

미꾸리, *Misgurnus anguillicaudatus*의 생존율 향상을 위한 역교배체 생산

박인석 · 김봉석* · 임재현 · 박효민** · 남윤권** · 정창화** · 김동수**

군산대학교 해양자원육성학과
*국립수산진흥원 동해수산연구소
**부경대학교 양식학과

Improved Early Survival in Backcrosses of Male Mud Loach (*Misgurnus mizolepis*) × Cyprinid Loach (*M. anguillicaudatus*) Hybrids to Female Cyprinid Loach

In-Seok Park, Bong-Seok Kim*, Jae Hyun Im, Hyo Min Park**,
Yoon Kwon Nam**, Chang Hwa Jeong** and Dong Soo Kim**

Department of Marine Living Resources, Kunsan National University, Kunsan 573-360, Korea

*East Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research and
Development Institute, Kangnung 210-860, Korea

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

Backcross hybridization between female cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) and male mud loach (*M. mizolepis*) × cyprinid loach hybrid were made, and its effect on early survival, cytogenetic traits, and gonad development were examined. Mean fertilization rate and hatching success of backcross hybrids were similar to those found in the maternal species, the cyprinid loach. However, the backcross hybrids revealed significantly improved early survival up to yolk sac absorption (86.0%) compared to cyprinid loach (0%) under low culture temperature (15°C). The erythrocytic size and DNA content of backcross hybrids were nearly intermediate to those of the parents. Karyological analysis of backcross hybrids displayed two kinds of modal chromosome number of $2n=48$ or $2n=49$. Growth of backcross hybrids over 6 months after hatching was proven to be intermediate between their parental species. Although backcross hybrids had intermediate values between those of their parents in most morphometric traits, overall external morphology of backcross hybrids was more similar to cyprinid loach than mud loach × cyprinid loach hybrid. Histological examination of gonads at 2 and 4 months of age revealed that no female was observed in backcross hybrid groups, suggesting the possibility of production of monosex male population.

Key words : Cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*), Mud loach (*M. mizolepis*), Hybrid, Backcross hybrid, Survival rate

* 이 논문은 1996년도 교육부 학술연구조성비(해양·수산과학분야)에 의하여 연구되었음.

서 론

미꾸리, *Misgurnus anguillicaudatus* 와 미꾸라지, *M. mizolepis* 는 분류학적으로 미꾸리과에 속하며 옛부터 동북아시아 지방에서 식품학적 우수성과 강장 식품으로서의 가치등을 인정받아 보전 식품으로 애용되고 있다. 이에 미꾸라지와 미꾸리의 연간소비량은 우리나라의 경우 1987년 까지 매해 3,000 ton 이상을 기록, 몇 년전 까지만 하더라도 일본에 수출되어 외화 획득의 일익을 담당하기도 하였으나 그간 하천 및 농수로의 오염과 농약의 남용으로 인하여 이들의 자연 채취량은 감소 일로에 있다.

미꾸리는 미꾸라지에 비해 성장이 늦고 고수온 및 질병에 약해 초기 생존율이 매우 낮아 양식 어종으로의 정착에 어려움이 있다(Kim et al., 1994). 따라서 미꾸리의 우량품종을 양식 대상으로 정착시키기 위한 연구의 일환으로 미꾸리 및 미꾸라지의 유전자 조작을 통한 육종연구가 다양하게 이루어진 바있다(박, 1992; Kim et al., 1995). 그중 유도된 미꾸라지와 미꾸리간의 잡종은 그 생존율이 양친과 비교시 전혀 차이가 없는 것으로 나타나 잡종 양식시 가장 문제시되는 초기 사망률의 문제점이 극복된 바있다. 더욱이 이들 잡종은 이수체(2n=49) 입에도 불구하고 생식소내에서 활발한 감수분열을 통해 완벽한 배우자 형성 능력을 갖고 있어 새로운 양식품종으로서의 개발가능성을 인정 받은 바있다.

이에 본 연구는 미꾸리 양식의 문제점인 초기 생존율을 향상시킨 새로운 우량품종의 개발을 위하여 미꾸리와 유도된 잡종(미꾸라지×미꾸리)간의 역교배체(backcrosses hybrid)를 유도한 후, 그 세포유전학적 특성과 genetic introgression의 양상을 밝히고 경제적으로 유용한 형질들을 조사함으로써 새로운 양식대상종으로 가능성을 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

1. 역교배체의 유도

미꾸리의 역교배체를 유도하기 위하여 미꾸리

암컷으로부터 난을 얻고 미꾸라지 와 미꾸리간 잡종 수컷으로부터 정자를 얻어 인공수정에 의해 미꾸리 역교배체를 유도하였으며 아울러 대조군으로 미꾸리와 미꾸라지×미꾸리 잡종을 유도하였다. 친어의 산란유도 및 인공수정은 김 등(1992)의 방법으로 하였으며 실험군의 수정난은 $23 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 부화시켰다.

