

돔류 몇종의 染色體, DNA含量과 核의 크기에 관한 研究

金東秀 · 全琳基* · 李鍾寬*

釜山水產大學校 生物工學科 · 國立水產振興院 魚類養殖科*

돔류의 유연관계를 밝히기 위한 연구의 일환으로 우선 참돔 *Pagrus major*, 돌돔 *Oplegnathus fasciatus* 및 감성돔 *Acanthopagrus schlegeli*의 3종에 대하여 genome size, 핵의 부피 및 핵형을 조사한 결과는 다음과 같다.

1. 돔류 3종의 genome size는 매우 유사하여 참돔은 1.287 ± 0.092 pg, 돌돔은 1.274 ± 0.050 pg 그리고 감성돔은 1.237 ± 0.051 pg이었다.
2. 상기 3종의 핵의 부피를 구한 결과, 참돔은 $20.78 \pm 1.27 \mu\text{m}^3$ 으로 3종 중 가장 컸으며, 돌돔은 $20.63 \pm 2.11 \mu\text{m}^3$ 그리고 감성돔은 $20.56 \pm 1.92 \mu\text{m}^3$ 으로 가장 작았으나 종간에 그리 큰 차이를 보이지는 않았다.
3. 본 연구에 사용된 3종의 어류 모두 염색체 수는 $2n=48$ 이었으나 핵형은 서로 달라 참돔은 acrocentric 염색체로만 구성되어 있었고 돌돔은 1쌍의 submetacentric 과 23쌍의 acrocentric 염색체로, 그리고 감성돔은 4쌍의 submetacentric 및 20쌍의 acrocentric chromosome으로 구성되어 있었다.

이상의 결과로 볼 때 상기 3종 간에는 진화과정중 pericentric inversion등의 염색체 변이가 일어났을 것으로 생각된다.

緒 論

어류에서부터 육상척추동물로의 quantum evolution은 일반적으로 그 진화과정에 있어 이미 존재하는 유전좌위의 점돌연변이 보다는 배수체(polyploid)를 포함하는 gene duplication 기작에 의해 genome size(haploid DNA content) 변화과정을 거쳐 진화했을 것으로 예측되고 있다(Ohno *et al.*, 1968; Ohno, 1974; Park and Chung, 1985). 이에 유전진화학적 측면에서 종(species) 고유의 염색체 및 그 핵형과 핵내 DNA 함량 그리고 세포 및 핵의 크기를 조사는 어류의 유연관계를 밝히는 데 있어 매우 중요시 되고있다(Bennet, 1971, 1972; Gold and Amemiya 1987; Szarski, 1976).

농어目 Perciformes 어류는 매우 다양한 종으로 구성되어 있고 그 분류체계 또한 복잡하다(Chung, 1977). 본 눈에 속하는 감성돔 *Acanthopagrus schlegeli*, 돌돔 *Oplegnathus fasciatus* 및 참돔 *Pagrus major*은 경제성이 높은 어종으로서 최근 양식대상종으로 각광을 받고 있다. 그러나 돔류는 그 성장이 비교적 느려 성장률이 높은 우량개체의 선택양식이 필연적이나, 유전률이 매우 낮기 때문에(Moav and Wohlfarth, 1976), 상기 어류들은 유전자조

작을 통한 우량형질의 도입이 절실히 요구되고 있는 실정이다.

본 연구는 유전진화학적 측면에서 상기 3종 간의 유연관계를 밝혀 앞으로 염색체조작을 통한 배수체 및 중간 잡종들의 가능성을 타진하기 위해 세포유전학적 및 세포화학적 분석을 실시하였다.

材料 및 方法

材 料

본 실험에서 사용된 어류종 감성돔과 돌돔은 거제연안에서 채포된 치어를, 그리고 참돔은 제주연안에서 포획된 친어로부터 생산된 치어를 실험실에서 사육하면서 연구재료로 사용하였다.

方 法

핵내 DNA 함량 : DNA 함량은 Labarca and Paigen(1980)의 방법에 의거 상기 3종을 대상으로 각 개체당 1 ml의 혈액을 채취 세포수를 계수한 후 Hoechst 33258로 염색하여 형광 spectrophotometer를 이용 흡광도를 측정하였다. 이때 연어 정자 DNA type III를 표준 DNA로 사용하였으며, 대조구로써 잉어의 말초 혈액을 채취하여 동일한 방법으로 DNA 함량을 측정하였다.

