

염색체조작의 원리와 기술

한국양식 편집부

2. 어류

세포가 감수분열을 할 때에는, 분열에 앞서 염색체가 복제된다. 이 때, 물리적 또는 화학적 자극을 가하면, 분열이 저지되고 배수화된 염색체로 된 핵이 형성된다. 이 배수화 처리를 배 발생 초기에 행하면, 모두 배수화된 세포로 형성된 개체, 즉 배수체가 된다. 척추동물에서 이와 같은 염색체조작의 연구는, 양서류에 있어서 옛날부터 행해져 왔고, 어류에 있어서는 잉어 수정란의 저온 처리로 제2 감수분열을 저지하여 염색체를 배수화 한 것이 최초이다.

배수체와 자성발생 2배체 생산 등의 염색체 조작은 어패류의 품질 개선과 우량 품종 생산을 위한 유용한 기술로서 기대되고, 1960년대 후반 경부터 활발하게 연구되어, 최근에는 매년 수많은 보고가 이어지고 있다. 이러한 연구가 급속하게 발전한 것은, 염색체의 관찰 등에 의한 배수체의 확인이 보다 간편하고 확실하게 되어졌기 때문이다. 어류의 염색체 조작의 원리에 관해서는, 이미 Cherfas, Purdom, Thorgaard에 의해 총설되어 있다. 이 장에서는 그 후의 자료들을 덧붙여, 양식에의 응용이라는 관점에서 기술의 현황에 대해서 정리하고자 한다.

1) 배수체

유성생식을 하는 생물의 세포에는, 일반적으로 모친과 부친 유래의 염색체가 1세트씩, 합계 2세트가 있으나, 배우자가 형성될 때에는, 상동염색체가 서로 접합한 후 양극으로 떨어진다. 그렇기 때문에, 배우자의 염색체는 반감하고 1세트 분량의 염색체만이 남게 된다. 그러나, 어류의 성숙란에서는 그 염색체 수 반감

분열의 제2회 제, 즉 제2 감수분열이 중기에서 정지된 상태로 배란되기 때문에 2세트의 분량이 있다. 이 알에 1세트의 염색체를 가진 정자가 침입하면, 그 자극으로 알의 염색체는 분열을 개시하여 1세트 분량은 제2 극체로 되어 알 밖으로 방출된다.

난 내에 남은 1세트 분량은 자성전핵(雌性前核)으로 되고, 정자의 1세트 분량의 염색체로 되어 있는 응성전핵(雄性前核)과 합쳐져 2세트의 염색체를 가진 2배체로 되어 발생한다. 그러나, 정자가 알 내에 침입한 후, 적당한 시간을 계산하여 난을 급속히 냉각하거나, 고온 또는 고압 처리하면, 그 자극으로 제2 감수분열이 저지되어 2세트의 염색체로부터 자성전핵이 되고, 이것과 응성전핵이 합쳐져 3세트의 염색체를 가진 개체, 즉 3배체가 된다(그림 2. 1).

난 처리 방법은 어종에 따라 차이를 나타내는 것

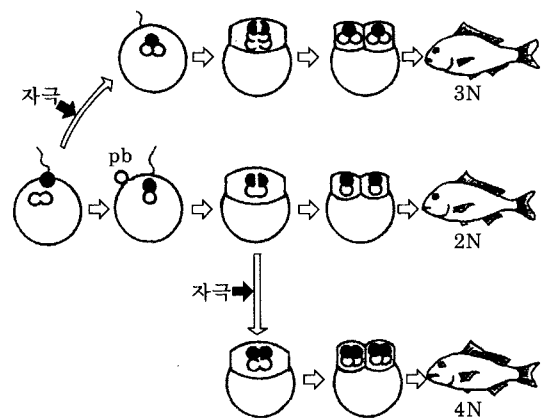


그림 2. 1. 3배체와 4배체의 유도 원리.

1set 분의 염색체를 하나의 ○표식으로 나타냄.
pb, 제 2극체.

같다. 연어과 어류에서는 수정란을 30℃전후의 고 수온에 처리하거나, 700기압 전후의 가압 처리로 좋은 결과를 얻고 있으나, 저온 처리에서는 성공률이 낮다. 한편, 온수성 어류에서는 1℃ 전후의 저온 처리로 좋은 결과를 얻은 예가 많으나, 잉어, 금붕어에서는 저온 처리보다도 38~40℃정도의 고 수온에 1분 정도 짧은 시간 처리하는 것이 성공률이 높은 예도 있다. 알처리에 의해 제2 감수분열이 저지되어 염색체가 배수화 되는 것은 방추사가 기능하지 않기 때문으로 생각된다.

3배체의 대부분은 배우자 형성에 이상이 생겨 불임이 된다. 그 원인으로서는 배우자 형성에 있어서 세 개의 상동염색체가 접합하기 때문에 염색체의 혼란이 생겨 일어나는 현상으로 생각되어지지만, 상세한 것은 밝혀지지 않고 있다. 어류에서는 성숙에 따른 육질 또는 외관 등의 품질이 극도로 저하하거나, 사망률이 증가하는 종류도 많기 때문에, 불임 3배체의 생산에 의해 그것들의 방지가 기대되어, 최근에는 많은 연구가 진행되고 있다. 배수성이 높아지면 일반적으로 세포와 핵의 크기가 커진다. 미꾸라지 3배체의 적혈구의 직경은 2배체의 그것보다도 약 1.2배 크다. 3배체의 성장률은 미성숙기에는 2배체보다 낮거나 큰 차이가 없는 것이 많으나, 성숙기가 되면 2배체를 능가하는 경우도 있다.

은어의 3배체 암컷은 해를 넘길 수가 있어 가을에 사망하는 2배체보다도 다음 해까지 성장한 것만큼 크게 된다. 그러나 3배체 수컷에서는 대부분의 어류에 있어서 유용성이 없고, 정자가 형성되지 않으면서도 정모세포를 형성하고, 생식선지수가 2배체와 큰 차이를 나타내지 않는다. 이것은 3배체의 배우자 형성 이상의 원인이 되는 염색체 접합이 암컷에서는 미성숙기에 일어나는 것에 반해, 수컷에서는 그것보다도 훨씬 늦은 시기에 일어나기 때문이라고 여겨진다. 가자미나 무지개송어의 3배체에서는 소량이지만 정자를 형성하는 개체도 있고, 이것들의 정자를 정상적인 알에 수정시킨 결과, 모든 배가 기형이 되었고, 부화 전후에 이르기까지 사망하였다. 이것은 이수체(異數體)

가 형성되기 때문이라고 생각되고 있다.

같은 종간의 수정란을 처리하여 얻어지는 것은 동질(동종) 3배체, 다른 종간의 수정란에서 얻어지는 것은 이질(이종, 잡종) 3배체라고 한다. 일반적인 교잡에서는 잡종이 생존하지 않은 경우일지라도, 이질 3배체를 이용함으로써 생존성이 회복하는 경우가 있다. 암컷 어미 쪽 개놈의 배화(倍化)에 의해 특정형질을 강조시킨 새로운 잡종의 생산 가능성도 있을 것으로 여겨진다.

한편, 일반적인 수정란에 있어서 제1 난할에 앞서 염색체가 복제되었을 때 배수화 처리를 하면 4배체를 얻을 수 있다(그림 2. 1). 최근 무지개송어에서 성공한 4배체를 이용하여, 그것과 2배체와의 교잡으로 3배체를 얻고, 또 그 교잡된 알의 처리로 5배체, 6배체 생산도 가능하게 되었다. 초대(初代)의 배수체에 대해서는 생존율이 낮은 것으로 보고되어져 있지만, 일단 4배체를 형성시켜 놓으면 3배체의 생산이 용이하게 되는 등 이점이 많다. 세포 융합제인 폴리에틸렌글리콜이나, 고 pH·고 Ca용액으로서 처리한 정자로 수정시킨 알로부터 3배체를 얻을 수 있다. 이것은 두 개의 정자가 융합 또는 융착하여 알의 내부에 침입한 것이 원인으로 생각되어 지고, 새로운 3배체 생산법으로서 흥미 있는 부분이다.