2. 수정율, 부화율 및 초기생존율 조사

미꾸리군과 역교배체군을 대상으로 수정율, 부화율 및 초기생존율을 3반복 조사하였다. 수정율은 수정후 10시간에 전체 수정난중 백탁된 사란수를 제외하고 배체가 형성된 난수를 백분율로 나타내었다. 부화율은 전체 발안 배체수에 대한 부화 개체수의 백분율로 측정하였으며, 초기생존율은 미꾸리의 경우 저수온에서 그의 생존율이 급격히 감소하는 점에 착안하여 부화자의 난황흡수가 완료되는 시기인 부화후 2일까지 사육수온 $23 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 $15 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 로 서서히 낮추어 전체 개체수에 대한 생존개체수의 백분율로 측정하였다.

3. 적혈구 세포 및 핵 크기 조사

적혈구 세포 및 핵의 크기를 측정하기 위하여 미꾸리군, 잡종군 및 역교배체군의 각 실험군에서 10마리씩 임의 추출 사용하였으며 미취(김 등, 1988)된 각 개체의 미병부위 미부정맥으로부터 혈액을 채취한 후 슬라이드에 도말하여 95% ethanol로 고정한 다음 Giemsa 혹은 May-Grünbaldt Giemsa용액으로 염색하였다. 각 개체당 100개 이상의 적혈구를 측정하였으며, 적혈구 세포 및 핵의 장경(a) 및 단경(b)을 현미경($\times 1,000$) 하에서 micrometer로 측정하였다. 표면적(S)은 $S = ab\pi/4$ (Sezaki and Kobayashi, 1978), 부피(V)는 $V = (a/2)(b/2)^2 \cdot 4\pi/3$ (Lemoine and Smith, 1980)의 공식에 의하여 계산하였다.

4. 염색체수 조사

역교배체군의 염색체수 판별을 위해 박 등

(1992)의 방법을 약간 수정하여 신장직접법을 사용하였다. 10마리의 역교배체에 colchicine (Sigma, USA)을 적정농도(1~10 µg/g 체중)로 복강주사하여 3~4시간 방치 후 신장을 적출 세절하여 상온에서 저장액(0.075M KCl)에 10~20분간 처리하였다. 저장액 처리된 신장조직세포는 고정액(methanol : glacial acetic acid=3 : 1)으로 3회에 걸쳐 고정하였다. Slide 표본제작은 공기건조법으로 하였으며, 5% Giemsa (Gurr's R-66 Giemsa)용액으로 10~15분간 염색하였다. 염색체수는 현미경(×1,000) 하에서 각 개체당 50여개의 판독 가능한 염색체 중기분열상을 대상으로 계수하였으며 선명한 염색체 중기분열상을 사진촬영하였다.

5. Flow cytometry

실험군의 DNA 함량 측정을 위하여 어체로부터 혈액을 채취하였다. 미부정맥으로부터 채취된 5 µl 혈액을 PBS 용액으로 1회 원심세척(200g)한 후 1×10^6 cell을 propidium iodide (PI) 용액 (50 µg/ml PI, 0.1% NP-40, 1 mg/ml RNase A in $1 \times$ PBS)에 의해 실온에서 30 분간 염색하였다. 염색이 완료된 후 Brite HS flowcytometer (Bio Rad Co., USA)를 이용하여 역교배체의 DNA 함량을 대조군들과 비교하였다. 대조군으로는 미꾸라지, 미꾸리 및 미꾸라지×미꾸리 잡종을 이용하였으며 약 100,000개의 세포내 정보를 수집하여 DNA modfit program에 의해 DNA 함량을 측정하였다.

6. 성장률 조사

부화 6개월후 각 실험군의 성장을 조사하였다. 마취(김 등, 1988)된 개체의 전장은 버니어캘리퍼로 cm단위로, 전중은 전자저울(Sartorius L420D, USA)로 g단위까지 측정하였으며 각 실험군간 전장과 전중에서의 유의차는 Duncan's multiple range test에 의해 검정하였다.

7. 외형조사 와 계측형질 분석

유리수조 내에서 충분한 광량하에 사육된 역

교배체군을 마취(김 등, 1988) 시킨후 외형을 사진으로 찍어 체부위에 따른 외형과 색깔을 조사하였으며, 조사가 끝난 표본은 10% 중성포르말린용액에 고정, 보관하면서 형태계측학적 조사를 실시하였다.