핵의 크기 : 핵의 크기 측정은 참돔, 감성돔 및 돌돔의 말초혈액을 채취하여 슬라이드에 도말한 후 95% 알콜로 고정하고 Giemsa 또는 May-Grünbaldt giemsa 용액으로 염색한 후 현미경 하에서 micrometer로 1개체당 100개 이상의 적혈구 세포를 관찰하였다.

염색체 : 참돔, 감성돔 및 돌돔의 염색체 분석은 Kim *et al.*(1982)의 방법에 의거 신장조직을 이용한 direct-method로 염색체 표본을 작성하였다. 작성된 표본은 현미경 하에서 관찰하면서 countable metaphase만을 대상으로 염색체 수를 구하였고, 핵형의 분석을 위한 idiogram의 작성은 현미경 사진을 제작하여 행하였다. 염색체의 동정은 Levan *et al.*(1964)의 기준에 의거하였다.

結 果

핵내 DNA 함량 : 상기 3종의 DNA량을 잉어 *Cyprinus carpio*와 비교한 결과는 Table 1과 같다. Table 1에서 보듯이 참돔의 핵내 genome size는 $1,287 \pm 0.092$ pg, 돌돔의 경우 $1,237 \pm 0.051$ pg, 그리고 감성돔의 경우, $1,237 \pm 0.051$ pg으로써 3종 간에 큰 차이를 보이지는 않았으나 잉어에 비해 약 70% 정도에 불과하였으며, 포유류에 비하여는 약 35% 정도였다.

Table 1. Genome size in *P. major*, *O. fasciatus* and *A. schlegeli*

Species	Genome size	Relative amount of DNA to carp	Relative amount of DNA to mammal (7.0 pg)*
<i>Pagrus major</i>	1.287±0.092	73.96	36.77
<i>Oplegnathus fasciatus</i>	1.274±0.050	73.22	36.40
<i>Acanthopagrus schlegeli</i>	1.237±0.051	71.09	35.34
<i>Cyprinus carpio</i>	1.740±0.032	100.00	49.71

* from Atkin *et al.*, 1965

핵의 크기 : 핵의 부피를 측정한 결과 3종 모두 큰 차이를 보이지는 않았으나 참돔이 $20.78 \pm 1.27 \mu\text{m}^3$ 으로 가장 컸으며, 돌돔은 $20.63 \pm 2.11 \mu\text{m}^3$ 그리고 감성돔은 $20.56 \pm 1.92 \mu\text{m}^3$ 이었다. 핵의 표면적도 역시 3종 모두 큰 차이를 보이지 않았다(Table 2).

Table 2. Nuclear size in *P. major*, *O. fasciatus* and *A. schlegeli*

Species	Surface area(μm^2)	Volume(μm^3)
<i>Pagrus major</i>	10.27±0.51	20.78±1.27
<i>Oplegnathus fasciatus</i>	10.27±0.43	20.63±2.11
<i>Acanthopagrus schlegeli</i>	10.21±0.53	20.56±1.92
<i>Cyprinus carpio</i>	15.06±0.26	32.86±1.19

염색체 : Table 3은 본 실험에 사용된 3종의 염색체 수를 나타낸 것이다. Table 3에서 보듯이 3종 모두 염색체 수는 $2n=48$ 로 나타났다. 핵형 분석결과(Fig.1), 참돔의 염색체는 모두 acrocentric chromosome으로 구성되어 있었고, 가장 큰 1쌍의 acrocentric chromosome에는 satellite가 관찰되었다. 돌돔의 경우, 1쌍의 submetacentric chromosome과 23쌍의 acrocentric chromosome으로 구성되어 있었으며, 특히 1쌍의 submetacentric chromosome의 단완에는 satellite가 존재하였다. 감성돔의 경우, 4쌍의 submetacentric chromosome과 20쌍의 acrocentric chromosome으로 구성되어 있었으며, 참돔과 마찬가지로 가장 큰 1쌍의 acrocentric chromosome에 satellite가 존재하였다. 참돔과 돌돔은 암수 간에 heteromorphic한 염색체쌍을 찾아볼 수 없어 성 염색체는 존재하지 않는 것으로 나타났으며, 감성돔의 경우에는 성전환 하는 점을 고려 성 염색체의 존재유무를 확인하지 않았다.

