

## 자성발생성 2배체 넙치의 제 2세대 생산

정창화 · 문영봉\* · 박인석\*\* · 김동수

부경대학교 양식학과

\*국립수산진흥원 여천수산종묘배양장

\*\*군산대학교 해양자원육성학과

### F<sub>2</sub> Production of Gynogenetic Diploid in Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*

Chang Hwa Jeong, Young Bong Moon\*, In-Seok Park\*\* and Dong Soo Kim

Department of Aquaculture, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

\*Yeocheon Hatchery, National Fisheries Research and Development Agency,

Yeocheon 556-905, Korea

\*\*Department of Marine Living Resources, Kunsan National University

Kunsan 573-360, Korea

F<sub>2</sub> generation of gynogenetic diploids were produced in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*, by brother-sister mating with full-sibling gynogenetic diploids (F<sub>1</sub>). The induced ovulations and spawnings were conducted by using intraperitoneal injections of HCG (2,000 IU/kg body weight) with photoperiod controls. Floating rates of artificially ovulated eggs were ranged from 22.9 to 65.7%. Fertilization and hatching rates were ranged from 69.0 to 86.2% and 36.8 to 85.8%, respectively. All of those three rates between two experimental groups were not significantly different (P>0.05). Average survival rates of F<sub>2</sub> generation of 40-day-old gynogenetic diploid larvae were slightly lower than those of controls (P<0.05), however growth rates were much higher than those of their diploid controls.

Key words : 2nd generation, Gynogenetic diploid, *Paralichthys olivaceus*

### 서 론

어류 양식 산업에 있어 염색체 조작을 통한 유전육종은 단시간에 생산성을 향상시킬 수 있어 매우 유용하게 사용되고 있다(Kim et al., 1994a, b, 1995).

어류에 대한 염색체 조작 기법 중 모계의 유전형질만으로 생존력있는 개체를 생산하는 자성발생성 2배체의 유도는 동형접합체를 유도함으

로서 단기간에 순계를 확립할 수 있는 잇점이 있다(Thorgaard, 1986). 해산 양식 어종의 주 대상종인 넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 종묘 배양장에서 근친간 교배로 인하여 그의 우수 형질이 점점 줄어들고 있어, 유전자 조작을 통한 우량 형질의 순계 확립이 필요한 실정이다(Kim et al., 1993, 1996). 이에 본 종에 대한 순계 확립을 위한 자성발생성 2배체의 유도가 일본산에 대하여 Tabata (1988)에 의해 보고된 바 있으

본 연구는 한국과학재단 지정 우수공학연구센터인 부경대 해양산업개발연구소 연구비 지원에 의해 수행되었음.

며, 한국산 넙치에 대하여는 이미 Kim 등(1993, 1994)에 의해 자성발생성 2배체 및 자성발생성 2배체 수컷이 유도된 바 있고, 이들을 이용한 전암컷 넙치가 생산되어 산업화되고 있다.

본 연구에서는 자성발생성 2배체의 형제-자매간 교배를 통해 열성 형질을 집단내 선발에 의해 제거하기 위하여 자성발생성 2배체의 제 2 세대를 생산하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 어류

자성발생성 2배체 암·수 넙치는 Kim 등(1993)에 의해 유도된 자성발생성 2배체 암컷과 Kim 등(1994)의 방법에 의거 유도된 자성발생성 2배체 수컷 넙치를 실험에 사용하였다.

### 2. 방법

#### 2-1. 산란유도

성숙 및 산란을 유도하기 위하여 1994년에는 1년산 자성발생성 2배체 넙치 수컷 16마리와 2년산 자성발생성 2배체 암컷 6마리에 대하여 광주기를 조절하였고, 1995년에는 2년산 수컷 및 3년산 암컷 동일 개체를 실험에 사용하였다. 광주기는 Kim과 Hur (1991)의 방법을 약간 수정하여 행하였다. 성숙한 암컷 개체에 대하여 HCG를 어체중 kg당 2,000 IU 농도로 복강 주사한 후 복부 압박법으로 채란하였고, 복부를 눌러 정액이 흘러나오는 성숙한 수컷을 선별한 후 복부압박법으로 채정한 정자와 전식법으로 인공수정시켰다. 사육수조는 지름 3 m, 5톤 용량의 원형수조를 사용하였다. 사육수는 지하해수를 사용하였으며, 사육수온은  $17.0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 를 유지하였다.