계측형질 조사를 위하여 우선 미꾸리군, 잡종군 및 역교배체군 각 50마리씩을 대상으로 박(1992)의 방법에 의거 Fig. 1과 같이 체장(standard length, SL), 두장(head length, HL), 미병고(caudal peduncle depth, CPD), 미병장(caudal peduncle length, CPL), 주둥이 길이(snout length, SNL), 체고(body depth, BD), 가슴지느러미와 배지느러미간 거리(distance of pectoral fin - ventral fin, P-V), 배지느러미와 뒷지느러미간 거리(distance of ventral fin - anal fin, V-A), 안경(eye diameter, ED), 등지느러미기부 길이(length of dorsal fin base, DB), 제 3입수염 길이(length of 3rd barbel, B), 등지느러미기점 길이(length of origin of dorsal fin, OD), 배지느러미기점 길이(length of origin of ventral fin, OV) 및 뒷지느러미기점 길이(length of origin of anal fin, OA)를 측정하였다.

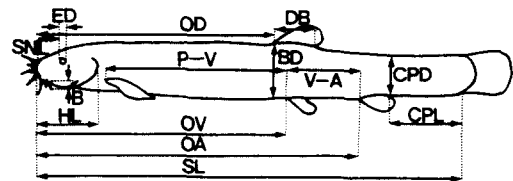


Fig. 1. Diagrammatic description of measurements for cyprinid loach (AA), hybrid (MA : MM×MA) and backcross hybrid (AA×MA)

SL : standard length, HL : head length, CPD : caudal peduncle depth, CPL : caudal peduncle length, SNL : snout length, BD : body depth, P-V : distance of pectoral fin-ventral fin, V-A : distance of ventral fin-anal fin, ED : eye diameter, DB : length of dorsal fin base, B : length of 3rd barbel, OD : length of origin of dorsal fin, OV : length of origin of ventral fin, OA : length of origin of anal fin.

A : haploid from *Misgurnus anguillicaudatus* ; M : haploid from *M. mizolepis*.

측정된 HL, BD, CPD, CPL, P-V, V-A, DB, OD, OV 및 OA는 SL에 대한 비율로 나타내었고, CPD는 CPL에 대한 비율로 나타내었으며 SNL, ED 및 B는 HL의 비율로 나타내었다. 각 계측항목의 비율을 대상으로 미꾸리군, 잡종군 그리고 역교배체군 간의 유의한 차이 여부는 'ANOVA-test'로 검정하여 형태학적 연관성을 조사하였다.

8. 성비조사 및 생식소의 조직학적 분석

역교배체의 부화후 2개월과 4개월에서의 성비 분석을 위해 부화후 2개월, 4개월에서 무작위로 각각 50마리씩을 표본하였다. 표본 즉시 10% 중성포르말린용액에 고정후 복강에서 생식소를 적출하여 Bouin 용액에 재고정하였으며 평상의 paraffin 절편법으로 4~6 μ m 두께로 절편하였다.

염색은 Mayer's hematoxylin과 eosin-phro-xine B로 하였으며 현미경 하에서 정소, 난소를 구별하여 암·수를 판별하였다. 아울러 부화후 4개월에서의 역교배체 생식소는 조직학적 분석과 더불어 사진촬영을 실시하였다.

결 과

1. 수정율, 부화율 및 초기생존율

수정율, 부화율 및 초기생존율의 결과는 Table 1과 같다. 미꾸리군의 수정율, 부화율은 각각 93.1%, 61.0%이었으며, 역교배체군의 수정율, 부화율은 각각 91.9%, 59.8%로 미꾸리군의 수정율, 부화율과 유사하였다. 부화후 2일까지 점진적으로 정상사육수 보다 8 $^{\circ}$ C 수온을 낮춘결과, 미꾸리군은 모두 사망한 반면 역교배체군은 86.0%의 생존

Table 1. Fertility, hatchability and early survival of cyprinid loach (AA) and backcross hybrid (AA \times MA)

Exp. group	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Early survival rate(%)*
AA	59/65(90.8)	35/58(60.3)	0/99(0.0)
	58/60(96.7)	42/67(62.7)	0/98(0.0)
	55/60(91.7)	33/55(60.0)	0/71(0.0)
Means \pm SD	93.1 \pm 3.18 ^a	61.0 \pm 1.48 ^a	0.0 \pm 0.00 ^a
AA \times MA	57/62(92.0)	35/65(53.8)	68/71(95.8)
	58/66(87.9)	48/69(69.6)	71/88(80.7)
	67/70(95.7)	37/66(56.1)	79/97(81.4)
Means \pm SD	91.9 \pm 3.90 ^a	59.8 \pm 8.54 ^a	86.0 \pm 8.52 ^b

*Survival rate from hatching to complete yolk sac absorption at culture condition of 15 $^{\circ}$ C water temperature.