2) 자성발생 2배체

수정할 때 자성전핵이 응성전핵과 융합하지 않고, 자성 핵에서만 유래하는 핵을 가진 개체로 발생하는 것을 자성발생이라고 한다. 어류에서는 자외선 또는 γ 선을 적당량 조사(照射)하여 유전적으로 불활성화된 정자를 알에 수정시키면 자성 핵만으로 발생시킬 수 있다. 이것만으로는 반수체가 되어 생존성이 없으므로, 앞에서 서술한 3배체 생산의 경우와 같이 알에 자극을 주어 제2 감수분열 또는 제1 난할 저지로서 염색체를 배수화하면, 생존성이 있는 자성발생 2배체를 얻을 수 있다(그림 2. 2). 최근에는 자외선조사로 정자의 불활성화가 쉬워졌기 때문에, 많은 종류의 성공 예가 있으며, 그 중에는 높은 효율로 생산되는 종

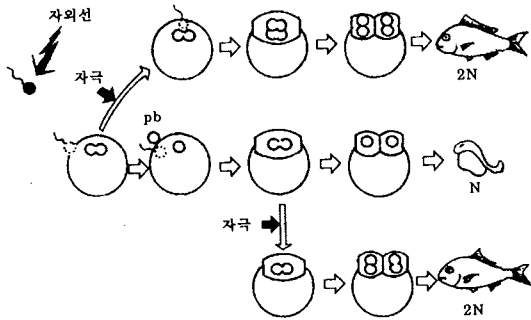


그림 2. 2. 자성발생 2배체의 유도 원리.

유도 있다.

자외선 조사 정자로 수정시킨 미꾸라지 알에 있어서 정자의 행동을 조직절편으로 관찰한 결과, 정자 핵은 응성전핵으로 되어, 자성전핵과 접촉을 하지만 양자의 완전한 융합이 이루어지지 않고, 제1 난할기에는 그 응성전핵은 소체(小體)로 되고, 낭핵(娘核)형성이 일어나지 않는 것이 확인되었다. 자성발생 2배체는 암컷 어미 쪽에서 유래하는 염색체만을 가지기 때문에, 유전적 순화도(純化度)가 급속히 진행되고 육종 기간의 단축이 기대된다. 제2 감수분열 저지법에 의한 자성발생 2배체에는, 제1 감수분열의 접합기에 염색체 교차가 일어나고, 그 부분의 유전자 교환이 일어나는 경우가 있으므로, 유전자좌에 의해서는 이형접합이 되는 경우가 있다. 그러나 어중에 있어서는 다수의 유전자가 관여하는 형질에 관하여 보면, 세대를 반복함에 따라 유전적 순화도가 급속히 진행될 것으로 생각되어진다.

정상 금붕어 중앙부에 있는 다섯장의 비늘은 같은 양친으로부터 태어난 형제간에 이식되어도, 5일 후에는 대부분이 거절 반응을 나타내어 주변 조직의 염증 또는 일부 탈락을 가져왔다. 그러나 미꾸라지의 불활성 정자로 자성발생을 시킨 금붕어 제1 세대들에서, 이식한 비늘은 5일 후에도 거절의 징조가 확인되어 지지 않았다. 이것도 결국에는 거절 반응이 일어났지만, 자성발생 제2 대에서는 이식 후 4개월이 경과하여도 거절반응이 일어나지 않는 것으로 보아, 세대가 거

듭될수록 유전적 순화가 진행되는 것을 시사하고 있다. 이에 비해 제1 난할 저지법에 의한 자성발생 2배체에는, 복제된 염색체를 이용하기 때문에 이론적으로는 모든 염색체가 동형접합체로 되어 완전한 순계를 얻을 수 있다. 이 방법으로 zebra fish 등에서 생산에 성공하고 있으나, 성공률이 낮고 얻어진 어중에 한정되어 있는 것 등의 문제가 있으므로, 앞으로의 연구 성과가 기대된다.

암컷 동형접합형인 어류에서의 자성발생은 이론적으로는 모든 개체가 암컷이 된다. 이러한 어류는 암컷이 되는 유전자 Y염색체를 가진 정자와 암컷이 되는 X염색체를 가진 정자인 두 가지 형태의 정자 중 어떠한 정자를 수정시키느냐에 따라 성이 결정되지만, 자외선 조사 정자가 자성 발생한 경우에는 염색체가 기능하지 않기 때문에 암컷만이 형성된다. 어류에서는 알 또는 알을 가진 어류의 식품 가치는 매우 높고, 또 양식하기 위해서도 암컷이 많은 편이 유리하며 암컷이 수컷보다 더 성장이 빠른 종류도 있으므로, 자성발생은 암컷을 희망하는 생산 기술로서 그 의의가 있다.

그러나 암컷 동형접합형으로 생각되어지는 어류로 자성발생시켜도 이론과 같이 모두 암컷의 개체가 형성되지 않는 경우도 있다. 미꾸라지 자성발생의 경우는 모두 암컷이 되는 경우와 5% 전후의 수컷이 나오는 경우가 있다. 또 넙치의 자성발생에 의해서는 실험 사육군에 따라 수컷이 11.3~100%도 출현한다. 이것은 성의 결정이 어중에 따라 유전적 요인 이외에 환경적 요인에 따라서도 영향을 받는 것으로 생각되지만, 상세한 것은 밝혀지지 않고 있다. 최근, 넙치의 자성발생 치어에 자성 호르몬을 미량 투여함에 따라 100% 암컷의 출현에 성공하였다.

3) 응성발생 2배체

자성 전핵의 제거 또는 불활성화된 알이 응성 전핵만의 관여로 발생하는 것을 응성발생이라고 한다. 小野野는 성숙한 산천어의 미수정란에 γ 선을 조사하여 유전적으로 불활성화 시킨 후, 여기에 무지개송어의 정자를 수정시켜 응성발생을 유도하였다. 이대로는 반

수체로 되어 생존하지 않기 때문에, 제1 난할을 저지하여 염색체를 배수화하여 생존 능력이 있는 2배체의 생산에 성공하였다(그림 2. 3). 이 개체의 외형은 수컷 어미의 무지개송어와 동일한 특성을 나타내었다.

이 방법으로 얻어진 응성발생 2배체도 이론적으로는 완전한 동형접합체이기 때문에 순계를 얻는 한 방법으로 그 의의가 있다. 또 다른 종의 정자를 이용하여 발생시키는 것도 가능하기 때문에 절멸 위기에 처한 유전자원을 정자에 보존하여, 다른 종류의 알을 이용하여 그 종류를 복원시키는 것도 가능할 것이다. 또 성결정이 암컷 동형접합자형 어류에서는 Y염색체를 가진 정자로 응성 발생시키면 YY 수컷(초웅)이 가능하다. 이것과 일반적인 암컷과의 교배에 의해 모든 자손이 수컷화 되기 때문에, 이 기술은 수컷의 가치가 높은 틸라피아의 양식에서는 그 의의가 크다고 할 수 있다. 응성발생에서는 알에 강력한 γ 선 조사의 영향과, 제1 난할 저지에 의한 염색체의 배수화라고 하는 두 가지의 관문이 있기 때문에, 현재로서는 성공률이 낮아 앞으로 많은 연구 과제가 남겨져 있다.

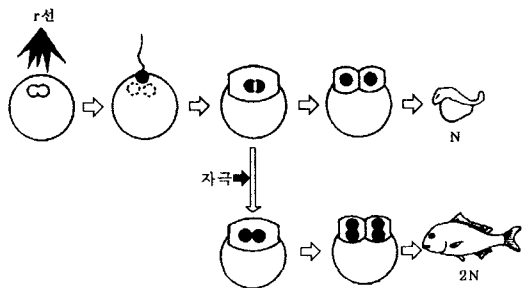


그림 2. 3. 응성발생 2배체의 유도 원리.

4) 호르몬에 의한 성의 제어

자성발생과 응성발생도 성 제어 기술의 하나라고 할 수 있지만, 여기서는 스테로이드 호르몬 투여에 의한 성의 인공적 전환에 대해서 기술하겠다. 많은 어류의 성은 성염색체에 의해 결정된다. 암컷 동형접합자형의 어류에서는 전술과 같이 두 가지 형을 가진 정자에 의해 성이 결정된다. 그러나 어류에서는 이와 같

이 유전적으로 성이 결정되어져 있음에도 불구하고, 성이 분화되지 않은 치어기에 응성스테로이드를 투여함에 따라 암컷을 수컷으로 전환시키는 것이 가능하고, 반대로 자성스테로이드 투여로 수컷을 암컷으로 전환시킬 수 있다.

암컷 동형접합자형의 자성발생 어류(XX)를, 위에서 밝힌 바와 같이 성 전환시키면 XX형의 수컷을 얻을 수 있다. 이 수컷은 X정자 밖에 생산하지 않기 때문에, 일반적인 암컷과 교배하면 다음 세대는 모두 암컷이 된다. 이 기술에 의해 상품 가치가 높은 암컷 어류의 생산이 용이하게 될 뿐만 아니라 자성발생으로 생산한 우량 계통의 유지·증식, 더욱이 다른 우량 계통간의 잡종 생산, 전암컷 3배체의 생산이 가능하게 된다.