#### 2-2. 부상률, 수정률 및 부화율

난의 부상률은 채란한 난에 정액을 넣어 수정시킨 후 채란한 난에 대한 부상한 난의 수를 세어 백분율로 구하였다. 수정률은 부상란 중 110 여개의 난을 무작위 추출하여 2~4 세포기로 발생이

진행되는 난의 수를 계수하였으며, 부화율은 수정란 중 110개의 난을 무작위 추출하여 배체 형성이 완료된 부화 직전의 난의 수를 세어 백분율로 나타내었다. 모든 값은 3반복으로 행한 후 평균값으로 나타내었다.

#### 2-3. 사육 및 성장

자어의 사육은 성장 단계에 따른 일반 넙치 종묘 생산 방법에 따라 행하였다. 부화 후 50일경 평균 전장이 3 cm가 되었을 때 수조당 4,000 마리/ $\text{m}^3$ 의 밀도로 5개의 수조를 유지하였으며, 4 cm 이후부터는 각 수조당 전체 사육 개체 중 성장이 뛰어난 개체 10%만을 선발하여 2,000 마리/ $\text{m}^3$ 의 밀도로 사육하였다.

제 2 세대 자성발생성 2배체의 성장은 자어 시기에서부터 형태 변화가 일어나는 착저 시기와 그 후 1개월마다 20마리를 무작위 추출하여 전장을 측정하여 대조군의 성장과 비교하였다. 이때 대조군도 성장이 뛰어난 개체 10%만을 선발하였다.

#### 2-4. 통계 분석

모든 자료는 Student's t-test를 수행하여 유의성을 검정하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 인공산란유도

광주기 조절 1차년도(1차실험)에는 일조시간을 14시간으로 증가시킨 후 25일만에 호르몬 처리에 의해 산란이 가능할 만큼의 성숙이 이루어졌다. 성숙된 암컷 6마리에 대하여 HCG를 어체중 kg당 2,000 IU의 농도로 복강주사한 결과 2마리에서 산란이 유도되었다(Table 1). 수컷은 충분히 성숙하여 복부 압박법으로 채정이 가능하였다. 광주기 조절 2차년도(2차실험)에는 일조시간을 14시간으로 증가시킨 후 20일 만에 성숙이 유도되었다. 성숙된 암컷 6마리에 대하여 HCG를 어체중 kg당 2,000 IU의 농도로 복강주사한 결과 4마리에서 산란이 이루어졌다(Table 1). 이러한 결과는 광주기 조절에 의한 성숙 및 산란 유도

**Table 1. Induced spawning of gynogenetic diploid female using photoperiod control and 2,000 IU/kg BW HCG injection**

Exp. No.	Date of experimental period	No. of fish used	No. of fish injected with HCG	No. of fish spawned
I	Apr. 1~Apr. 30, 1994	6	4	2(33.3)*
II	Mar. 10~Apr. 30, 1995	6	6	4(66.6)

\* Spawning frequency (%)

**Table 2. Floating, fertilization and hatching rate of F<sub>2</sub> generation of gynogenetic diploid in olive flounder**

Exp. No.	Group	Floating rate (%)	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)
I	Control	27.4±6.9 <sup>a</sup>	75.1±6.3 <sup>a</sup>	38.8±2.9 <sup>a</sup>
	Gyno-F <sub>2</sub>	22.9±6.6 <sup>a</sup>	69.0±6.4 <sup>a</sup>	36.8±4.9 <sup>a</sup>
II	control	65.7±3.5 <sup>a</sup>	85.4±6.1 <sup>a</sup>	85.8±4.9 <sup>a</sup>
	Gyno-F <sub>2</sub>	64.4±4.2 <sup>a</sup>	86.2±4.2 <sup>a</sup>	83.6±6.3 <sup>a</sup>

Means within a column followed by the same letter are not statistically different (P>0.05).