A : haploid from *Misgurnus anguillicaudatus* ; M : haploid from *M. mizolepis*.

Table 2. Comparison of erythrocyte size of cyprinid loach (AA), hybrid (MA : MM \times AA), and backcross hybrid (AA \times MA)

Exp. group	Major axis (μ m)	Minor axis (μ m)	Surface area (μ m ²)	Volume (μ m ³)	
Cell*	AA	11.44 \pm 0.63	7.64 \pm 0.76	68.93 \pm 11.05	356.46 \pm 96.01
	MA	11.39 \pm 0.58	7.57 \pm 0.74	67.81 \pm 9.95	347.51 \pm 89.28
	AA \times MA	11.42 \pm 0.49	7.63 \pm 0.95	68.63 \pm 10.04	350.07 \pm 86.32
Nucleus*	AA	5.07 \pm 0.03	2.82 \pm 0.16	11.23 \pm 0.57	21.18 \pm 2.29
	MA	5.20 \pm 0.19	2.86 \pm 0.21	11.87 \pm 0.36	23.27 \pm 1.25
	AA \times MA	5.11 \pm 0.06	2.83 \pm 0.15	11.49 \pm 0.51	21.62 \pm 1.19

*Values are means \pm SD.

A : haploid from *Misgurnus anguillicaudatus* ; M : haploid from *M. mizolepis*.

을을 보였다.

2. 적혈구 세포 및 핵 크기

미꾸리군, 잡종군 및 역교배체군을 대상으로 적혈구 세포 및 핵 크기를 조사한 결과는 Table 2와 같다. 역교배체군의 적혈구 세포에서의 장축, 단축 및 이에 따르는 표면적, 부피는 각각 11.42 μm , 7.63 μm , 68.63 μm^2 및 350.07 μm^3 이었으며, 적혈구 핵에서의 장축, 단축 및 이에 따르는 표면적, 부피는 각각 5.11 μm , 2.83 μm , 11.49 μm^2 및 21.62 μm^3 로 역교배체군의 적혈구 세포 및 핵 크기는 Table 2에 나타난 바와같이 미꾸리, 잡종의 적혈구 세포 및 핵 크기의 중간치에 가깝게 나타났다.

3. 염색체수

역교배체군의 염색체수는 $2n=48$ (계수된 세포들의 60.1%), $2n=49$ (계수된 세포들의 36.5%)로 나타났으며(Table 3), $2n=48$ 의 중기상은 Fig. 2-a, $2n=49$ 의 중기상은 Fig. 2-b와 같다.

4. Flow cytometry

인간 백혈구를 동시에 사용하여 박 등(1992)의 방법으로 환산한 DNA함량 분석 결과, 미꾸리군은 $2.924 \pm 0.049 \text{pg/cell}$, 잡종군은 $2.909 \pm 0.053 \text{pg/cell}$ 그리고 역교배체군은 $2.921 \pm 0.058 \text{pg/cell}$ 로 나타났다(Table 4).

Table 3. Distribution of chromosome number of backcross hybrid (AA×MA)

No. of Sample	Chromosome number (%)						Total cell counted
	46	47	48	49	50	51	
1	0(0.0)	1(1.7)	33(56.9)	24(41.4)	0(0.0)	0(0.0)	58
2	0(0.0)	1(1.7)	37(61.7)	20(33.3)	1(1.7)	1(1.7)	60
3	0(0.0)	2(3.6)	34(60.7)	20(35.7)	0(0.0)	0(0.0)	56
4	1(1.7)	2(3.3)	36(60.0)	21(35.0)	0(0.0)	0(0.0)	60
5	1(1.9)	0(0.0)	33(61.1)	20(37.0)	0(0.0)	0(0.0)	54
Total cell counted(%)	2(0.7)	6(2.1)	173(60.1)	105(36.5)	1(0.3)	1(0.3)	288

A : haploid from *Misgurnus anguillicaudatus* ; M : haploid from *M. mizolepis*.