Table 3. Chromosome count of *P. major*, *O. fasciatus* and *A. schlegeli*

Species	No. of specimen (F+M)	Frequency of chromosome count						
		44	45	46	47	48	49	50
<i>Pagrus major</i>	10 (6+4)	6	7	11	19	406	4	2
<i>Oplegnathus fasciatus</i>	8 (4+4)	6	17	40	605	8	4	
<i>Acanthopagrus schlegeli</i>	6 (0+6)	7	10	23	456	4	3	

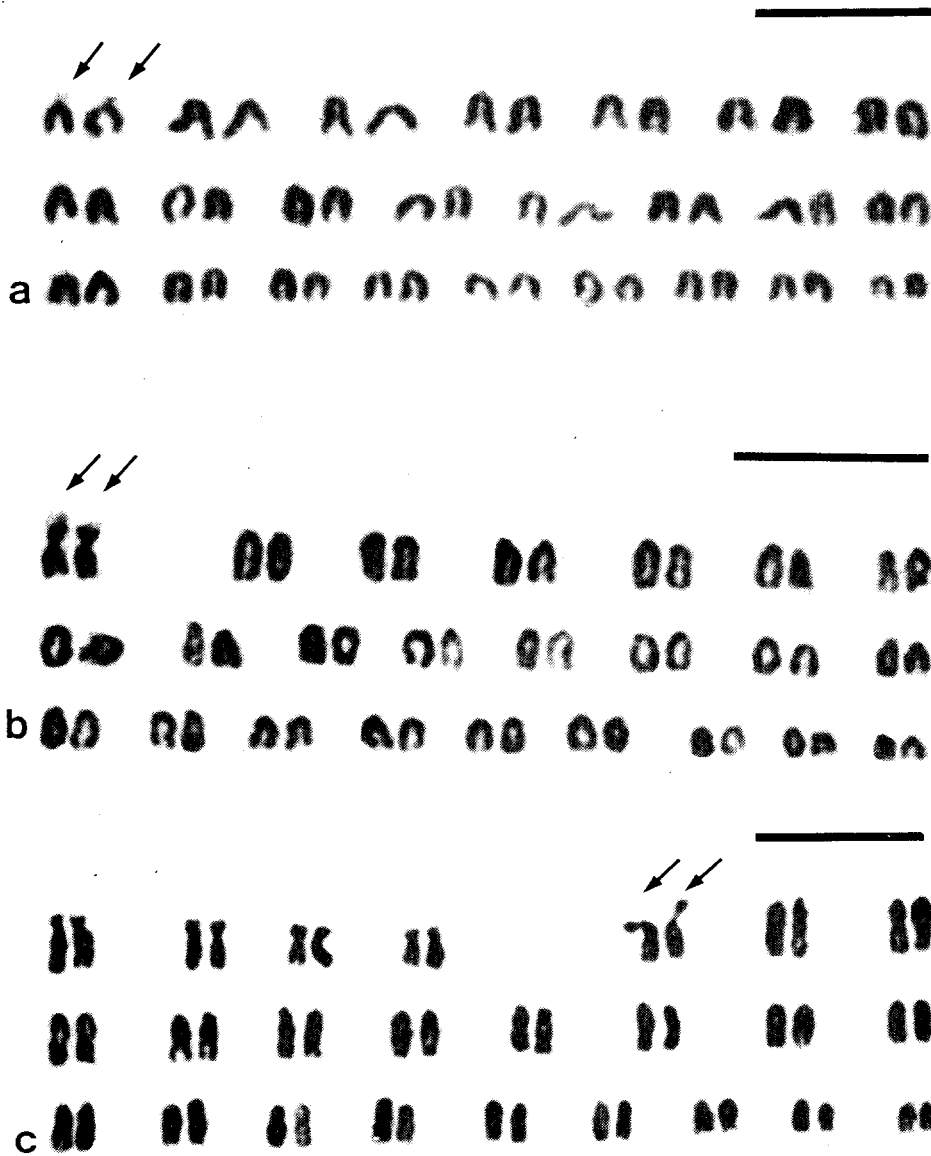


Fig. 1 Idiogram of *P. major*(a), *O. fasciatus*(b) and *A. schlegeli*(c). Bars indicate 10 μ m. Arrows indicate satellite chromosomes.

