

## 무지개송어와 은연어간 잡종3배체의 부화자어에 대한 동위효소 분석

홍경표 · 명정구 · 김병기 · 손진기\*  
한국해양연구소

### Isozyme Analysis on the Allotriploid between Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Coho Salmon (*O. kisutch*)

Kyung Pyo HONG, Jung-Goo MYOUNG, Pyong Kih KIM and Jin-Ki SON\*  
Korea Ocean Research and Development Institute, Ansan P.O. Box 29, Seoul, Korea

For the purpose of identification of inheritance in allotriploid between rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and coho salmon (*O. kisutch*), five isozymes, lactate dehydrogenase (LDH), malate dehydrogenase (MDH), isocitrate dehydrogenase (IDH), phosphoglucose isomerase (PGI) and phosphoglucomutase (PGM) from skeletal muscle in two species and their allotriploid were analyzed.

All of these loci showed differences between two species and their allotriploid except PGI. Generally, coho salmon was more monomorphic in these isozyme loci than rainbow trout. Their allotriploids showed intermediate patterns between the parental species in those isozyme loci except PGI. As a result of this study, LDH, MDH, IDH and PGM may be used as useful genetic markers in these two species, and they also be of use in studying hybrid and allotriploid in salmonids.

Key words : hybrid, allotriploid, isozyme, salmonid

### 서 론

양식산업이 활성화되면서 양식업계에는 여러가지 바이러스 질병이나 양식 어종의 생산성 저하 등 새로운 문제들이 심각하게 대두되고 있어 이에 새로운 양식 품종의 개발은 물론 기존의 양식 대상종에 대한 유전적 개량이 시급한 상황이다.

우리나라의 대표적인 냉수성 양식어종인 무지개송어 (*Oncorhynchus mykiss*) 양식의 경우 질병에 의한 초기 대량폐사는 무지개송어의 종묘생산에 막대한 피해를 초래하고 있다. 또한 근래에 도입되어 사육되는 은연어 (*Oncorhynchus kisutch*)는 현재까지 초기 질병에는 무지개송어 보다 강한 것으로 보이거나 비늘 탈

락이 심하여 취급에 어려운 점이 있다. 이러한 측면에서 연어과 어류의 종간교배 (interspecific crossing)를 통하여 잡종강세 (hybrid vigour)를 이용하기 위한 연구가 진행되어 왔다 (Tave, 1986; 한국해양연구소, 1990; 寺尾, 1966; 寺尾·林中, 1961).

특히 무지개송어와 은연어의 종간교배는 이들의 교잡종이 무지개송어에 비해 IPN (infectious pancreatic necrosis) 또는 IHN (infectious hematopoietic necrosis)에 강하고, 은연어에 비해 취급시 비늘 탈락이 적으므로 질병 감염에 강한 것으로 알려져 있다. 그러나 이러한 교잡종은 초기 생존율이 극히 낮아 이들 생존율을 높이기 위해 교잡종을 3배체화 한 잡종3배체 (allotriploid)를 생산한 바 있다 (한국해양연구소,

\*현주소 : 강원도 강릉시 지변동 강릉대학교 산업대학 해양생물공학과  
본 연구는 과학기술처, 한국해양연구소 및 한국전력으로부터 연구비를 일부 지원받아 수행되었습니다.

1995).

한편, 동위효소 연구는 transferrin 연구와 더불어 전통적으로 어류의 유전학적 연구에 활용되어 왔는데, 특히 연어류의 지역집단 및 개체군 판별에 중요한 key로 이용되어 왔을뿐만 아니라 (May et al., 1975; Okazaki, 1982; 명, 1992), 이들 잡종 (hybrid)의 유전 현상 분석 및 (May et al., 1980; Arai, 1984) 배수체 (ploidy) 어류의 판정에도 활용되고 있다 (홍등, 1994; Croizer and Moffett, 1989).