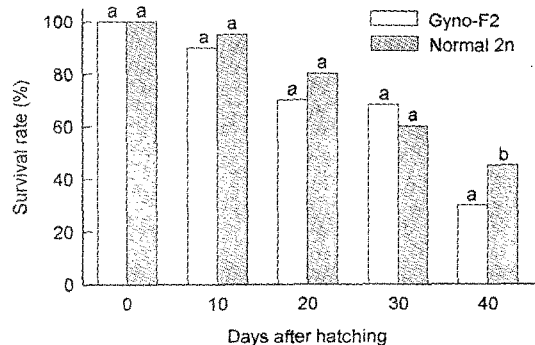
시 일조시간을 점진적으로 증가시켜 14시간에 이르면 20여일 후 성숙이 이루어져 산란한다는 Kim과 Hur (1991)의 보고와 일치하였다. 그러나, 본 실험에서 항온을 유지하며 일조시간만을 조절하면 성숙은 유도되나 호르몬의 처리 없이 산란은 이루어지지 않아, Baynes 등(1993)이 가자미 속 어류인 *Solea solea*는 광주기 조절만으로는 성숙이 이루어지나 산란은 되지 않는다는 보고와 일치하였다. 그러나 본 연구 기간 중 산란장 주위의 소음 등 적절치 못한 환경 때문에 산란하지 않았을 가능성이 있어 앞으로 이에 대한 검토가 필요할 것으로 사료된다.

**2. 부상률, 수정률, 부화율 및 초기생존율**

Table 2에 제 2세대 자성발생성 2배체 넙치의 부상률, 수정률 및 부화율을 나타내었다. 부상률은 22.9~65.7%의 범위로 나타났으며, 수정률은 69.0~86.2%, 그리고 부화율은 36.8~85.8%의 범위로 나타났다. 이렇게 다양한 값을 보인 것은 호르몬 처리에 의한 산란유도시 사용된 친어에 따른 난질의 차이 및 호르몬 처리 후 채란까지의 소요 시간 차이로 인한 결과로 사료되어 Park 등(1994)의 보고와 일치하였다. 향후 호르몬 처리에 의한 인공채란시 적절한 호르몬 처리 시기 및 농도에 대한 연구가 재검토되어야 할 것으로

사료된다.

생존율에 있어 제 2세대 자성발생성 2배체는 변태 시기인 부화 후 30일째 부화 자어 150,000 마리 중 100,000 마리 정도가 생존하여 66.7%의 생존율을 나타내었다. 대조군은 부화 자어 170,000 마리 중 110,000 마리 정도가 생존하여 65.0%의 생존율을 나타내어 제 2세대 자성발생성 2배체와 차이가 나타나지 않았다. 착자가 완료되어 저서생활을 시작하는 부화 후 40일째의 생존율은 제 2세대 자성발생성 2배체가 30%, 대조군은 45%로 나타나 자성발생성 2배체의 생존율이 대조군보다 15% 정도 낮은 생존율을 나타내었다 (P<0.05) (Fig. 1). 이는 제 1세대 자성발생성



**Fig. 1. Survival rate of control and F<sub>2</sub> generation of gynogenetic diploid. Different letters superscripted are significantly different (P<0.05).**

2배체 암·수간 형제-자매간 교배에 의한 inbreeding depression에 기인한다고 사료되어지나, 사육 조건 및 환경에 의한 것일 가능성도 배제할 수 없다.

### 3. 선발 및 성장

성장이 빠른 10%를 선발한 대조군과 동일한 방법으로 선발된 제 2세대 자성발생성 2배체의 성장을 Fig. 2에 나타내었다. 제 2세대 자성발생성 2배체의 성장은 착지가 완료된 부화 후 40일 이후부터 성장이 대조군에 비하여 급격히 증가하기 시작하여 부화 후 100일에는 전장이 평균 15.4 cm로 대조군의 평균전장 10.0 cm에 비해 매우 빠르게 나타났다( $P < 0.01$ ).

앞으로 본 연구 결과 나타난 제 2세대 자성발생성 2배체의 빠른 성장 결과는 성장이 그의 자손에게 유전되는 율(heritability)을 측정함으로써 그의 산업성을 평가하여야 할 것이다.