考 察

어류에 있어 genome size의 변이는 종에 따라 0.1 pg~124 pg으로 매우 다양함이 보고되어 있어 종간의 유진진화 과정을 밝히는 데 중요시 되고 있으나, 대체로 1.2 pg의 genome

size를 가진 종이 많은 수를 차지한다(Hinegardner and Rosen, 1972). 본 연구 결과도 이와 비슷한 양의 DNA 함량을 갖는 것으로 나타났으나, 참돔이 돌돔 보다 돌돔이 감성돔 보다 약간 크게 나타나, 이는 진화과정 중 유전자의 일부가 소실된 것이 아닌가 추측된다. Ohno (1974)는 진화과정 중, 조상종은 많은 DNA 함량을 가지나 좁은 생태학적 서식지에서 진화하는 과정 중 DNA 감소가 동반된다는 가설을 제기 한 바있다.

핵의 크기는 genome size 및 세포의 크기와 밀접하게 연관되어 있을 뿐더러 세포의 신진 대사와도 상관관계가 있어 동물의 진화과정과 밀접한 연관이 있다(Szarski, 1970 ; Park and Chung, 1985). 일반적으로 세포 및 핵의 특징적인 크기가 결정되는 기작은 알려져 있지 않으나 DNA 함량의 증감은 핵의 크기의 증감과 일치되는 양상을 보인다(Szarski, 1976). 이러한 결과들과 본 연구의 결과는 매우 일치하며 상기 3종 어류 간에는 진화과정 중 배수화나 gene duplication등의 기작은 일어나지 않은 것으로 생각된다. 그러나 붕어와 *Cobitis* 속 어류에 있어서는 배수체 조상으로부터 진화과정 중 특이하게 환경 적응을 위해 핵의 크기가 감소된 바 있다(Schmidke *et al.*, 1975 ; Park and Chung, 1985). 앞으로 Jeffreys and Harris (1982)가 시도한 바 있는 DNA 재조합 방법을 이용 유전자 미세구조의 분석을 통한 유전인자의 생성 및 진화과정을 밝혀야 할 것으로 기대된다.

지구상에는 약 20,000-23,000 종의 어류가 존재하며 이중 약 1400여종에 대한 염색체가 보고되어 있다(Manna, 1984). 본 연구 결과에서 보고된 종 중 참돔과 돌돔은 이미 일본산의 염색체가 보고된 바 있으며, 감성돔의 경우는 최초의 보고이다. 그런데 참돔의 경우, 일본산은 $2n=48$ 로써 염색체 수는 본 연구와 일치하나 핵형은 1쌍의 submetacentric chromosome 그리고 23쌍의 acrocentric chromosome으로 보고 되어 있어 본 연구 결과와 상이하었다(Nishikawa and Karasawa, 1972). 이는 아마도 large satellite를 가진 1쌍의 염색체를 submetacentric chromosome으로 잘못 동정한 것으로 추측되나 일본산에 대한 재분석이 실시된다면 정확한 결과를 얻을 수 있으리라 생각된다.

Ohno(1974)는 어류조상의 염색체수는 $2n=48$ 이고 모두 acrocentric chromosome으로 구성되었을 것으로 가정 한 바 있다. 따라서 참돔이 상기 3종 중 가장 primitive한 종이었을 가능성을 전혀 배제할 수 없다. 더우기 앞서 언급한 참돔의 genome size가 3종중 가장 큰 결과도 일부나마 이를 뒷받침하는 것이 아닌가 생각된다.

염색체 재배열(chromosome rearrangement)은 어류 근연종 간의 진화에 있어 매우 중요한 기작으로 인정되고 있다. 본 연구의 핵형분석 결과, 참돔과 돌돔의 경우, 단지 1쌍의 염색체만이 서로 차이가 나 두 종간에는 pericentric inversion에 의한 염색체 진화가 이루어진 것으로 생각된다. 더우기 돌돔에 있어 1쌍의 submetacentric chromosome에 satellite가 존재함은 참돔의 그것과 비교할 때 본 가정을 뒷받침 하는 것으로 생각되며 바로 그 염색체가 변이를 일으킨 것으로 추측된다. 감성돔의 경우는 satellite를 가진 염색체가 acrocentric chromosome인 것으로 보아 돌돔으로부터 진화했다기 보다는 참돔으로부터 진화되었을 것으로 생각되며, 4쌍의 submetacentric chromosome이 있어 상기 두종, 즉 참돔과 돌돔간의 염

색체 재배열 보다는 더욱 많은 염색체변이가 있었던 것으로 생각된다. 앞으로 어류의 핵형 분석에 있어 G-banding 방법의 도입이 이루어진다면 더욱 정확한 결과를 얻을 수 있으리라고 생각된다.

