



# 동자개 *Pseudobagrus fulvidraco* 암컷과 동자개 *P. fulvidraco* X 대농갱이 *Leiocassis ussuriensis* 잡종 수컷간 역교배체의 초기 생존율 및 염색체 핵형

박상용, 강언중<sup>1</sup>, 남윤권<sup>2</sup>, 방인철\*

순천향대학교 해양생명공학과, <sup>1</sup>국립수산과학원 남부내수면연구소, <sup>2</sup>부경대학교 양식학과

## Early Survival and Karyotype of Backcross Bullhead Hybrid between *Pseudobagrus fulvidraco* Female and *P. fulvidraco* X *Leiocassis ussuriensis* Hybrid Male

Sang Yong Park, Eun-Jong Kang<sup>1</sup>, Yoon Kwon Nam<sup>2</sup> and In-Chul Bang\*

Department of Marine Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan 336-745, Korea

<sup>1</sup>Southern Regional Inland Fisheries Research Institute, NFRDI, Jinhae 645-806, Korea

<sup>2</sup>Department of Aquaculture, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

Backcross hybridization between Korean bullhead *Pseudobagrus fulvidraco* female and Korean bullhead *P. fulvidraco* x Ussurian bullhead *Leiocassis ussuriensis* hybrid male was performed, and early viability and karyotype of the backcross hybrids were examined along with their parental species. Mean fertilization rate (86.8%), hatching success (70.7%) and early survival rate (76.4%) of backcross hybrids were similar with those found in the maternal species, the Korean bullhead. From the chromosome analysis, modal chromosome numbers of Korean bullhead, Ussurian bullhead, their hybrid and backcross hybrid were the same as  $2n = 52$ . However, their karyotypes were different among genotypes. The karyotype of backcross hybrid was 22 metacentric + 18 submetacentric + 12 acrocentric chromosomes.

**Keywords:** Backcross hybrid, *Pseudobagrus fulvidraco*, *Leiocassis ussuriensis*, Karyotype, Early viability

### 서 론

역교배(backcross)는 교배에 의해 생산한 잡종 F1세대를 교배에 사용한 양친 중 어느 한 쪽과 교배하여 품종개량이나 유전학적으로 유연관계에 있는 유용한 특정 유전형질을 유도할 때 사용하는 교배형태이다(Brad et al., 2003). 어류를 대상으로 한 역교배체 유도는 양식 형질 개선을 위시한 다양한 목적을 위해 여러 분류군에서 수행된 바 있다. 연어과(Salmonidae) 어류에서는 성장형질의 유전특성을 평가하기 위해 무지개송어 *Oncorhynchus mykiss* F1, F2잡종 및 역교배체가 분석된 바 있으며(Tymchuk et al., 2005), brown trout *Salmo trutta*와 대서양연어 *Salmo salar*간 잡종 및 역교배체를 이용하여 중간 생식학적 격리 정도 등이 분석된 바 있다(Eva et al., 2005). 미꾸리과 어류에서는 초기 생존율 향상을 목적으로 미꾸리 *Misgurnus Anguillicaudatus* (Cobitiade; Cypriniformes)와 미꾸라지 *M.*

*mizolepis* 및 미꾸리 잡종간 역교배체가 생산된 바 있고(Park et al., 1997), 농어목(Perciformes)에서는 F1잡종과의 수정여부 및 배수성 평가를 위해 largemouth bass *Micropterus salmoides* × smallmouth bass *M. dolomieu*의 F1 잡종암컷과 largemouth bass 수컷의 역교배체를 생산한 바 있다(Boris et al., 2004). 또한 메기목(Siluriformes)에서는 channel catfish *Ictalurus punctatus*와 blue catfish *I. furcatus*의 잡종 및 역교배체의 dress-out과 fillet의 효율성, 그리고 질병저항성에 관한 연구가 수행된 바 있다(Brad et al., 2003; Brian et al., 2003).