5) 장래전망

이상에서 기술한 것과 같이 염색체조작은 어류의 품질 개선과 육종 기간의 단축이 기대된다. 3배체 또는 자성발생 2배체에 대해서는 원리가 간단하며 고도의 기계 설비를 필요로 하지 않기 때문에, 최근 많은 어종에서 성공한 예가 있으며 이미 응용 단계에 달한 것도 있다. 한편 현재까지 어려웠던 제1 난할 저지에 의한 4배체, 융합 정자에 의한 3배체, 응성발생 2배체도 어류에서 생산되게 되었다.

이것들은 독자적으로도 중요한 의의를 가질 뿐만 아니라, 앞으로는 두 가지의 기술을 결합시켜 보다 새로운 육종법이 탄생할 것으로 여겨진다. 여기까지 설명한 염색체 조작은 세트 단위에서의 조작이었다. 이에 비해, 최근 연어과 어류에 있어서, 특정 유전자가 존재하는 다른 종의 염색체 절편을, 정자를 이용하여 알의 내부에 도입하려고 하는 것이 시도되고 있다. 이것은 새로운 염색체 조작법으로서 흥미 깊은 부분이다.

3. 무척추동물

염색체조작에서의 기본적인 원리의 대부분은 성계류, 패류, 불가사리류 등의 해산 무척추동물의 성숙, 수정, 발생 또는 세포분열의 연구에 기초를 두고 있다. 그것

은 이러한 동물들의 감수분열에서 수정을 거쳐 발생에 이르는 과정이 극히 다양하며, 실험 재료로서 적당하기 때문에 여겨진다. 그러나, 수산양식 또는 육종에의 응용이라는 관점에서 보면, 어류에 비해 그 연구가 상당부분 뒤떨어져 있다.

이러한 가운데에서도 최근 패류의 인위적 3배체 생산 등의 연구가 활발하게 진행되고 있다. 여기서는, 수산 무척추동물의 염색체조작의 기초인 감수분열에서 수정 전후의 핵 또는 염색체의 움직임 등에 대하여 논술하고, 이것들을 염색체 조작에 이용할 때의 원리에 관한 연구를 종합함으로써 안정적 생산을 위한 기술개발에 도움이 되고자 한다.

1) 난의 감수분열, 수정, 배 발생과 염색체조작

염색체조작의 대부분은 난세포의 감수분열에서 수정을 거쳐 발생에 이르는 과정에서의 염색체 움직임을 인위적으로 조작하는 것에 의한다. 수정시 난세포 감수분열의 진행 현상은 종에 따라 다르며, 특히 무척추동물은 변이가 많다. 이것들을 크게 구별하면 (1) 이미 제2 감수분열을 종료하고 있는 것(성게류), (2) 제2 감수분열 중기 전후의 것(대부분의 척추동물), (3) 제1 감수분열 중기 전후의 것(다모류, 패류, 불가사리류), (4) 난핵포기(卵核胞期)의 난모세포(해면류, 다모류, 패류 등)로 된다.

단, 이것들은 방란되어 수정하는 경우이고, 인위적으로 난소 안에 있는 난을 절개하여 꺼낸 경우에는 그 상태가 조금씩 달라진다. 예를 들면, 육종의 목적으로 가장 많은 염색체조작 연구가 행하여지는 패류를 보면, 굴류의 절개한 알은 난핵포가 남겨져 있지만, 정자를 넣으면, 난핵포의 붕괴가 일어나 수정되는 것도 있다. 참굴이나 개량조개는 (4)의 그룹에 속하지만, 절개한 알을 해수 중에 두면 난핵포가 붕괴되어, 어떤 경우에는 감수분열이 진행되어 제1 극체를 방출하는 것도 있어, 수정은 모든 단계에서 가능하다고 한다(Longo).

이러한 것으로 보아, 수산 무척추동물에서는 어류와 다른 보다 다양한 조작의 가능성이 있을 것으로

여겨진다. 예를 들면, (3)또는 (4)에 속하는 종에서는, 제1 또는 제2 감수분열의 쌍방 어느 한 쪽을 저지할 수 있으며, 더욱이 난할의 억제 가능성도 이론적으로 가능하다고 여겨진다. 지금까지는 세포분열, 핵분열의 저지에 의한 인위적 3배체의 유도(패류), 미수정란의 활성화에 의한 인위적 단위발생(성게류, 불가사리류), 정자 처리에 의한 자성발생 유도(패류) 등이 연구되고 있다.

2) 게놈의 배가법

게놈의 배가는 염색체조작 기술의 중심이라고 할 수 있다. 인위적 3배체나 자성발생 또는 응성발생은 게놈의 배가에 의해 행하여지고 있다. 알의 제1 감수분열에 의해 염색체가 반감될 때, 그것을 저지하는 것에 의해 2배성의 자성 전핵을 형성시켜 정자 유래의 응성 전핵과의 융합에 의해 3배체로 발생된다. 제1 감수분열 대신 제2 감수분열을 저지하는 방법도 같은 원리이다. 또 미수정란의 세포융합을 이용한 수정·발생의 방법도 연구되고 있지만, 성체를 얻지는 못하였다.

3) 분열 저지의 메카니즘

세포분열의 주기는 S기에 복제된 DNA를 중심으로 한 유전 정보가 M기에 염색체 내에 응집되어 낭(娘)세포에 배분되는 패턴을 가진다. 이러한 운동에 관여하는 세포 골격은 중심체, 성장체 및 방추체 등의 핵분열 장치와 세포질 표층의 할구에 생기는 함입 부분이다. 핵분열 장치의 기본 구조는 튜브린(tubulin)의 중합체인 미소관(微小管)이며, 세포의 함입 부분은 배열된 액틴(actin)미세섬유에 의해 구성되어있다. 게놈의 배가를 위한 세포분열의 저지는, 기본적으로 다음과 같은 두 가지의 메카니즘을 이용하고 있다. 그것은, (1)분열 장치의 파손에 의한 염색체의 양극으로의 이동 정지 또는 (2)세포표층의 함입부 형성의 저해에 의한 세포질분열의 저지이다.

전자에 속하는 것에는 저온·고온 등의 온도 충격, 압력, 또는 핵독(核毒)이라고 하는 콜히친(colchicine) 등의 약품이 있다. 또 후자의 예로서는 사이토칼라신

(cytochalasin)류가 있다. 이것들은 모두 발생학이나 세포분열의 연구를 위한 분열 저해를 일으키는 실험에서 이용되어진 처리법이다. 예를 들면, 방추사가 압력 또는 온도 충격에 의해 파괴되는 모습은 편광현미경을 이용한 성체의 알에서 명확하게 확인되어졌다. 카페인(cafein)도 방추사에 영향을 미치는 것으로서 극체의 형성을 저해하는 효과가 성체나 불가사리의 수정란에서 관찰되어 졌다. 또 사이토칼라신류는 배양세포에 대한 핵분열을 저해하지 않지만, 세포분열을 저해하여 다핵 세포를 형성하는 것이 밝혀졌다. 그 후 난의 극체 형성이나 난할의 저해를 일으키는 것이 알려짐으로써 계놈 배가에도 이용되게 되었다.

4) 인위적 3배체

(1) 패류에 있어서 인위적 3배체 생산의 예

패류에서 인위적 3배체가 유도되어진 것은 버어지니아굴 *Crassostrea virginica*이 처음일 것이다. Stanley 등은 이 종의 수정란을 사이토칼라신 B (CB)로 처리하여 극체 방출을 저해함으로써 3배체 치패를 육성하였다. 그 후 지금까지 인위 3배체로 유도된 패류는 상당수 있지만, 대부분은 CB 등의 시약을 이용한 화학적 처리법이 쓰여지고 있다. 그 예를 표 3. 1에 나타내었다. 그 중 최근 Yamamoto 등이 이용한 카페인 처리를 고온 조건하에서 행하는 방법은, 뒤에 서술할 배나 유생의 발생에 주는 영향이 적은 것으로 여겨져 주목되고 있다. 사용되는 약품의 농도는 종에 따라 다르고, CB의 경우는 0.1~1.0 mg을 DMSO (약 0.1%)를 포함한 해수 1ℓ에 용해시켜 쓰이고 있다. 또 카페인의 경우에는 6~15 mM의 농도가 이용되고 있다.

저온 또는 고온 등의 온도 및 수압 등의 물리적 방법도 패류 인위 3배체의 유발 실험에 이용되고 있다 (표 3.1). 어류와 비교하여 물리적 방법보다 화학적 방법이 유발되는 비율이 높고, 생존율 등도 높은 경향이 있다. 어류에도 CB로 3배체를 유발하려고 시도한 보고는 있지만, 발생에 이상이 있거나, 배수성이 세포에 따라 차이가 있는 모자이크 개체가 출현하기 때문에, 거의 쓰여지지 않고 있다. 이와 같은 CB의 효과의 차

이는 어류와 패류의 난 성질의 차이에 의한 것일지도 모른다.

