 3배체 생산에 관한 연구. 수진연구보고 44 : 127~136.
- 鄭成采 · 池榮洲 · 孫 팔沉, 1994a. 참전복 *Haliotis discus hannai*의 陸上水槽飼育에 관한 研究 I. 稚貝成長에 미치는 水槽形態 및 飼育密度의 影響. 한국양식학회지 7 : 9~20.
- 鄭成采 · 池榮洲 · 孫 팔沉, 1994b. 참전복 *Haliotis discus hannai*의 陸上水槽飼育에 관한 研究 II. 먹이別飼育實驗. 한국양식학회지 7 : 77~87.
- 池榮洲 · 柳晟奎 · 盧 暹 · 金承憲, 1988. 垂下式養殖採籠에 依한 참전복, *Haliotis discus hannai* I<sub>No</sub> 稚貝의 收容密度와 成長. 수진연구보고 42 : 59~69.