그러나 잡종 및 역교배체 유도시 잡종강세의 형질을 기대할 수 있는 반면 빈번한 불임화, 유전학적 불안전성 및 낮은 초기 생존율 등이 보고된 바 있어(Kim et al., 1996; Brian et al., 1997) 잡종 또는 역교배체를 양식산업에 이용하기 위해서는 다양한 유전형질 및 생산 형질들이 사전에 분석, 평가되어야만 한다. 본 연구에서는 동자개 *Pseudobagrus fulvidraco*와 대농갱이 *Leiocassis ussuriensis*간 우량품종 개발을 위한 유전 육종학적 연구의 일환으로, 동자개와 대농갱이간 잡종수컷과 동자개 및

\*Corresponding author: incbang@sch.ac.kr

대농갱이 암컷과의 역교배체를 유도하여 수정률, 부화율, 초기 생존율 및 염색체 핵형 분석을 수행하였다.

**재료 및 방법**

**역교배체 유도**

본 실험에 사용된 동자개 *Pseudobagrus fulvidraco*는 서산시 부석면 간척지 저수지에서, 대농갱이 *Leiocassis ussuriensis*는 충남 부여 백마강에서 수집된 성숙된 개체를 사용하였으며, 이들간 역교배체 생산을 위한 동자개 x 대농갱이 잡종수컷(평균 체장 및 체중: 15.6 ± 0.9 cm, 38.9 ± 6.2 g)은 Park et al. (2006)에 의해 생산된 개체들을 사용하였다. 역교배체 유도는 Park et al. (2006)의 방법에 의거 동자개 및 대농갱이 암컷 각각 3마리와 잡종 수컷 3마리를 각각 1 : 1로, 대조군으로 동자개 및 대농갱이도 암수 3마리씩 각각 1 : 1로 인공수정을 통해 생산하였다. 유도된 각 실험군의 유전자형을 다음의 약자로 표기하였다.

- 동자개(*P. fulvidraco*): PF
- 대농갱이(*L. ussuriensis*): LU
- 동자개 x 대농갱이 잡종: FU
- 동자개와 FU 잡종간 역교배체: PFU
- 대농갱이와 FU 잡종간 역교배체: LFU

**수정률, 부화율, 기형률 및 초기생존율**

PF, LU, FU, PFU 및 LFU 실험군의 수정률은 수정 후 12시간에 전체 수정란 중 사란수를 제외하고 배체가 형성된 난수들, 부화율은 전체 수정란 중에서 부화된 개체수를 백분율로 측정하였다. 또한 유도된 역교배체의 기형이 출현을 파악하기 위해 실험 종료 시 실험구별로 30마리씩 무작위로 추출하여 두부, 아가미뚜껑 및 미부 척추골을 중심으로 외부 형태상 기형 개체수를 조사하였다. 초기생존율은 부화 후 난황 흡수가 완료되는 2일째부터 100일까지의 개체수를 대상으로 측정하였으며 자치어 사육은 Park et al. (2006)의 방법에 의거 45 L 용량의 반 순환여과식 사각수조를 이용하여 3반복 실험하였다. 실험군간 수정률, 부화율, 기형률 및 초기생존율의 유의차 검정은 ANOVA-test로 처리한 후 평균간 유의성( $P < 0.05$ )을 검정하였다.

**염색체 수 및 핵형 분석**

실험군의 염색체 수 판별 및 핵형 분석을 위해 신장직접법(Kim et al., 1982; 1988)을 사용하였다. 염색체 분석을 위한 표본채집, 처리방법은 Park et al. (2006)의 방법에 의거 수행하였으며, 핵형은 Levan et al. (1964)의 방법에 따라 분석하였다.

**결과 및 고찰**

**수정률, 부화율, 기형률 및 초기생존율**

PF, LU, FU, PFU 및 LFU의 수정률, 부화율, 기형률 및 초기생존율을 측정한 결과 Table 1과 같이 나타났다. 실험군별로 수정률에서는 FU가 86.9%로 가장 높게 나타났으며, PFU (86.8%), PF (84.1%), LU (80.8%), LFU (77.4%) 순으로 나타났다( $P < 0.05$ ). 부화율에서도 FU가 75.8%로 가장 높게 나타났으며, PFU (70.7%), PF (67.5%), LU (61.8%) 순으로 나타났으며, LFU는 수정 후 10시간째 사망하였다( $P < 0.05$ ). 기형률에서는 FU가 4.3%로 가장 낮았으며, PFU (5.2%), PF (7.2%), LU (7.6%)로 순으로 나타났으며, 초기생존율에서는 FU가 83.5%로 가장 높았으며, PFU (76.4%), PF (77.6%), LU (66.9%) 순으로 나타났다( $P < 0.05$ ).