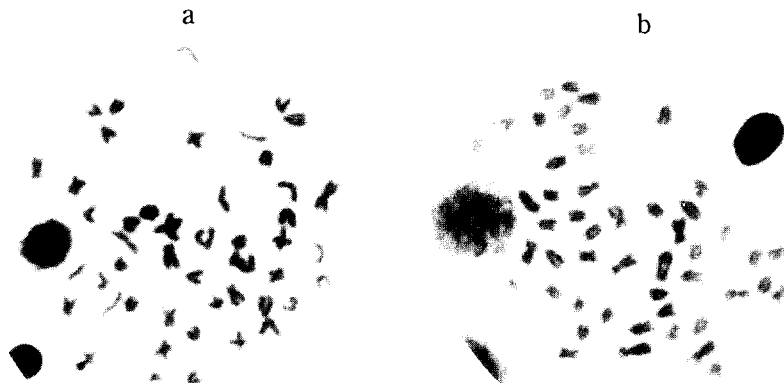


Fig. 2. Metaphases of backcross hybrid (AA×MA). a : $2n=48$; b : $2n=49$. A : haploid from *Misgurnus anguillicaudatus* ; M : haploid from *M. mizolepis*.

Table 4. DNA content of cyprinid loach (AA), hybrid (MA : MM×AA), and backcross hybrid (AA×MA)

	Exp. group		
	AA	MA	AA×MA
DNA content (pg/cell)*	2.924 ± 0.049	2.909 ± 0.053	2.921 ± 0.058

*Values are means± SD.

A : haploid from *Misgurnus anguillicaudatus* ;
M : haploid from *M. mizolepis*.

5. 성장율

부화후 6개월에서의 전장은 미꾸리군이 11.0cm, 잡종군이 11.8cm 그리고 역교배체군이 11.3cm를 나타내어 전장 성장에 있어 잡종군, 역교배체군, 미꾸리군의 순서를 나타내었다. 전중량 성장 순서

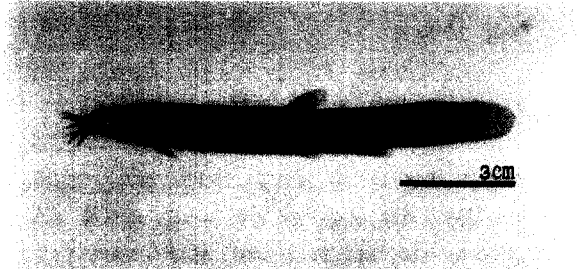


Fig. 3. External morphology of backcross hybrid (AA×MA). A : haploid from *Misgurnus anguillicaudatus* ; M : haploid from *M. mizolepis*.

역시 전장 성장과 마찬가지로 잡종군, 역교배체군, 미꾸리군이었으며 전중은 잡종군이 10.6g, 역교배체군이 6.9g, 미꾸리군이 6.6g을 나타내었다 (Table 5).

Table 5. Growth of cyprinid loach (AA), hybrid (MA : MM×AA), and backcross hybrid (AA×MA) at 6 months after hatching

Exp. group	Total length (cm)	Total weight (g)	Condition factor
AA	11.0 ± 0.3 ^a	6.6 ± 0.6 ^a	60.0 ± 16.2 ^a
MA	11.8 ± 0.6 ^a	10.6 ± 1.5 ^b	89.8 ± 18.4 ^b
AA×MA	11.3 ± 0.4 ^a	6.9 ± 0.7 ^a	61.1 ± 15.4 ^a

Means within a column superscripted same letter are not significantly different (P>0.05).

A : haploid from *Misgurnus anguillicaudatus* ; M : haploid from *M. mizolepis*.

Table 6. Comparison of body proportion ratios of cyprinid loach (AA), hybrid (MA : MM×AA), and backcross hybrid (AA×MA)

	AA*	MA*	AA×MA*
HL/SL	16.67 ± 1.10 ^a	14.26 ± 0.73 ^a	16.42 ± 0.77 ^a
BD/SL	11.80 ± 0.51 ^a	11.61 ± 0.99 ^a	14.82 ± 1.71 ^b
CPD/SL	9.39 ± 0.79 ^a	9.10 ± 0.79 ^a	13.09 ± 1.42 ^b
CPL/SL	14.28 ± 0.85 ^a	13.87 ± 1.26 ^a	19.59 ± 1.82 ^b
P-V/SL	42.05 ± 1.32 ^a	35.70 ± 1.54 ^b	40.79 ± 1.88 ^c
V-A/SL	13.32 ± 0.92 ^a	13.12 ± 0.48 ^a	14.87 ± 1.56 ^b
DB/SL	10.26 ± 1.07 ^a	6.63 ± 0.54 ^b	8.96 ± 1.46 ^c
OD/SL	57.86 ± 1.81 ^a	57.41 ± 1.36 ^a	56.59 ± 3.01 ^a
OV/SL	60.21 ± 2.02 ^a	60.22 ± 1.29 ^a	59.34 ± 2.17 ^a
OA/SL	72.70 ± 2.01 ^a	72.08 ± 1.63 ^a	72.54 ± 2.32 ^a
CPD/CPL	66.28 ± 6.00 ^a	79.02 ± 8.39 ^b	71.77 ± 12.59 ^c
SNL/HL	42.34 ± 3.39 ^a	41.34 ± 3.72 ^a	41.99 ± 4.34 ^a
ED/HL	15.05 ± 1.42 ^a	15.56 ± 2.22 ^a	15.61 ± 1.79 ^a
B/HL	28.41 ± 3.12 ^a	46.91 ± 8.65 ^b	40.16 ± 5.43 ^c

*Means± SD values in same row having the different superscripts are significantly different (P>0.05).