(2) 배수성의 판정

효율적인 인위 3배체의 생산 조건을 결정하기 위해서는, 여러 발생 단계의 배수성을 조사할 필요가 있다. 물론 염색체를 측정하는 방법이 확실하고 신뢰성 있는 방법이라야 하고, 최종적으로는 그와 같은 확인이 필요하다. 표 3.1에서 나타낸 것과 같이 지금까지 보고된 패류의 인위 3배체의 배수성 판정은 다양한 방법이 이용되고 있다. 이것은 패류의 염색체 관찰에 노력과 시간이 걸리기 때문에, 그것 외 다른 방법을 여러 가지 쓰고 있기 때문이다. 어류에서는 적혈구의 핵경을 측정하는 것이 가장 간단한 방법으로 이용되지만, 패류에서는 이 방법을 사용할 수 없다. 패류에서의 염색체 수 측정은 난할기~담륜자까지의 초기 발생 시기에 세포분열의 빈도가 높기 때문에 중기 핵판을 관찰하기 쉬워 자주 이용된다.

그러나 치패나 성패에서는 아가미 등의 일부 조직에서 낮은 빈도의 분열이 보이는 정도로, 대량의 표본 관찰에는 상당한 노력이 필요하다. 그 외 세포핵의 핵소체 수의 계수나 아이소자임의 패턴에 의한 방법도 안정성이나 유전자형의 제약 등의 이유로, 일부의 경우에만 유효하다. 따라서, 대량의 샘플을 효율적으로 판단하기 위해서는, 현재 세포핵의 DNA 량을 나타내는 상대치를 비교하는 방법이 가장 적합한 것으로 생각된다. 지금까지의 포이르겐반응(Feulgen reaction)에 의한 방법이나 종래의 형광 염색에 비교하여 비교적 안정된 DNA 염색법이나 비색 정량법이 개발되고 있다.

측정도 현미형광측광법이나 flowcytometry에 의한 방법 등 능률적이며 정확하게 되고 있다. 즉, 혈구 또는 단일 세포로 분산시킨 것을 살아있는 그대로 또는 고정 후 DAPI 또는 PI와 같은 형광 색소로 염색하여, 형광량에 의한 DNA의 상대치를 정상 2배체 세포와 비교한다. 현미형광측정법에는 슬라이드글라스 위의 세포를 이용하여 측정하기 때문에, 분열이 왕성한 세포인 경우에는 염색체의 관찰이나 DNA 복제 중인 핵

표 3.1. 패류의 인위 3배체 유도 예

처리법	종 명	3배체 출현율*	3배체의 판정법	문 헌
CB	<i>Crassostrea virginica</i>	34/46	치패의 염색체	Stanley 등(1981)
	<i>Crassostrea virginica</i>	92/127	성패의 혈구핵 DNA	Stanley 등(1984)
	<i>Mya arenaria</i>	20/30	치패의 염색체와 아이소자임	Allen 등(1982)
	<i>Argopecten irradians</i>	85/133	치패의 혈구핵 DNA	Tabarini (1984)
	<i>Crassostrea gigas</i>	67%	담륜자 유생의 염색체	Yamamoto 등(1988)
	<i>Pecten maximus</i>	36%	극체방출의 유무	Beaumont (1986)
	<i>Chlamys noblis</i>	35/59	치패의 세포핵 DNA	古丸·和田(1987)
	<i>Pinctada fucata martensii</i>	20/20	치패의 세포핵 DNA	Wada 등(1989)
	<i>Pinctada martensii</i>	76.8%	난할기의 염색체	Weiguo 등(1987)
	<i>Scaphorca subcrenata</i>	96%	담륜자 유생의 염색체	植木·池田(1989)
	<i>Chlamys varia</i>	78.5%	담륜자 유생의 염색체	Baronet 등(1989)
CF	<i>C. gigas</i>	94%	담륜자 유생의 염색체	山本 등(1988, 1989)
	<i>Mytilus edulis</i>	?		
저 온	<i>Haliotis edulis</i>	80%	담륜자 유생의 염색체	Arai 등(1986)
	<i>Pinctada martensii</i>	52.8%	난할기의 염색체	Weiguo 등(1987)
	<i>Pinctada fucata martensii</i>	16/31	치패 세포핵DNA	Wada 등(1989)
	<i>Crassostrea gigas</i>	62%	담륜자 유생의 염색체	Yamamoto 등(1988)
고 온	<i>Crassostrea gigas</i>	45%	난할기의 염색체	Quillet 와 Panelay(1986)
	<i>Haliotis discus hannai</i>	80%	담륜자 유생의 염색체	Arai 등(1986)
	<i>Crassostrea gigas</i>	83%	담륜자 유생의 염색체	Yamamoto 등(1988)
	<i>Mytilus edulis</i>	97.4%	담륜자 유생의 염색체	Yamamoto and Sugawara (1988)
	<i>P. fucata martensii</i>	92%	부유유생 세포핵 DNA	Wada 등(1989)
압 력	<i>Crassostrea gigas</i>	8/14	부유유생 세포핵 DNA	Wada 등(1989)
		13/21	치패의 세포핵 DNA	Chation 와 Allen (1985)
		13/20	치패의 염색체	
	<i>Chlamys nobilis</i>	7/30	치패의 세포핵 DNA	古丸·和田(1987)

CB: cytochalasin, CF: caffein(고온 자극과 병용).

*가장 높은 수치를 나타내고 있음. 분수는 3배체 개체수/관찰개체수. 味田를 수정.

의 존재도 추정할 수 있다. CB 처리를 한 수정란에서 발생한 16일령의 진주조개 유생의 세포로 측정된 예에서는, 대부분의 핵이 정지기의 것으로 2배성과 3배성의 피크만이 보여지고, 특히 정자 진입 후 5~20분(제1 극체 방출 저지)과 15~30분(제2 극체 방출 저지)에 처리한 군에서 3배성의 세포가 많이 나타났다. 이러한 유생을 사육하여 3~4개월령 치패의 아가미 조직세포를 이용하여 측정된 결과도 유생의 세포에서

추정된 3배체율과 유사한 결과를 나타내었고, 15~30분 처리구에서 가장 높았다.

(3) 3배체 유도 처리가 배 및 유생에 미치는 영향
인위 3배체를 유도하기 위한 수정란 처리는 배나 유생의 발생에 다양한 영향을 미친다. 처리군은 무처리군에 비교하여 난할 등 발생에 이상이 많고, 변태율이나 부화율 또는 생존율도 낮아지는 예가 많다. 또

처리를 함에 따라 유생의 변태가 늦어지는 것도 관찰되고 있다(그림 3. 1). 즉, 정자를 넣은 후 5~20분까지 CB(0.1 mg/l)로 처리한 경우, 24시간 후의 정상 D형 유생의 비율은 25% 이었다. 한편, 무처리의 대조군에서는 98%의 유생이 정상적인 D형으로 변태하였다. 처리군의 정상적인 유생 비율은 48시간 후 42%, 72시간 후 52%로 그 비율은 증가하여, 처리군에서 변태가 늦어지는 것을 알 수 있었다. 이와 같은 발생 이상은 대부분의 종에 있어서 확인되어 졌으며, 그 원인으로는 처리의 직접적 영향이나 처리로 인해 생긴 세포학적 이상 등이라고 여겨진다.

Uchimura 등은 CB나 저온 처리로 발생시킨 진주조개 유생 중에 3배체의 비율이 일령이 지남에 따라 감소하는 것을 관찰하였다. 즉, 정자 진입 후 2일째에

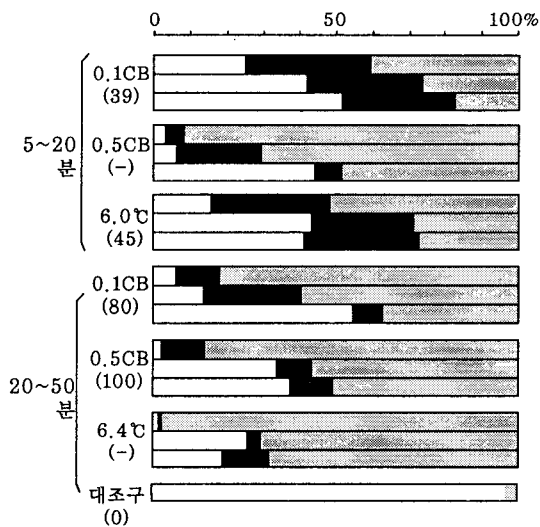


그림 3. 1. 3배체 유도 처리를 한 진주조개 유생 이상 할구. 사이토칼라신 B(0.1CB=0.1 mg/l, 0.5CB=0.5 mg/l)와 저온(6.0°C, 6.4°C)처리를 정자 진입 후 5~20분과 20~50분에 하고 24시간 후(상단), 48시간 후(중단) 및 72시간 후(하단)에 관찰(대조구는 24시간 후에 관찰). 백색: 정상 D형 유생; 흑색: 이상 D형 유생; 사선: D형으로 변태하지 않았거나 그 외의 기형. 괄호내의 숫자는 3~4개 월령 치패에서 조사한 3배체 출현율.