중간 잡종 유도시 초기생존율은 사용된 친어의 유연관계에 의해 결정되며, 염색체수, 핵내의 유전물질 불균형 및 단백질 생산을 조절하는 유전인자의 차이에 의해 초기발생유무가 결정된다(Chevassus, 1983; Wu, 1992). 잡종 자어의 생존율에 대한 보고를 보면 brook trout *Salvelinus fontinalis*와 arctic charr *S. alpinus* 간 상반교배에 의하여 유도된 잡종은 생존율이 53~57%로 양친의 중간으로 보고된 바 있으며(Dumas et al., 1992), brown trout *Salmo trutta*와 대서양연어 *S. salar*간의 잡종은 첫 먹이를 먹기 이전까지의 생존율이 그들의 양친보다 낮다고 보고하였다(McGowan and Davidson, 1992). 또한 이들간 상반교배에 의해 생산된 1세대 잡종을 대서양연어 수컷과 역교배시 첫 먹이 섭취까지의 생존율은 대서양연어 x brown trout 잡종암컷인 경우 60~64%인 반면, brown trout x 대서양연어 잡종암컷인 경우는 0.7~2.3%로 매우 낮게 나타났다. 이는 잡종 1세대의 생존율은 잡종 유도시 사용된 양친 중 모계에 의해 결정되는 것으로 판단되며, 대서양연어와 brown trout간 유전 물질 불균형으로 brown trout 유전인자는 대서양연어 유전자 pool로 이

**Table 1.** Comparison of fertilization rate, hatching success, abnormality and survival of *Pseudobagrus fulvidraco* (PF), *Leiocassis ussuriensis* (LU), PF x LU hybrid (FU) and backcross hybrids (PFU, LFU) between PF x FU and LU x FU

Experiment groups	Fertilization rate (%)	Hatching success (%)	Abnormality (%)	Survival rate (%)*
PF	84.1 ± 3.1 <sup>ab</sup>	67.5 ± 3.4 <sup>ab</sup>	7.2 ± 0.6 <sup>b</sup>	77.6 ± 7.2 <sup>ab</sup>
LU	80.8 ± 0.9 <sup>b</sup>	61.8 ± 3.0 <sup>b</sup>	7.6 ± 1.4 <sup>b</sup>	66.9 ± 3.4 <sup>c</sup>
FU	86.9 ± 1.9 <sup>a</sup>	75.8 ± 3.2 <sup>a</sup>	4.3 ± 1.5 <sup>a</sup>	83.5 ± 0.7 <sup>a</sup>
PFU	86.8 ± 1.2 <sup>a</sup>	70.7 ± 3.8 <sup>a</sup>	5.2 ± 0.8 <sup>ab</sup>	76.4 ± 3.3 <sup>b</sup>
LFU	77.4 ± 2.2 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>c</sup>	0 <sup>d</sup>

\*From 100 days after hatching.

입(introgression)이 가능하지만 역으로는 되지 않는 것으로 제시되었다(Eva et al., 2005). 이와 같은 유전자 이입 현상은 불임성 잡종 및 역교배체 생산 시 유전인자의 상호 부조화로 인해 생존율이 큰 차이를 보이는 것으로 알려져 있으며(Kenji et al., 2004; Castillo et al., 2008), 또한 유연관계가 밀접한 어류들에서 광범위하게 나타나는 것으로 알려져 있다(Smith, 1992; Mukai, 2001; Castillo et al., 2008).