A : haploid from *Misgurnus anguillicaudatus* ; M : haploid from *M. mizolepis*.

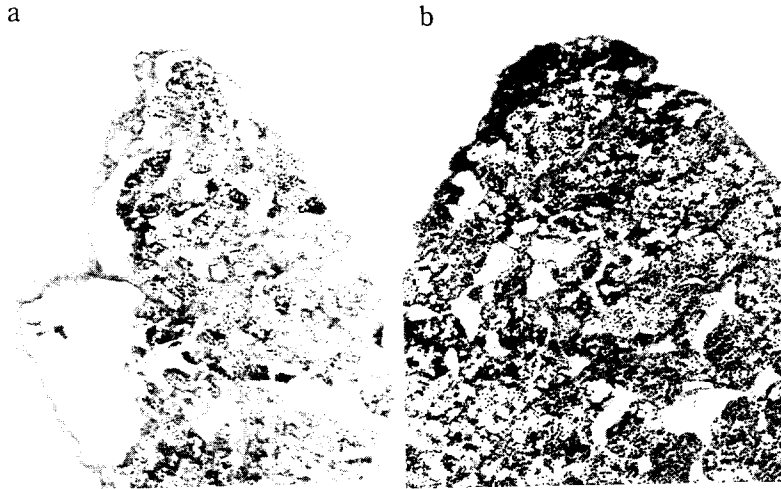


Fig. 4. Photomicrograph of testis of 2 month (a) and 4 month (b) after hatching in backcross hybrid. Mag. $\times 100$.

Table 7. Sex ratios of backcross hybrid (AA \times MA) at 2 month and 4 month after hatching

	Age	
	2 month	4 month
No. of fish examined	50	50
No. of female	0	0
No. of male	50	50
Male (%)	100	100

A : haploid from *Misgurnus anguillicaudatus* ;
M : haploid from *M. mizolepis*.

6. 외형 및 계측형질

Fig. 4는 역교배체군의 외형으로서 체색, 몸의 측편정도, 체 상반부의 짙고 뚜렷한 검은색 등을 고려시 전형적인 미꾸리의 외부형질을 나타내고 있다. 그러나 미병부위는 역교배체가 미꾸리군에 비해 다소 측편되어 잡종의 형질과 유사하였다.

미꾸리군, 잡종군 및 역교배체군의 계측형질 측정 결과 및 계측형질 백분율에서의 각 실험군간 'ANOVA-test' 시 유의한 차이정도는 Table 6에 나타났다. 미꾸리군, 잡종군 및 역교배체군이 서로 유사한 계측형질 비율을 보인 항목은 HL/SL, OD/SL, OV/SL, OA/SL, SNL/HL 및 ED/HL

이었고 계측형질 비율에서 역교배체군이 미꾸리군과 잡종군의 중간을 보인 계측형질 비율항목은 P-V/SL, DB/SL, CPD/CPL 및 B/HL 이었다. 계측형질 비율에서 미꾸리군, 잡종군에 비해 크게 나타난 역교배체군의 계측형질 비율항목은 BD/SL, CPD/SL, CPL/SL 및 V-A/SL 이었다.

7. 성비 및 생식소의 조직학적 분석

부화후 2개월, 4개월에서 각 역교배체군 50마리씩을 대상으로 성비를 측정한 결과(Table 7) 암컷은 전혀 나타나지 않은 전수컷 집단이었다.

역교배체군 생식소의 부화후 2개월 및 부화후 4개월에서의 조직학적 분석 결과는 Fig. 5와 같다. 부화후 2개월에서의 역교배체군의 생식소(Fig. 5-a)는 생식소의 크기는 작으나 정상 정소조직상을 나타내었으며, 부화 4개월후의 역교배체군 생식소(Fig. 5-b)는 부화후 2개월의 역교배체군의 생식소보다 발달되었고 조직내 성숙된 정자가 관찰되었다.

