J. of Aquaculture
Vol. 15(4) : 275～277, 2002

한국양식학회지
Journal of Aquaculture
©Korean Aquaculture Society

－단 보－

메기 *Silurus asotus* 발생난의 핵분열

임재현 · 박인석[1*] · 정지혜[1] · 김동수[2]

군산대학교 수산과학과 · [1]한국해양대학교 해양과학부 · [2]부경대학교 양식학과

Karyokinesis in Embryos of Far Eastern Catfish, *Silurus asotus*

Jae-Hyun Im, In-Seok Park[1*], Ji-Hye Jeong[1] and Dong-Soo Kim[2]

Department of Fisheries Science, Kunsan National University, Gunsan 573-701, Korea
[1]Division of Ocean Science, Korea Maritime University, Busan 606-791, Korea
[2]Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

To obtain baseline data required for ploidy induction in *Silurus asotus*, a species with enormous aquacultural potential, histological events related to early embryonic development at 24±0.5℃ are described. The histological location of the one-celled embryos indicated that metaphase stage of the first cleavage occurs at 31 min after insemination, when the highest yield can be obtained for the chromosome set manipulation.

Key words: Far eastern catfish, *Silurus asotus*, Karyokinesis

서언 및 결과

염색체공학(chromosome engineering) 기법에 의한 3배체(triploid) 불임 개체의 유도는, 단기간에 단위 노력당의 양식 생산량 증대를 위한 방편으로 크게 각광 받고 있다(Cassani et al., 1990; Thorgaard, 1986). 그러나 이러한 3배체 유도법 중 제 1 극체 혹은 제 2 극체의 방출 억제를 통한 3배체 유도는 수온 · 물리 · 화학적 처리의 어려움 및 번거로움과 아울러 제 1 극체, 제 2 극체 방출 억제시 제한된 처리 난수로 3배체 종묘의 대량생산이 어려운 점 등으로 인해, 일부 어종을 제외하고는 산업적인 측면에서 그 적용이 쉽지 않은 실정이다(Bidwell et al., 1985; Chourrout et al., 1986; 김 등, 1993). 이의 해결 방편으로서 최근, 2배체(diploid)와 단순교배를 통해 3배체를 얻기 위해 4배체(tetraploid) 유도가 시도되고 있다(Aldridge et al., 1990).

4배체는 현재까지 챠넬메기(Bidwell et al., 1985), 연어과 어류(Myers et al., 1986), 틸라피아(Don and Avtalion, 1988), 초어(Cassani et al., 1990) 및 대두어(Aldridge et al., 1990)에서 생산된 바 있으며, 이러한 4배체는 발생중인 난에서 제 1 난할 억제로 유도되어지고 있다(Cassani et al., 1990; Aldridge et al., 1990). 자성발생(gynogenesis)은 정자 불활성에 의한 모계 유전자만으로 발생이 이루어지는 염색체공학 기법으로서, 자성발생 대상 어류의 성 결정 기작이 암컷 동형접합성(female homogamety)인 경우 전 암컷 단성집단을 생산할 수 있으며, 단기간 내에 우수한 품종의 순계 획득과 유전적으로 동일한 clone 집단을 만들 수 있다(Thorgaard, 1986; 정 등 1996). 이에, 제 1 난할 억제에 의한 메기 *S. asotus*에서의 체세포분열 억제성(mitotic) 자성발생 2배체가 유도된 바 있다(임 등, 2000). 염색체공학 기법 중 웅성발생성 2배체(androgenetic diploid)는 난자 핵을 불활성 시킨 후 정자 핵에 의해 제 1 난할 억제에 의한 유전자 배가로 유도 될 수 있다(Thorgaard,

*Corresponding author : ispark@kmaritime.ac.kr

1986).

메기는 분류학상 메기 목(Siluriformes) 메기 과(Siluridae)에 속하는 어류로, 우리나라의 전 하천에 서식하며, 만주, 일본, 중국을 비롯한 동북아시아와 타이완 등지의 담수계에 걸쳐 널리 분포한다(Park and Im, 2001). 본 종은 예로부터 맛이 좋고 영양이 풍부해 식용으로 이용되어 왔고, 민간 치료제로도 널리 이용되고 있다. 본 연구는 염색체 배가에 의한 메기 4배체 생산, 메기 체세포분열 억제성 자성발생 2배체의 효과적인 유도 조건 검정 및 메기 웅성발생성 2배체 생산을 위한 연구의 일환으로, 메기에서의 핵분열(karyokinesis)에 관하여 조사하였다.

본 실험에 사용된 메기 친어는 부산 인근 담수어 수집소로부터 구입한 후, 한국해양대학교 수산유전육종학 임해양식장에서 안정화 시켰다. 실험은 2002년 5월 중순에 실시하였으며, 사용된 메기 친어 암 · 수의 평균 전장 및 평균 전중은 각각 32.5±0.7 ㎝, 289.4±1.7 g 및 27.2±0.5 ㎝, 81.2±0.2 g 이었다. 사육 수온과 발생난의 부화 수온은 24±0.5℃로 유지하였다. 인공 산란 유도를 위해 임 등(2000)의 방법에 의거, 메기 친어를 최종 농도가 1,000 ppm $NaHCO_3$ 상태의 100 ppm 염산리도카인으로 마취후 human chorionic gonadotrophin (hCG: Sigma, USA)을 성숙 암컷에는 2,000 IU/kg BW의 농도로, 성숙 수컷에는 1,000 IU/kg BW의 농도로 복강 주사하였다. 마취에서 회복된 친어는 산란 수조에 수용하고 주사 18시간 후부터 암컷의 복부를 압박하여 채란하고 난질을 평가하여 최성숙 난을 본 실험에 사용하였다.