본 실험에서도 PFU의 수정률, 부화율 및 생존율은 각각 86.8%, 70.7% 및 76.4%로 양친의 PF와 LU보다 유의적으로 높게 나타나 주목되었다. 반면 LFU는 수정(수정률: 73%)은 이루어졌으나 수정 후 10시간 내에 모두 사망하여 LFU와 LU 간 유전인자 상호 부조화로 인한 정상적인 배 발생이 이루어지지 않은 것으로 판단되며, 이는 Eva et al. (2005)의 대서양연어와 brown trout를 대상으로 한 교잡 실험과 유사한 결과를 보였다. 이와 같은 현상은 산천어 *Oncorhynchus masou* 암컷과 무지개송어 *O. mykiss* 수컷간 잡종 교배의 경우 90%의 높은 수정률에도 불구하고 부화되지 않으며(Oshiro et al., 1991), 범가자미 *Verasper variegatus*와 넓치 *Paralichthys olivaceus*의 잡종유도에서도 수정률은 68.8%를 보였으나 부화가 전혀 이루어지지 않

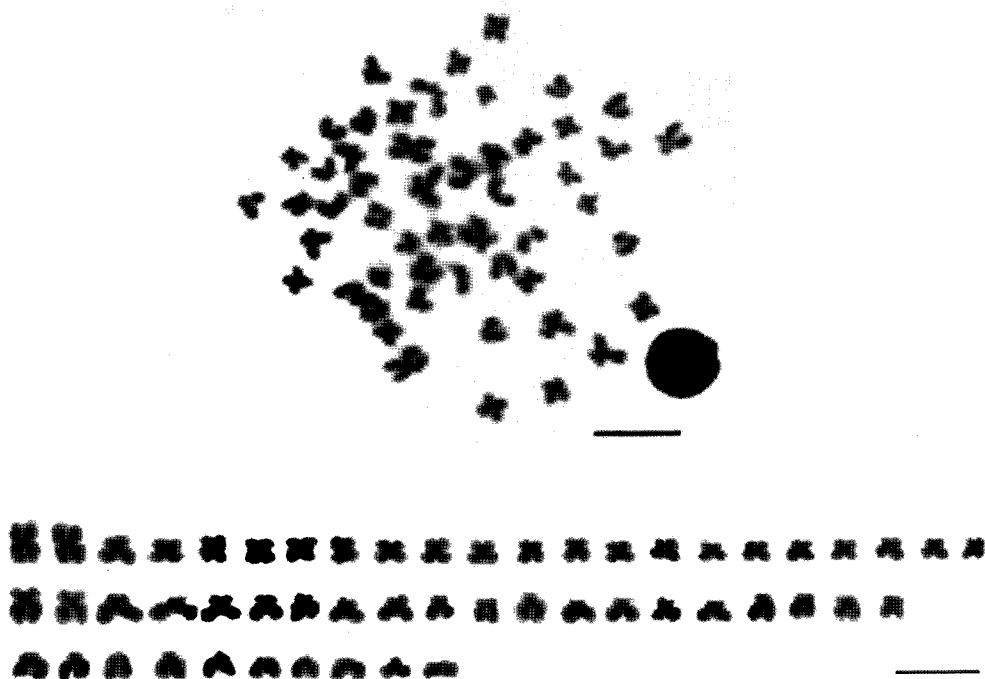
는 결과(Kim et al., 1996)와 유사하였다. 또한 이들 특정 교배군들에서 관찰되는 발생학적인 문제들은 수정 후 배 발생과정에서 나타나는 유전인자의 상호 부조화와 이로 인한 유전물질(또는 염색체)의 부분적 소실 등에 기인하는 것으로 알려져 있다(Oshiro et al., 1991). 따라서 본 연구의 LFU 유전형질을 대상으로 수정 후 배 발생 구간별로 DNA 함량, 유전자 발현, 유전물질의 소실 및 유전자 재조합 등에 관한 분석이 추후 수행된다면 유전자 이입에 따른 어류 발생의 분자생물학적 기작에 관한 유용한 정보를 제공할 수 있으리라 판단된다.