높았던 3배체 세포가 24일째에는 적어지고, 특히 저온 처리군에서는 거의 소멸하였다고 한다. 이러한 원인으로서는 3배성 또는 이수성의 세포를 가진 키메라 유생이 존재하여 이러한 것들이 사망하였거나, 또는 이수성의 세포를 가진 유생이 사망하였을 가능성이 있는 것으로 여겨진다. 그러나 이러한 것은 앞으로 연구되어야 할 과제로 여겨진다.

지금까지 조개류의 인위 3배체 유도 실험 결과를 보면 제1 극체 방출 저지법이 제2 극체 방출 저지법에 비해 유도율이 낮은 것으로 여겨진다. 또 3배체 유도 처리를 한 배 또는 유생의 4 내지 5배체가 염색체 관찰로 확인되었으나, 그 비율은 제1 극체가 방출될 때 저지 처리를 개시한 것에 많이 관찰되는 것 같다. 이러한 것으로 보아, 제1 극체 방출 저지 처리군에서 유생의 변태 등 발생에 악영향을 주는 세포학적 이상이 일어나기 쉽고, 이러한 것들이 발생 이상에 관계할 가능성이 있다.

예를 들면, 진주조개의 실험에서 수정 후 24시간 후에 정상 D형 유생으로 변태하지 않는 것이나, 변태가 늦어진 것을 수집하여 DNA 상대치를 측정 한 결과, 정자 진입 후 15분까지 개시한 군에서 다양한 DNA 양의 세포가 관찰되었다. 한편, 20~30분에 개시한 군에서는 2배성과 3배성의 세포가 많다. 즉, 제1 극체 방출 저지군에서는 발생에 이상이 있거나 발생이 늦어진 배에서는 세포학적 이상이 많이 나타나는 것을 시사하고 있다. 3배체 처리에서 발생한 유생의 성장은 전체로 보면, 성장의 평균치에는 큰 차이가 없으나, 변이가 많은 현상을 나타내고 있다(그림 3. 2).

(4) 생산의 효율화에 관련하여

인위 3배체 등의 염색체조작을 효율적으로 하기 위해서는 처리법이나 처리 조건의 검색 외에 알이나 정자에 관련된 생리학적·발생학적 또는 유전학적 정보를 필요로 한다. 지금까지의 중요 생산 연구에 중요시되지 않았던 점들이 중요시되고 있다. 예를 들면, Stephano and Gould는 염색체조작을 할 때, 알의 성숙도나 정자 농도가 중요하다고 지적하였다. 즉, 참굴

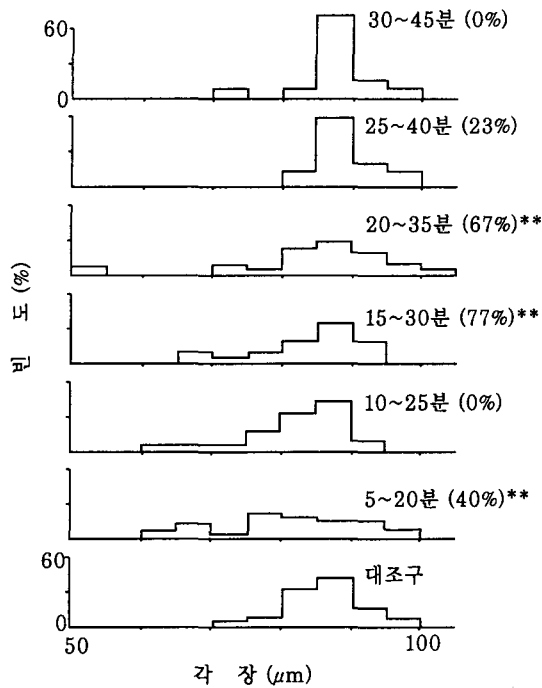


그림 3. 2. 사이토칼라신 B(0.1 mg/ℓ)가 처리된 난에서 발생한 진주조개 유생(6일령)의 각장 조성. 처리는 정자 진입 후 5분후부터 5분 간격으로 15분간 하였다. **는 대조구와의 분산에서 유의의를 나타낸 군을 나타냄. 치폐에서 측정된 3배체의 비율(괄호내의 숫자)이 높은 군이 분산이 크다.

난소를 절개한 알을 15분 이내에 수정시키면, 알에 대한 정자의 수가 30으로 적은 경우에도 45%의 알이 다정수정(多情受精)이 되지만, 해수 중에 한시간 방치 후 수정시키면, 알에 대한 정자의 수가 1,000이라도 7%이하로 저하한다고 한다. 또, 방출된 알에서도 한 시간 정도 해수에 방치한 후, 수정시키는 편이 다정수정의 확률이 낮다고 한다. 이러한 결과로 보아 지금까지 행하여진 참굴에서의 염색체 조작 연구나 종묘 생산 기술 자료의 오차는 다정수정이 영향을 미치고 있을 가능성이 크다고 지적하고 있다. 따라서 염색체조작에 이용되는 알의 취급에 있어서는 그 중에 충분한 주의를 필요로 한다.

일반적으로, 많은 무척추동물에서는 알을 동시에 수정시켜도 감수분열이나 난할의 진행 상태에 차이를

나타내는 경우가 많다. 최근, 형광 색소 염색에 의해 수정란의 핵이나 염색체의 움직임이 비교적 간편하고 정확하게 관찰할 수 있게 되었다. 지금까지의 형태적 변화나 초산오르세인 압착법에서는 어려웠거나 오차가 컸던 난 내부의 핵 또는 염색체 변화를 비교적 정확하게 관찰할 수 있다. 이와 같은 방법을 이용하여 진주조개 알의 발생에 있어서 동조성(同調性)을 보면, 수정 9분 후 (28℃)에서의 난 상태는 제1 감수분열 중기(中期)가 36%, 후(後)~종기(終期)가 18%, 제2 감수분열 중기가 44%, 후~종기가 1%이었다.

또, 같은 표본으로 제1 극체 방출 저지를 하기 위한 단계로서 적절한 시기라고 생각되어지는 제2 감수분열 후~종기의 분포를 보면, 9분 후에는 1% 이었던 것이 12분 후 13%, 15분 후 29%, 18분 후 52%, 21분 후 5% 및 24분 후 1%로 되었으며, 18분 후가 최대치를 나타내었다. 발생이 빠른 것은 9~12분 후에 그 단계에 달하기 때문에, 배가 처리는 그 시기에 개시할 필요가 있지만, 발생이 늦은 알은 아직 제1 감수분열 후기에서 종기이므로 이러한 알에서는 제1 감수분열도 저지될 염려가 있다. 또 제1 감수분열 저지를 의도한 처리에서는 반대로 발생이 빠른 알이 제2 감수분열을 개시하고 있는 경우도 있다. 이와 같이 발생의 동조성은 배가처리에 의해 다양한 계능 구성의 배가 생산될 가능성과 관련되어 있으며, 진주조개에서 그 결과가 관찰되고 있다.

5) 인위 단위발생 및 자성발생

정자를 이용하지 않고 알을 발생시키는 인위 단위 발생의 시도는, 많은 무척추동물에서 시도되어져 왔다. 그러나, 이러한 시도의 대부분은 수정 또는 발생 연구를 위한 발생 초기의 관찰에 중점을 두고 있어, 성체까지 사육한 예는 없는 것 같다. 미수정란을 자극하는 방법으로는 고장액(高張液), 저장액(低張液), 열, 자외선 외에 염화나트륨, 염화칼륨, 염화칼슘, 티몰 및 카페인 등의 화학 물질 등이 있다. Ledebur-Villiger은 티몰과 염화칼륨으로 성계 미수정란을 처리함으로써, 단위발생을 유도하여 발생학, 세포학, DNA합성의 관

점에서 상세하게 조사하였고, 높은 경우에는 30-40%의 포배(胞胚)를 얻을 수 있었다.