수정난의 발생시 제 1 난할의 핵분열 시간을 조사하기 위하여 발생이 진행중인 난을 대상으로 수정 후 20분부터 40분까지 1분 간격으로 표본하였으며, 각 표본시 100개의 난을 4℃ 냉장 10% 중성포르말린(100 ㎖ formalin, 6.5 g $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, 4.5 g KH_2PO_4, 900 ㎖ DW)에 고정하였다. 고정된 난의 연화를 위하여 Bouin's 용액에 24 시간 재고정한 후, 평상의 파라핀 절편법에 따라 6 ㎛ 두께로 난을 절편하였다. Harris's hematoxyline과 Eosin-phloxine B로 병행 염색한 후 생물현미경(Nikon, Japan) 하에서 핵분열 여부를 검경하였다. 수정후 발생 시간 경과에 따른 핵분열 시작 시간의 결정은, 각 발생 단계별 난 표본의 전체 난 수 중 80% 이상이 핵분열 중기 단계에 해당할 경우로 하였으며, 핵분열 중기를 대표할 수 있는 수정 후 시간을 메기 핵분열 시간으로 결정하였다.

메기에서의 핵분열은 수온 24±0.5℃ 조건에서 수정 후 31분에 가장 현저하였다. 본 연구 결과를 Park and Im (2001)의 수온 24℃에서의 제 1 난할 후기가 50분이며 mitotic interval이 18.5±1.2분인 결과와 비교시, 본 연구 결과의 수온 24±0.5℃ 조건에서 핵분열이 수정 후 31분인 것은 핵분열과 세포질 분열(cytokinesis)이라는 관점에서 정확히 일치한다. 임 등(2000)은 수온 24℃에서 발생중인 메기 난을 대상으로 수정 후 50분에 4℃로 30분간 저온 처리하여 체세포분열 억제성 자성발생 2배체 메기를 성공적으로 유도한 바 있다. 염색체 수의 배가시, 핵분열 억제는 세포질분열 억제에 비해 더욱 효과적으로서(Cherfas et al., 1993; Nam et al., 1999), 본 연구 결과의 핵분열 시간(수온 24℃ 조건에서의 수정후 31분)을 기반으로 하여 차후, 4배체 메기와 체세포분열 억제성 자성발생 2배체 메기 및 웅성발생성 2배체 메기 유도 및 그의 생산성 향상에 관한 연구가 기대된다.

요 약

양식 산업성이 큰 메기 *S. asotus*를 대상으로 한 염색체 공학의 기초 자료를 얻기 위하여 본 연구를 수행하였다. 본 종의 난발생 중 핵분열(karyokinesis)을 조직학적으로 조사한 결과, 수온 24±0.5℃ 조건에서 핵분열은 수정 후 31분에 가장 현저하였으며, 이 시기는 메기에서의 제 1 난할 중기에 해당하였다.

감사의 글

본 연구는 "2002년도 산 · 학 · 연 공동기술개발 컨소시엄사업" 개발과제 지원하에 이루어 졌음을 밝히며, 본 논문에 대하여 지적 및 수정을 하여 논문의 질을 높여주신 익명의 심사자들께 감사드립니다.

참 고 문 헌

Aldridge, F. J., R. Q. Marston and J. V. Shireman, 1990. Induced triploids and tetraploids in bighead carp, *Hypophthalmichthys nobilis*, verified by multi-embryo cytofluorometric analysis. Aquaculture, 87 : 121-131.

Bidwell, C. A., C. L. Chrisman and G. S. Libey, 1985. Polyploidy induced by heat shock in channel catfish. Aquaculture, 51 : 25-32.

Cassani, J. R., D. R. Maloney, H. P. Allaire and J. H. Kerby, 1990. Problems associated with tetraploid

induction and survival in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*. Aquaculture, 88 : 273-284.

Cherfas, N. B., G. Hulata and O. Kozinsky, 1993. Induced diploid gynogenesis and polyploidy in ornamental (koi) carp, *Cyprinus carpio* L. 2. Timing of heat shock during the first cleavage. Aquaculture, 111 : 281-290.

Chourrout, D., B. Chevassus, F. Krieg, A. Happe, G. Burger and P. Renard, 1986. Production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid males and diploid females-potential of tetraploid fish. Theor. Appl. Genet., 72 : 193-206.

Don, J. and R. R. Avtalion, 1988. Production of viable tetraploid tilapias using the cold shock technique. Bamidgeh, 40 : 17-21.

Myers, J. M., K. W. Hershberger and R. N. Iwamoto, 1986. The Induction of tetraploidy in salmonids. J. World Aquat. Soc, 17 : 1-7.

Nam, Y. K., G. C. Choi and D. S. Kim, 1999. Blocking the 1st cleavage in mud loach, *Misgurnus mizolepis*. J. of Aquaculture, 12 : 167-173.

Park, I. -S. and J. -H. Im, 2001. Determination of the temperature-dependent index of mitotic interval (τ_0) for chromosome manipulation in far eastern catfish *Silurus asotus*. Korean J. Ichthyol., 13 : 85-88.

Thorgaard, G. H., 1986. Ploidy manipulation and performance. Aquaculture, 57 : 57-64.

김동수 · 노충환 · 남윤권, 1993. 4배체 미꾸리(*Misgurnus anguillicaudatus*)의 유도. 한국양식학회지, 6 : 55-62.

정창화 · 문영봉 · 박인석 · 김동수, 1996. 자성발생성 2배체 넙치의 제 2세대 생산. 한국양식학회지, 9 : 287-291.

임재현 · 방인철 · 노충환 · 박인석, 2000. 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체 메기, *Silurus asotus* 유도. 한국양식학회지, 13 : 359-362.

(접수: 2002년 7월 8일, 수리: 2002년 8월 5일)