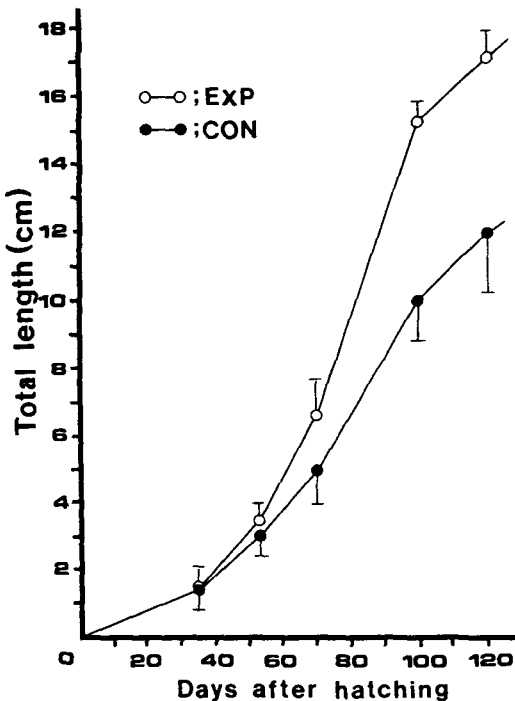


Fig. 2. Growth of control and F<sub>2</sub> generation gynogenetic diploid.

## 요 약

유도된 자성발생성 2배체를 친어로 양식어민에게 보급하고 유전적 동형접합체를 생산하기 위해 제 2세대 자성발생성 2배체를 유도하였다. 제 1세대 자성발생성 2배체의 성숙과 산란은 광주기와 HCG 처리로 유도하였을 때, 부상률은 22.9~65.7%의 범위로 나타났으며, 수정률은 69.0~86.2%, 그리고 부화율은 36.8~85.8%의 범위로 나타나 제 2세대 자성발생성 2배체군과 대조군 간에는 유의적 차이가 없었다( $P > 0.05$ ). 제 2세대 자성발생성 2배체의 생존율은 부화 후 40일까지 부화 자어수의 약 30%로 대조군에 비하여 15% 낮게 나타났다( $P < 0.05$ ). 평균 전장 3 cm 이후에 선발육종을 실시한 결과 평균 전장 4 cm 이후에 대조군에 비하여 급격히 성장함이 관찰되어 부화 후 100일째에는 평균 전장이 대조군이 10.0 cm, 제 2세대 자성발생성 2배체는 15.4 cm로 나타나 통계적으로 유의하였다( $P < 0.01$ ).

## 참고문헌

- Baynes, S. M., B. R. Howell and T. W. Beard, 1993. A review of egg production by captive sole, *Solea solea*, *Aquacult. Fish. Manage.*, 24 : 171-180.
- Kim, B. -S., Y. B. Moon, C. H. Jeong, D. S. Kim and Y. -D. Lee, 1994. Evaluation of fertility of artificial induced gynogenetic diploid male in *Paralichthys olivaceus*. *J. Aquacult.*, 7 : 151-158.
- Kim, D. S., Y. K. Nam and I. -S. Park, 1995. Survival and karyological analysis of reciprocal diploid and triploid hybrids between mud loach (*Misgurnus mizolepis*) and cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *Aquaculture*, 135 : 257-265.
- Kim, D. S., C. H. Jeong, Y. -D. Lee and S. Rho, 1994a. Triploid induction of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Aquacult.*, 7 : 55-61.
- Kim, D. S., J. -Y. Jo and T. Y. Lee, 1994b.

- Induction of triploidy in mud loach (*Misgurnus mizolepis*) and its effect on gonad development and growth. *Aquaculture*, 120 : 263-270.
- Kim, D. S., J. H. Kim., J. -Y. Jo, Y. B. Moon and K. C. Cho, 1993. Induction of gynogenetic diploid in *Paralichthys olivaceus*. *Korean J. Genet.*, 15 : 179-186.
- Kim, K. K., I. C. Bang, Y. Kim, Y. K. Nam and D. S. Kim, 1996. Early survival and chromosomes of intergeneric hybrids between Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and spotted halibut *Verasper variegatus*. *Fish. Sci.*, 62 : 490-491.
- Kim, Y. and S. B. Hur, 1991. Spawning induction of flounder, *Paralichthys olivaceus* by the control of water temperature and photoperiod. *J. Aquacult.*, 2 : 73-84.
- Park, I. -S., H. -B. Kim, H. -J. Choi, Y. -D. Lee, and H. -W. Kang, 1994. Artificial induction of spawning by human chorionic gonadotropin (HCG) or carp pituitary extract (CPE) in olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. *J. Aquacult.*, 7 : 89-96.
- Tabata., K. and S. Gorie, 1988. Induction of gynogenetic diploids in *Paralichthys olivaceus* by suppression of the 1st cleavage with special reference to their survival and growth. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 54 : 1867-1872.
- Thorgaard, G. H., 1986. Ploidy manipulation and performance. *Aquaculture*, 57 : 57-64.