단위발생 배의 배수성은 n , $2n$, $4n$ 의 것 또는 이러한 것들의 모자이크로 다양한 것이 섞여있다고 한다. 단위발생 배는 플루테우스유생까지 발생시킬 수 있다고 한다. Obata and Nemoto는 별불가사리의 미수정란을 메틸아데닌으로 활성화시킨 후, 카페인 등의 메틸산틴($6\sim 10\text{ mM}$)으로 처리하여 높은 비율(80% 이상)의 단위발생 배체를 얻을 수 있었다. 단위발생 배의 대부분은 염색체 관찰에서 4배체 이었다고 한다. 이것은 앞의 단위발생 성체 배의 대부분도 4배성인 것을 고려하면 흥미 깊은 점이지만, 단위발생 배의 대부분이 왜 4배성이 되는가에 대해서는 명확하지 않다. 그러나, 단위발생을 개시시키기 위해서는 알의 중심립 복제가 필요하다고 한다. 감수분열 중에는 중심립의

복제가 일어나지 않지만, 카페인 처리에 의해 단위발생적으로 활성화시킨 경우에는 알의 중심립 복제가 일어나는 것이 전자현미경 관찰에서 밝혀졌다.

염화칼륨에서 활성화시킨 미국대합의 미수정란은 극체 방출(감수분열 완료)까지 진행하지만, 난할은 일어나지 않는다. 정상 정자를 수정시킨 알에서의 정자 유래 중심립은 감수분열 종료 후에 활성화되는 증거가 조개류에서 관찰됨으로서 단위발생 배의 난할은 이러한 점이 중요한 것일지도 모르겠다. 어류에서 행하여지고 있는 자외선을 이용한 불활성화 정자로 자성발생을 유도한 연구는 참전복이나 버어지니아굴 외에 몇 종의 패류 등에서 행하여지고 있다. 그러나, 반수체에서의 발생이 대부분이고, 자성발생 2배체의 보고에는 거의 없으며, 정자의 조사 조건이나 염색체 배가 처리 조건 등 많은 문제점이 남겨져 있다.

염색체조작 기술의 수산 양식으로의 도입과 문제점

4. 자성발생

자성발생은 육종 기술의 새로운 수단으로 자리잡고 있으며, 선발육종의 수단 외에도 암컷의 높은 성장성이나 상품성을 살리는 목적으로 한 성비의 유전적 조절 방법으로써 주목되고 있다. 해산어는 사육에 있어서 역사가 짧고 담수어에 비교하여 양식 전반에 있어 뒤떨어져 있는 경우가 많다. 그러나, 해산어의 양식에 육종적 방법을 도입하는 것은 장래성에 있어서 유익하다고 생각되기 때문에, 여기서는 일본의 해산어 중에서 최초로 시도되어진 넙치를 중심으로 하여 현재까지 명확하게 밝혀진 자성발생에 관한 정보와 실제 수산양식 현장에 적용함에 있어서의 문제점을 논하고자 한다.

1) 염색체조작의 방법

(1) 인공수정법

특히 해산어에 염색체조작 기술을 도입함에 있어서 최초의 문제점은 채란법, 종묘 생산 기술, 친어 양성 기술 등의 주변 기술 확립이다. 후자의 두 개는 최근 종묘 생산 기술의 진전으로 큰 문제는 되지 않고 있다. 인공부화 자체는 Harada 등에 의해 이미 밝혀져 있으나, Tabata 등은 인공수정시의 유의점을 재검토하고 있다.

(2) 염색체조작의 현황

정자의 유전적 불활성화는, 담수어용 또는 *Pleurometes*-용 링겔액으로 50배 희석한 정액에, 약 700 erg/mm^2 에서 $10,000\text{ erg/mm}^2$ 의 자외선을 조사하는데 따라 가능하다. $110\sim 230\text{ erg/mm}^2$ 의 조사 단계에는 부화율이 최저

치를 나타내었으나, 조사량을 증가시키면 부화율이 회복하는 명료한 Hertwig효과가 나타난다(그림 4. 1). 자외선의 강도는 온도 의존성이고, 15 GL 두 개를 30 cm 거리에서 조사한 경우 15~20°C에서는 약 35 erg/mm²·sec의 강도를 얻을 수 있으므로, 예를 들어 2분간 처리하면 약 4,000 erg/mm²의 자외선이 조사되는 것이 된다. 또, 50~100배로 희석한 정액을 90 mm의 살레 당 한 번에 10~20 ml 처리하는 것도 가능하다는 것이 증명되는 등, 대량처리의 구체적 방법도 연구되고 있다.

배수화 처리(제2 극체 방출 저지형)의 방법으로서, 저온 처리가 효과적으로 최적 처리 연속 시간은 30~45분이다. 더욱이, 저온 처리 수온은 배양 수온이 12°C인 경우, 0°C가 가장 배화율(倍化率)이 높은 것도 알려져 있다. 한편, 고온 처리(25, 30°C)는 넙치에 관해서는 좋은 결과를 얻지 못하였다. 저온 처리를 개시하는 시점에 대해서는 수정 직후로부터 3분 이내가 가장 안정적으로 높은 배화율을 얻을 수 있다. 어류에서는, 제2극체 방출 저지형 자성발생 2배체 유도 방법 외에 제1 난할 저지형 자성발생 2배체의 유도도 가능하다. 넙치의 알에 대한 적정한 수압 처리는 600~700 kg/cm²이고, 적정 처리 개시시간은 수정 60분후(수온 17°C의 경우)였으며, 그 외의 어류에서도 적정 수압은 유사하였다.

(3) 자성발생 2배체 유도의 증명

자성발생 2배체 유도의 성공은 염색체 배화 여부를 개체별로 판정할 수 있는 방법을 확립하는 것이 매우

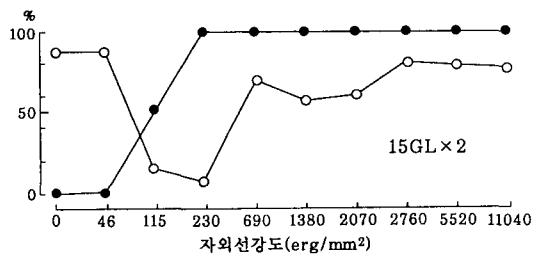


그림 4. 1. 넙치의 부화율(○) 및 반수체 증후군 발생율(●)에 미치는 자외선 조사량의 영향.

중요하다. 유전적으로 불활성화된 정자를 수정시키기 때문에 자핵(雌核)의 배화가 성공하지 않으면 배는 반수체로 되고, 안구나 미부(尾部)에 반수체 증후군이라고 하는 기형이 발생한다. 따라서, 자성발생 2배체 유도 실험구에 있어서는 배가 정상적으로 되는 것, 또는 염색체수가 2n인 것 자체가 성공의 증거가 된다. 더욱이 염색체 수를 확인하는 것은 가장 중요하며 기본적인 사항이다. 그러나 이 경우, 모든 정자가 유전적으로 불활성화 되어있다는 것이 증명되지 않으면 안 된다. 그렇기 때문에, 알비노 인자를 수컷 어미 개놈의 표지로 사용하거나, 다른 종의 정자를 이용하여 잡종이 생기지 않는 것을 그 지표로 하는 것이 시도되고 있다.

그 외에, 자성발생 2배체나 3배체 유도의 성패는 아이소자임 유전자의 표지로 확인할 수 있다는 것이 시사되었다. 수컷 어미에게 IDH 아이소자임의 AB형, 암컷 어미의 BB형을 유도한 것에 대한 IDH 아이소자임의 분석 예를 그림 4. 2에 나타내었다. 대조군에서는 AB:BB의 출현은 49:50(이론치는 1:1)이었으나, 자

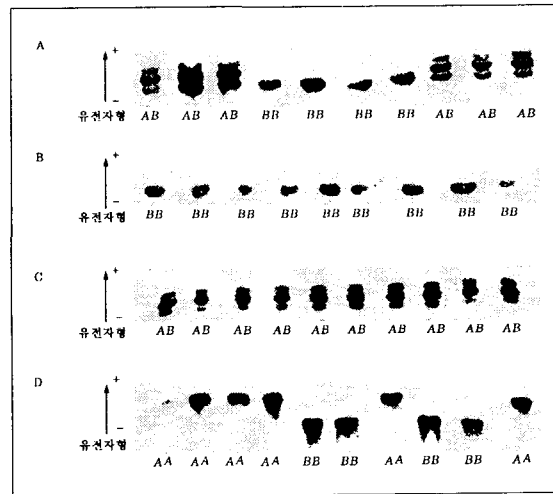


그림 4. 2. 넙치 간장에서 검출된 IDH 아이소자임.

A: 일반 발생군(암컷 어미의 유전자형 BB, 수컷 어미 AB); B: 제2 극체 방출 저지형 자성발생 2배체(암컷 어미 BB, 수컷 어미 AB); C: 제2 극체 방출 저지형 자성발생 2배체(암컷 어미 AB, 참돔의 정자); D: 제1 난할 저지형 자성발생 2배체(암컷 어미 AB, 참돔의 정자).