**염색체 수 및 핵형**

PFU의 염색체 수는  $2n = 52$  (계수된 세포의 85%)이었으며 (Table 2) 핵형분석 결과 11쌍의 metacentric chromosomes, 10쌍의 submetacentric chromosomes과 5쌍의 acrocentric chromosomes으로 구성되어 있었다(Fig. 1). 잡종개체의 염색체 수 및 핵형은 미꾸라지와 미꾸러 및 유도된 종간 잡종의 세포 유전학적 연구(Lee, 2006), brown trout와 Atlantic salmon간 종간잡종 생산(Eva et al., 2005), yellowtail flounder와 winter flounder 간의 잡종(Park et al., 2003)에서와 같이 양친의 반수

**Table 2.** Frequency distribution of chromosome number from backcross hybrids between *Pseudobagrus fulvidraco* female and *P. fulvidraco* × *Leiocassis ussuriensis* hybrid male

No. of specimen	Distribution of chromosome numbers											No. of the metaphases examined
	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	
10	1	1	2	2	3	2	102	3	1	2	1	120



**Fig. 1.** Metaphase and karyotype of backcross hybrid between *Pseudobagrus fulvidraco* female *P. fulvidraco* × *Leiocassis ussuriensis* hybrid male. Scale bar : 10 μm

체의 조합으로 이루어진다. 본 실험에서 PF (2n = 52)와 FU (2n = 52)간의 PFU의 염색체 수는 2n = 52로 양친과 동일하게 나타났으며, 핵형차이를 분석한 결과 22 metacentrics + 20 submetacentric + 10 acrocentric로 구성되어 사용된 친어로부터 각각의 반수체 세트를 전달받은 것으로 판단된다.

본 연구를 통해 유도된 PFU 역교배체의 경우 비교적 우수한 초기 생존 형질과 유전학적인 안정성을 나타냄으로써 향후 새로운 양식 대상종으로의 개발 가능성을 나타내었다. 따라서 본 연구를 바탕으로 역교배체의 성장, 생식, 외형, 질병저항성 등 양식 생산 형질들에 관한 평가가 이루어져야 할 것이다.

## 사 사

본 연구는 국립수산과학원 연구과제(RP-2009-AQ-002)의 지원에 의해 수행 되었습니다.

## 요 약

동자개(PF) 암컷과 대농갱이(LU) 수컷에 의해 유도된 잡종(FU)을 대상으로 동자개 및 대농갱이 암컷과 역교배체(PFU, LFU)를 유도하여 수정률, 부화율, 초기생존율, 염색체 수 및 핵형분석을 수행하였다. 유도된 PFU (PF × FU)의 수정률은 86.8%, 부화율은 70.7% 및 생존율은 76.4%로 양친으로 사용된 PF 및 LU보다 유의적으로 높게 나타났다. 그러나 FU를 사용한 LFU (LF × FU)는 모두 사망하였다. PF (2n = 52)와 FU (2n = 52)간의 PFU의 염색체 수는 2n = 52로 양친과 동일하게 나타났으며 핵형분석 결과 22 metacentrics + 20 submetacentric + 10 acrocentric으로 구성되어 있었다.