고 찰

본 연구 결과 역교배체는 수정율과 부화율에

있어서 미꾸리의 수정을 및 부화율과 유사하게 나타났으나 역교배체는 부화후 수온을 8°C로 하강시킨 결과, 수생균 번식 및 기타 요인에 의해 전부 폐사한 미꾸리군에 비해 86%의 생존율을 보임으로써 앞으로 미꾸리의 낮은 생존율을 대체할 수 있는 새로운 양식대상 품종으로서의 가능성을 보였다.

역교배체군의 적혈구 세포 및 핵 크기, 표면적, 부피는 미꾸리군, 잡종군의 적혈구 세포 및 핵 크기, 표면적, 부피에 비해 중간값을 보여 여타 어종들의 결과들과 일치하였다. 그러나 적혈구 세포의 슬라이드 도말에 의한 이와같은 적혈구 세포 및 핵 크기 측정법은 잡종의 파악시 가장 쉬운 방법(Chevassus, 1983)이기는 하나 인위적인 오차가 있을 수 있으므로 여타 세포유전학적 연구방법들의 보충이 필요하다.

대부분의 경우 어류 잡종은 잡종 유도시 사용된 양친의 반수체 염색체들로 이루어지므로 염색체수 판별에 의한 잡종 확인은 그 정확도가 매우 높은 방법이다(Chevassus, 1983). 그러나 Kim et al. (1995)의 연구 결과를 고려시 역교배체군의 예상되는 염색체수는 $2n=49$ 혹은 $2n=50$ 이나, 본 연구 결과 역교배체군의 염색체수는 $2n=48$ 와 $2n=49$ 로 나타나 매우 흥미로웠다. 이와같은 역교배체에서의 염색체 다형현상은 염색체수 $2n=69$ 인 대서양연어×브라운송어 잡종을 염색체수 $2n=58$ 인 대서양연어와 역교배시 $2n=60, 64$ 및 66 으로 나타난 바(Nygren et al., 1975), 차후 역교배체군을 대상으로 이러한 현상규명을 위한 염색체 banding법등을 포함한 자세한 핵형분석이 필요하리라 사료된다.

최근 잡종분석 방법중 flow cytometry에 의한 DNA함량 측정법이 사용되고 있으며 이러한 flow cytometry에 의한 DNA함량 측정법은 그 정확도가 높아 잉어과 잡종의 판별시 유도 잡종에서 여러 수준의 배수화판별에 이용된다 (Allen and Stanley, 1983). 미꾸리군의 DNA함량은 잡종군의 DNA함량보다 크게 나타났으며 이런 큰 DNA함량은 Kim et al. (1995)이 이미 보

고한 바 있는 미꾸리의 염색체수 $2n=50$, 잡종군의 염색체수 $2n=49$ 인 염색체수 차이를 반영한 것으로 사료된다. 역교배체는 DNA함량에 있어 Wilkins et al. (1993), Dannewitz and Jansson (1996)의 연구 결과등에서 보고된바와 같은 잡종 3배체의 mosaicism도 보이지 않았고 역교배체의 DNA함량은 잡종의 DNA함량과 미꾸리의 DNA함량의 중간으로 나타났다. 차후 본 연구 결과 염색체수 $2n=48, 49$ 를 갖는 각각의 역교배체를 대상으로 DNA함량조사 및 염색체 banding법을 병행 실시하여 역교배체에서의 염색체 이동양상에 관한 규명이 있어야 할 것이다.

역교배체 유도시 사용된 암·수 양친과의 성장 비교는 아직까지 그 보고가 전무한 실정이다. 그러나 본 연구 결과, 역교배체의 성장 및 비만도는 미꾸리와 매우 유사한 것으로 나타났다. 차후 역교배체 성장 전반에 걸친 잡종강세 파악을 위해 부화후 6개월 이후에서의 성장조사가 필요하리라 사료된다.

유도된 역교배체는 외형, 체색 및 체반문등을 고려시 조사형질의 일부를 제외하고는 미꾸리를 더욱 닮게 나타났다. 그러나 역교배체는 BD/SL, CPD/SL, CPL/SL 및 V-A/SL의 형질에서는 양친의 형질보다 크게 나타나 등지느러미 기저원점 이후부터 꼬리지느러미까지가 상대적으로 길고, 측편되는 획득형질이 관찰되었다.