성발생 2배체군에서는 수컷 어미에 있는 A 대립유전자가 전혀 검출되지 않고, 모두 BB형으로 되는 것으로부터 자성발생 2배체의 유도가 증명되었다. 이와 같이 넙치의 정자로 넙치 자성발생 2배체를 유도한 경우에는, 아이소자임의 유전자형이 다른 친어를 재료로 사용하면, 그 후의 결과를 평가하기 쉽다.

그러나, IDH 아이소자임의 유전자형이 AB형의 암컷 어미를 사용하여 자성발생 2배체를 유도한 경우에는, 다른 결과를 나타내었다(그림 4. 2). 즉, 자성발생 2배체가 유도된 경우, 제2 극체 방출 저지형 자성발생 2배체의 아이소자임 패턴은 모두 호모형으로 분리되는 것이 당연하지만, 넙치의 IDH 유전자좌는 반대로 모두 헤테로형으로 되는 것이 확인되었다. 이 결과는 참돔 정자를 사용한 경우에도 동일하였다. 또, 은어의 GPI유전자좌에 있어서도 이와 같은 예가 나타났다. 무지개송어에서 상세하게 조사한 결과에서, 성숙분열에 있어서의 염색체 교차 결과, 유전자좌의 교환이 일어나고 있는 것으로 설명되고 있다. 즉, 유전자좌-동원체간(動原體間)의 교환율이 100%인 것으로 표현되고 있다. 또, 이와 같은 교환형의 유전자좌가 빈번한 것으로 보아, 제2 극체 방출 저지형의 자성발생 2배체는 호모화의 효율이 나쁘고, 순계 생산의 수단으로서 사용하는 것은 적절하지 않다고 여겨지고 있다.

IDH 아이소자임의 유전자형이 AB형의 암컷 어미로부터 유도된, 제1 난할저지형 자성발생 2배체의 IDH 아이소자임 패턴을 그림 4. 2에 나타내었다. 제2 극체 방출 저지형 자성발생 2배체에 있어서 나타내어진 것과 같은 헤테로형의 출현은 전혀 없고, 모두 호모형으로 분리되었다. 이와 같이 제2 극체 방출 저지형 자성발생 2배체에 있어서 100%의 교환율이 출현하는 유전자좌를 지표로 하는데 따라, 제1 난할 저지형 자성발생 2배체의 유도를 증명하는 것이 가능하다.

2) 자성발생 2배체의 사육 특성

(1) 넙치의 제2극체 방출 저지형 자성발생 2배체의 사육 특성

0세 어류에 있어서 부화율을 열 한가지 예에 대해

비교해 보면, 자성발생 2배체가 평균 22.1%이고, 한 마리로부터의 일반적인 발생군(대조군)이 44.2% 였다. 일반적인 발생군이 자성발생 2배체보다 우수하고 통계적으로 유의적인 차이를 나타내었다 ($0.025 > P > 0.01$). 또, 부화후의 생존율은 각각 38.8% 및 41.1%이고, 유의적인 차이는 없었다. 부화 자어(仔魚)의 전장을 보면, 일반적인 발생군이 자성발생 2배체군 보다 우수한 경우가 많았지만, 부화 시점에 나타난 우열은 그 후의 사육 성적에 큰 영향을 미치지 않았다. 다음으로, 부화 시점의 전장 변동 계수는 다섯 가지 예 중 네 가지 예에 있어서 자성발생 2배체군이 컸다. 이것은, 자성발생 2배체의 변이 확대를 시사하고 있다. 0세 어류(부화 후 200일째 전후)에 있어서 체중의 빈도 분포를 비교하면, 단순한 우열을 결정할 수 없는 경우가 많다.

여기서, 자성발생 2배체의 자성 특성을 더욱 명확히 하기 위하여 부화 전부터, 한 마리로 부터의 일반적인 발생군과 자성발생 2배체군을 하나의 수조에 수용 사육하여(동일 환경하에서의 사육) 사육 특성 비교 실험을 하였다(그림 4. 3). 더욱이, 양자의 구별은 IDH 아이소자임이 다르도록, 친어의 IDH 아이소자임 유전자형이 수컷이 AA형, 암컷이 BB형의 친어를 선택하였다. 그 결과, 전체적으로 자성발생 2배체군의 성장 열성 경향이 나타났지만, 자성발생 2배체군에서 보여진 성장 상위군의 존재는 육종 대상으로서의 가능성을 시사하고 있다.

다음으로, 자성발생 2배체의 다년(多年)어 사육 결과를 그림 4. 4에 나타내었다. 성장에 있어서는 자용의 차이가 현저하였으며, 암컷의 성장이 뛰어났다. 자성발생 2배체와 일반적인 발생군의 암컷간 비교에서는 유의한 차이는 나타나지 않았다. 비만도에 대해서도 암컷이 우위를 가졌지만, 자성발생 2배체군의 암컷이 뒤지는 경우도 있었다. 성 성숙에 대해서는 양군 모두 정상적이었다.

(2) 넙치의 제1난할 저지형 자성발생 2배체의 사육 특성

부화율은 비교적 높은 군과 낮은 군의 두 가지 형

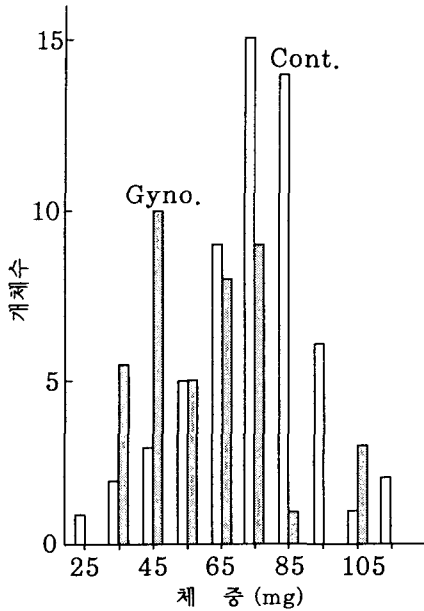


그림 4.3. 부화 전부터 동일 수조내에서 사육된 넙치의 자성발생 2배체군(Gyno.) 및 일반적인 발생군(Cont.)의 부화 후 39일째에 이어서의 체중 빈도. 양군은 IDH 아이소자임을 표식하여 구별하였다.

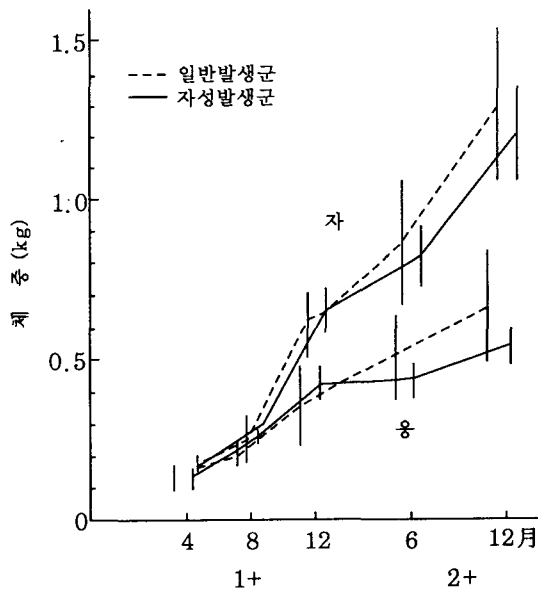


그림 4.4. 넙치의 자성발생 2배체군(-)과 일반 발생군(····)의 1+ 및 2+년에 있어서의 성장 비교.

이 나타났다. 그러나, 전자에 있어서도 부화 후 10일 까지의 생존율은 최고의 군에서도 11.5%로 극히 낮았다. 그 후 장기간 사육을 한 군에서는 부화 후 100일을 넘긴 시점에서 안정화되었다. 성장에 대해서는 부화 후 10일째에는 제1 난할 저지형 자성발생 2배체의 성장은 일반적인 발생군에 비교해 약간 저조한 경향이 있는 반면, 변동계수가 높은 것이 특징이다. 성장의 변이가 큰 경향에 대해서는 암컷 어미의 상동염색체가 이조성(異祖性)이기 때문에 유전자형은 이론적으로는 극히 다양하게 분리하는데, 이것을 반영한 결과라고 생각된다.

3) 자성발생 2배체의 성비

(1) 넙치의 자성발생 2배체의 성비

그림 4.5에는 넙치의 자성발생 2배체 암컷 출현율을 사용한 넙치 및 참돔 정자 별로 나타내었다. 대조군은 한 마리의 알에 넙치의 정자를 동시에 수정시켜 일반적으로 발생시킨 군이다. 또, 넙치 정자로 유도한 경우에는, 모두 IDH 아이소자임으로 그 유도가 증명되었다. 더욱이 여기서, 나타내고 있는 사육 예는 모두 사육 초기에 있어서 17~18℃의 가온 조건하에 사육된 것뿐이다.