## 참고문헌

- Boris, G., D. Konrad, F.-A. M. Ann, S. William and S. C. H. James, 2004. Ploidy of backcross hybrids of largemouth bass and smallmouth bass. *North Amer. J. of Aquacult.*, 66(2), 133-136.
- Brad, J. A., L. Zhanjiang and R. A. Dunham, 2003. Dress-out and fillet yields of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, blue catfish, *Ictalurus furcatus*, and their F1, F2 and backcross hybrids. *Aquacult.*, 228, 81-90
- Brian, G. B., J.-W. David, S. T. Jeffery and R. W. William, 2003. Family and genetic group effects for resistance to proliferative gill disease in channel catfish, blue catfish and channel catfish × blue catfish backcross hybrids. *Aquacult. Res.*, 34, 569-573.
- Brian, G. B., G. S. Libey and D. R. Notter, 1997. Egg, larval, and fingerling traits of crosses among striped bass (*Morone saxatilis*), white bass (*M. chrysops*), and their F1 hybrids. *Aquacult.*, 154, 201-217.
- Castillo, A. G. F., P. Moran, H. Ninoska, J. S. Vega, P. Juliana, J. L. Martinez and E. G. Vazquez, 2008. Mechanisms for introgression in allotriploid fish. *Aquacult.*, 278, 51-54.
- Chevassus, B., 1983. Hybridization in fish. *Aquacult.*, 33, 245-262.
- Dumas, S., J. M. B. Audet and J. de la Noüe, 1992. The early development of hybrids between brook charr (*Salvelinus fontinalis*) and arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquacult.*, 108, 21-28.
- Eva, G.-V., J. Perez, F. Ayllon, J. L. Martinez, S. Glise and E. Neall, 2005. Asymmetry of post-F1 interspecific reproductive barriers among brown trout (*Salmo trutta*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquacult.*, 234, 77-84.
- Kenji, S., I.-K. Kim and E.-H. Lee, 2004. Mitochondrial gene introgression between spined loaches via hybridogenesis. *Zool. Sci.*, 21, 795-798.
- 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 variengatus*. *Fish. Sci.*, 62, 490-491.
- Kim, I. S., Y. Choi, C. L. Lee, Y. J. Lee, B. J. Kim and J. H. Kim, 2005. Illustrated book of Korean fishes. Kyo-Hak Publ. Co., Ltd., Seoul, 613 pp. (in Korean).
- Lee, S. K., 2006. Cytogenetic analysis of mud loach (*Misgurnus mizolepid*), cyprinid loach (*M. anguillicaudatus*) and their reciprocal hybrids. Master's degrees thesis. Pukyong National University, 95 pp. (in Korean).
- Levan, A., K. Fredga and A. A. Sangerg, 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hered.*, 52, 201-220.
- McGowan, C. and W. S. Davidson, 1992. Artificial hybridization of new found and brown trout and Atlantic salmon: Hatchability, survival and growth to first feeding. *Aquacult.*, 106, 117-125.
- Mukai, T., 2001. Hybridization and introgression in speciation process of fishes. *Jap. J. Ichthyol.*, 48, 1-18.
- Oshiro, T., Y. Deng, S. Higaki and F. Takashima, 1991. Growth and survival of diploid and triploid hybrid of masou salmon (*Onchohynchus masou*). *Bull. Jap. Fish. Soc. Sci.*, 57, 1851-1857.
- Park, I. S., Y. K. Nam, S. Douglas, S. Johnson and D. S. Kim, 2003. Genetic characterization, morphometrics and gonad development of induced interspecific hybrids between yellow-tail flounder, *Pleuronectes ferrugineus* (Storer) and winter flounder, *P. americanus*. *Aquacult. Res.*, 34, 389-396.
- Park, I.-S., B.-S. Kim, J. H. Im, H. M. Park, Y. K. Nam, C. H. Jeong and D. S. Kim, 1997. Improved early survival in backcrosses of male mud loach (*Misgurnus mizolepis*) × cyprinid loach (*M. anguillicaudatus*) hybrids to female cyprinid loach. *J. Aquacult.*, 10(3), 363-371. (in Korean).
- Park, S. Y., D.-J. Kim, Y.-A. Lee, C.-H. Noh, D.-S. Kim and I.-C. Bang, 2006. Cytogenetic analysis of an intergeneric hybrids between Korean bullhead (*Pseudobagrus fulvidraco*) and ussuriian bullhead (*Leiocassis ussuriensis*). *Kor. J. Ichthyol.*, 18(1), 20-26.
- Smith, G. R., 1992. Introgression and asexual reproduction in vertebrates. *Trend Ecol. Evol.*, 11, 253-254.

Tymchuk, W. E. and R. H. Devlin, 2005. Growth differences among first and second generation hybrids of domesticated and wild rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult.*, 245, 295–300.

Wu, C., 1992. Retrospects and prospects of fish genetics and

breeding research in China. *Aquacult.*, 85, 61–68.

---

원고접수 : 2009년 1월 9일

심사완료 : 2009년 1월 28일

수정본 수리 : 2009년 1월 29일