引用文獻

- Atkin, N. B., G. Mattison, W. Becak and S. Ohno. 1965. The comparative DNA content of 19 species of placental mammals, reptiles, and birds. *Chromosoma*, 17 : 1-10
- Bennett, M. D. 1971. The duration of meiosis. *Proc. R. Soc. London Ser. B*, 178 : 277-299.
- Bennet, M. D. 1972. Nuclear DNA content and minimum mitotic time in herbaceous plants. *Proc. R. Soc. London Ser. B*, 181 : 109-135.
- Chyung, M.K. 1977. . The Fishes of Korea. Il Ji Sa Pub. Co., Seoul, pp.210-218.
- Gold, J. R. and C. T. Amemiya, 1987. Genome size variation in North American minnows (Cyprinidae). II. Variation among 20 species. *Genome*, 29 : 481-489.
- Hinegardner, R. and D. E. Rosen. 1972. Cellular DNA content and the evolution of teleostean fishes *Amer. Nat.*, 106 : 621-644.
- Jeffreys, A. J. and S. Harris. 1982. Process of gene duplication. *Nature*, 296 : 9-10.
- Kim, D. S., E.-H. Park and J. S. Kim. 1982. Karyotypes of nine species of Korean catfishes. *Kor. J. Genet.*, 4 : 57-68.
- Labarca, C. and K. Paigen. 1980. A simple, rapid, and sensitive DNA assay procedure. *Anal. Biochem*, 102 : 344-352.
- Levan, A., K. Fredga and A. A. Sandberg. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52 : 201-220.
- Manna, G. K., 1984. Progress in fish cytogenetics. *The Nucleus*, 27 : 203-231.
- Moav, R. and G. Wohlfarth. 1976. Two-way selection for growth rate in common carp (*Cyprinus carpio*). *Genetics*, 82 : 83-101.
- Nishikawa, S. and T. Karasawa. 1972. A comparative study of the chromosome in Japanese fishes-I. A study of the somatic chromosomes of three species of scups. *J. Shimonoseki Univ. Fish.*, 20 : 101-106.
- Ohno, S. U. Wolf and N.B. Atkin. 1968. Evolution from fish to mammals by gene duplication *Hereditas*, 59 : 169-185.
- Ohno, S. 1974. *Animal Cytogenetics*. Vol. 4, Protochordata, Cyclostomata and Pisces. Gebruder Borntraeger, Berlin, : 1-92.
- Park, E.-H. and C. Y. Chung. 1985. Genome and unclear sizes of Korean cobitid fishes (Teleostomi: Cypriniformes). *Kor. J. Genet.*, 7 : 111-118.
- Schmidtke, J., M. T. Zenes, H. Dittes and W. Engel. 1975. Regulation of cell size in fish of tetraploid origin. *Nature*, 254 : 426-427.
- Szarski, H. 1976. Cell size and nuclear DNA content in vertebrates. *Inter. Rev. Cytol.* 44 : 93-112.
- Szarski, H. 1970. Changes in the amount of DNA in cell nuclei during vertebrate evolution. *Nature* 226 : 651-652.

**Karyotypes, DNA Values and Nuclear Sizes of Several Scups
(Teleostomi : Perciformes)**

Dong Soo Kim, Im-Gi Jeon* and Jong Kwan Lee*

Department of Biological Science and Technology, National Fisheries University of Pusan,
Nam-gu Pusan 608-737, Korea ;

* Fish Culture Division, National Fisheries Research and Development Agency,
Yongsan, Kyungsangnam-do 626-900, Korea

An examination of the karyotypes, DNA values and nuclear sizes of three scups was undertaken as part of the study of cytogenetical evolution of order Perciformes. The chromosome number $2n=48$ was the same in all three species but the numbers of chromosome arm were not identical. The distribution of genome size and nuclear volumes among species was continuous ranging from 1.287 pg and $20.78 \mu\text{m}^3$ for *Pagrus major* down to 1.237 pg and $20.56 \mu\text{m}^3$ for *Acanthopagrus schlegeli*. Above results indicate the possible role of pericentric inversions in the karyotypic evolution of these species.