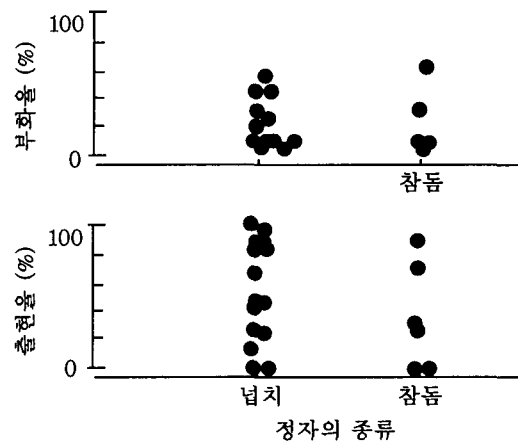


그림 4.5. 서로 다른 정자로 유도된 넙치의 자성발생 2배체군의 부화율(부상율을 포함)과 암컷 출현율.

암컷의 출현율은 0~100%로 넓게 출현하고 있다. 넙치 정자와 참돔 정자에 따른 차이는 없었다. 자성발생 2배체의 부화율에 대해서도 거의 차이가 없었다. 참돔 정자는 넙치 자성발생 2배체를 유도시키는데 유효한 정자인 것을 알 수 있었다. 넙치 정자와 참돔 정자의 SEM 영상을 비교한 결과, 양 정자의 두부(頭部) 폭은 1.7~1.8 μm 로 거의 차이를 나타내지 않았다. 이것은 참돔의 정자가 넙치의 난문(卵門)을 통과하는데 큰 장애가 되지 않는 것을 보여주고 있다.

그런데, 왜 넙치의 자성발생 2배체 성비에 이와 같은 큰 차이가 나타나는가 하는 것이 문제로 대두된다. 그 원인을 규명하기 위해 환경적 및 유전적 영향에 대하여 검토하였다. 먼저, 자연군과 인공 생산군을 포함한 일반적인 발생군의 성비를 조사하였다. 자연군은 일본국 青森縣에서 熊本縣까지 전국 다섯 곳에서 어획된 것으로, 한 장소 당 88~100개체를 조사하였다. 인공 생산군은 33군이고, 兵庫水試産을 중심으로 전국 세 곳의 민간 양식업자의 종묘를 포함하고 있다. 한 군당 평균 조사 수는 65개체이다. 암컷 출현율의 평균값(±표준편차)은 자연군이 43±14%, 인공 생산군이 28±16%로 인공 생산군이 현저하게 낮았다. 또 변동계수는 자연군이 32%, 인공 생산군이 59%로 인공 생산군의 변동이 큰 것으로 나타났다.

인공 생산 넙치의 암컷 출현율이 낮은 것과 변동이 큰 것은, 사육이라고 하는 인공적 환경이 영향을 미친 것이라는 판단 하에 따라, 다양한 환경 조건을 변화시켜 그 암컷 출현율을 비교하였다. 그 중 차이를 나타낸 사육수온 및 개체군간의 성장 차이와 성비 관계는 다음과 같다. 사육 초기 수온 17~18°C로 사육시키고 수온군과(이것은 우리들의 표준적인 사육 방법이다), 14~15°C에서 사육하는 저 수온군을 설치하여 비교실험을 하였다. 그 결과 고 수온에서의 암컷 출현율이 저하되는 가능성을 알 수 있다. 이와같이 수온이 성비에 영향을 미치는 예로 Atheriniformes류(꽂치류)에서 보고되고 있다. 그 외에, 넙치의 성비에 미치는 환경 요인으로서 개체군중에 있어서 극단적인 성장 차이를 들 수 있다. 생 먹이로 먹이 길들이기를 하는

시기에 극단적인 성장 차이가 발생하지만, 이 시기에 선별하여 따로따로 사육한 후 성비를 조사한 결과, 성장이 늦은 군의 암컷 출현율은 낮은 경향이 나타났다. 다음으로, 유전적 요인에 대한 검토결과를 논하겠다. 먼저 다섯 개체의 동일 친어로부터 자성발생 2배체의 반복 유도 결과를 그림 4. 6에 나타내었다. 여기에 보는 것과 같이 동일 친어에서의 자성발생 2배체의 암컷 출현율은 유사한 결과를 나타내는 것을 알 수 있다. 즉, 성의 결정은 환경 요인의 영향도 부정할 수 없지만, 일정한 조건하(수온, 먹이 조건을 일정하게 유지)에서는 유전적 영향의 비율이 상당히 높은 것으로 생각된다. 더욱이 제1 난할 저지형의 자성발생 2배체의 암컷 출현율은 26.5%로 낮은 비율이었다.

Yamamoto등에 의하면, 자성발생 2배체군에 나타나는 수컷은, 그 성 분화시기에 에스트로겐 처리를 함으로써 암컷화 되지만, 대조군의 수컷은 같은 처리를 하여도 암컷화 되는 비율이 낮은 것으로 보아 XX형의 성 결정 유전자를 가진 가짜수컷(偽雄)(유전적 암컷)이고, 따라서 넙치의 성 결정 양식은 수컷 헤테로-암컷 호모형을 취한다고 설명하고 있다. 그림 4. 7은 자성발생 2배체와 대조군(한 마리 알로부터의 일반적인 발생군)의 암컷 출현율 관계를 나타낸 것이다. 그림 중의 A군은 암컷 호모형(XX형)인 것으로 여겨지지만, 앞에서 서술한 바와 같이, 암컷 출현율에 미치는 유전

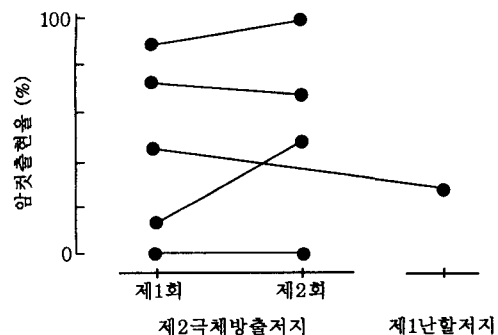


그림 4. 6. 서로 다른 5개체의 친어에서 유도된 넙치의 자성발생 2배체군의 암컷 출현율.

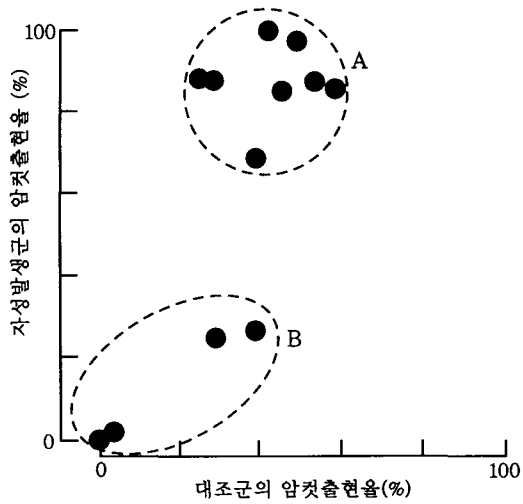


그림 4. 7. 한 마리의 넙치알을 이용한 자성발생 2배체군과 대조군(일반발생군)의 암컷 출현율의 관계. A군에 있어서의 자성발생군의 출현율은 일반 발생군보다 명확히 높다.

적 영향도 상당히 큰 것으로 생각되기 때문에, 암컷 출현율이 극단적으로 낮은 군(B군)도 한마디로 XX형이라고 단정하는 것에는, 암컷 헤테로형의 가능성도 포함시켜 더 검토되어져야 할 것으로 여겨진다.

아무튼, 넙치의 성 결정은 이상의 예가 나타내는 것처럼 복잡하다. 이것을 좀더 자세히 해명하기 위해서는, 암컷 출현율이 극히 높은 자성발생 2배체군의 가짜 수컷을 생산하여, 이것과 일반적으로 발생된 암컷과의 교배 결과로부터 유추해 가는 방법을 생각할 수 있다. 그 결과 암컷 호모형인 것이 확인되는 경우에는, 가짜수컷을 이용한 전암컷 종묘의 대량 생산이 확실하게 된다. 어쨌든 자성발생에 의한 암컷 출현율이 높은 계통과 낮은 계통이 있을지 모른다는 것을 시사하고 있으므로 계통 선택을 고려할 필요가 있을 것 같다. 앞으로는, 암컷화 외에, 우량 형질의 적극적 이용을 꾀하기 위해, 선발 육종에의 이용이라는 관점에서 연구를 추진해야 할 것이다. ㉞

※ 본 내용은 「수산양식과 염색체조작」(제주대학교 출판부, 2000년 2월)의 일부 내용을 재편집한 것입니다. 게재를 허락하여 주신 제주대학교의 여인규 교수님과 국립수산진흥원 남제주배양장의 최미경 박사님께 감사드립니다.