역교배체는 부화후 2개월 및 4개월에서 암컷이 전혀 나타나지 않은 전 수컷집단이었다. Lincoln (1981)은 plaice×flounder에서 잡종 3배체는 수컷이 과도하게 나타남을 보고한바 있으며 Bakos et al. (1978)은 잉어×백련어의 잡종에서 수컷이 전혀 발견되지 않음을 보고한 바도 있다. 본 연구의 역교배체군이 전 수컷인 것은 단성집단으로서 양식산업적 효과가 따를수 있으나 Chevassus (1983)가 언급한 바와같은 'selective mortality' 혹은 'bad genetic balance'에 의해 성비 차이가 나는가에 대한 규명이 있어야 할 것이다. 또한 생식소의 조직학적 분석결과 정상 정소조직상을 나타내어, 차후 생식시기에 역교배

체를 대상으로 한 생식력 조사 및 불임의 종류에 대한 조사가 필요할 것으로 사료된다.

요 약

미꾸리 암컷과 미꾸라지(*Misgurnus mizolepis*)×미꾸리(*M. anguillicaudatus*) 잡종 수컷을 교배시켜 역교배체를 생산하였다. 역교배체의 수정율과 부화율은 친어 수컷으로 사용된 미꾸리와 유사하였다. 더욱이 역교배체는 난황흡수기에 저온에 저항성을 보여 전 실험군이 폐사한 미꾸리 군에 비하여 단 14%의 낮은 초기 사망율을 나타내어 뚜렷한 생존을 증가가 관찰되었다. 역교배체의 적혈구 크기와 DNA함량은 친어 암·수의 중간을 나타내었고 역교배체는 $2n=48$ 혹은 $2n=49$ 인 2가지 종류의 2배체 염색체수를 나타내었다. 부화후 부터 6개월 동안 동일조건에서 성장율을 조사한 결과, 역교배체는 친어 암·수의 중간 성장을 보여 어류양식시 새로운 양식대상 어종으로의 가능성을 시사하였다. 역교배체는 거의 미꾸리와 체색 및 형태에서 유사하였으나 형질계측 결과 친어 암수의 중간을 나타내는 형질 및 몇 개의 새로운 획득형질이 관찰되었다. 역교배체는 부화후 2개월 및 부화후 4개월에서 각기 성비를 조직학적으로 조사한 결과 암컷을 전혀 발견할 수 없어 전 수컷 단성집단 생산의 가능성을 보였다.

참 고 문 헌

- Allen, S. K., Jr. and J. G. Stanley. 1983. Ploidy of hybrid grass carp × bighead carp determined by flow cytometry. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 112 : 431-435.
- Bakos, J., Z. Krasznai and T. Marian. 1978. Cross-breeding experiments with carp, tench and Asian phytophagous cyprinids. *Aquacult. Hung. (Szarvas)*, 1 : 57-57.
- Chevassus, B. 1983. Hybridization in fish. *Aquaculture*, 33 : 245-262.
- Dannewitz, J. and H. Jansson. 1996. Triploid progeny from a female Atlantic salmon × brown trout hybrid backcrossed to a male brown trout. *J. Fish Biol.*, 48 : 144-146.
- Kim, D. S., J.-Y. Jo and T.-Y. Lee. 1994. Induction of triploidy in mud loach (*Misgurnus mizolepis*) and its effect on gonad development and growth. *Aquaculture*, 120 : 263-270.
- 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.
- Lemoine, H. L., Jr. and L. T. Smith. 1980. Polyploidy induced in brook trout by cold shock. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 109 : 626-631.
- Lincoln, R. F. 1981. Sexual maturation in triploid male plaice (*Pleuronectes platessa*) and plaice × flounder (*Platichthys flesus*) hybrids. *J. Fish. Biol.*, 19 : 415-426.
- Nygren, A., L. Nyman, K. Svensson and G. Jahnke. 1975. Cytological and biochemical studies in back-crosses between the hybrid Atlantic salmon × sea trout and its parental species. *Hereditas*, 81 : 55-62.
- Sezaki, K. and H. Kobayashi. 1978. Comparison of erythrocytic size between diploid and tetraploid in spinous loach, *Cobitis biwae*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 44 : 851-854.
- 김동수 · 방인철 · 전세규 · 김연환. 1988. 인체용 마취제인 리도카인이 수 종의 양식어류에 미치는 효과. *한국어병학회지*, 1 : 59-64.
- 김동수 · 김종현 · 박인석. 1992. 태반성 성선 자극 호르몬(Human Chorionic Gonadotropin) 처리에 의한 미꾸라지의 산란 유도 및 연중 다산란 유도를 위한 연구. *한국양식학회지*, 5 : 109-115.
- 박인석. 1992. 미꾸리와 미꾸라지의 잡종 및 잡종 3배체 관한 연구. 부산수산대학교 박사학위논문. 85 pp.
- 박인석 · 김치홍 · 최경철 · 김동수. 1997. 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss*와 산천어, *O. masou*간의 잡종 및 잡종 3배체 생산. I. 세포유전학적 연구. *한국양식학회지*, 10 : 39-47.