이에 본 연구에서는 우리나라의 대표적 냉수성 양식어종인 무지개송어 및 은연어로부터 유도된 잡종3배체의 유전현상을 규명하고, 향후 유전적 개량 및 유전자원의 활용을 위한 유용유전자 검색의 기초자료를 축적하고자 무지개송어, 은연어 및 잡종3배체의 부화자어에 있어서 5가지 동위효소의 생화학적 유전 현상을 비교분석하였다.

## 재료 및 방법

### 분석어류

1994년 12월 강원도 원주군 소재 치악수산 양어장에서 사육중이던 2년생 은연어 숫컷 10마리 및 2년생 무지개송어 암컷 15마리를 친어로 하여 인공수정을 실시하여 교잡 수정란을 생산하고, 수정후 10분 및 15분 후에 28°C 수온에서 상기 수정란에 각각 10분간 온충격을 가하여 잡종3배체를 유도하였다 (한국해양연구소, 1990). 정상 교배에 의해 생산된 무지개송어, 은연어 및 잡종3배체의 부화자어 (부화후 약 30일령)를 각각 30마리씩 분석하였다.

### 분석시료

무지개송어, 은연어 및 잡종3배체의 부화자어 생체를 dry ice로 급속동결한 뒤 머리와 내장을 제외한 whole body에 동량의 증류수를 넣고 균질한 다음 2,000 rpm으로 10 분간 원심분리 하여 상등액을 전기영동의 시료로 취하였다.

### 전기영동

Lactate dehydrogenase (LDH), malate dehydrogenase (MDH), isocitrate dehydrogenase (IDH), phos-

phoglucose isomerase (PGI)와 phosphoglucumutase (PGM) 등 5개의 동위효소에 대한 분석을 하였다.

전기영동은 13% 전분겔을 사용하였으며 전기영동용 buffer는 Shaw and Prasad (1970) 및 Clayton and Tretiak (1972) 등의 방법을 사용하였다. 각 효소의 염색은 전개를 마친 겔을 2 mm 두께로 수평 절단하여 해당 염색용액 (Shaw and Prasad, 1970)으로 15~60 분간 실온에서 실시하였다.

각 동위효소 좌위의 명명법은 대상 시료가 발생 초기의 부화자어이고, 두부를 제외한 whole body를 사용하였기에 연어류의 일반적인 특징과 일치하지 않으므로 Shaklee et al.(1990) 및 Arai (1984)의 명명법을 참고하여 이동거리를 중심으로 그 특징을 표기하였다.

## 결과 및 고찰

### Lactate dehydrogenase (LDH; EC.1.1.1.27)

은연어, 무지개송어 및 잡종3배체의 약 30일령의 자어에 대한 LDH pattern은 Fig. 1과 같다. 이들 좌위의 명칭은 Arai (1984)의 방법에 따라 LDH-B<sub>1</sub>, -B<sub>2</sub>, -B<sub>3</sub> 및 B<sub>4</sub>로 하였는데, LDH-B<sub>3</sub> 좌위에서 은연어는 aa형을 가지고 있는 반면 무지개송어는 ab의 두개의 band를 나타내었는데, 이들의 잡종3배체는 무지개송어와 같은 형태인 ab형으로 나타났다. 한편 bb형은 나타나지 않았으며, 그 밖의 좌위에서는 차이를 발견하지 못

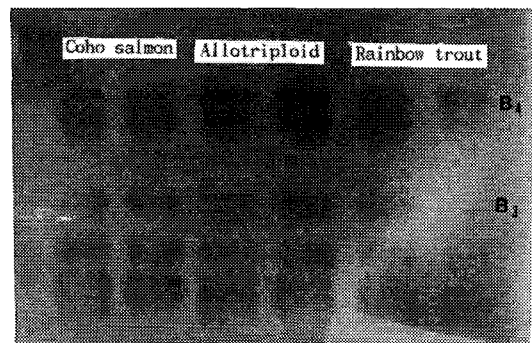


Fig. 1. LDH patterns of alevin in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their allotriploid. (B<sub>3</sub>, LDH-B<sub>3</sub>; B<sub>4</sub>, LDH-B<sub>4</sub>)

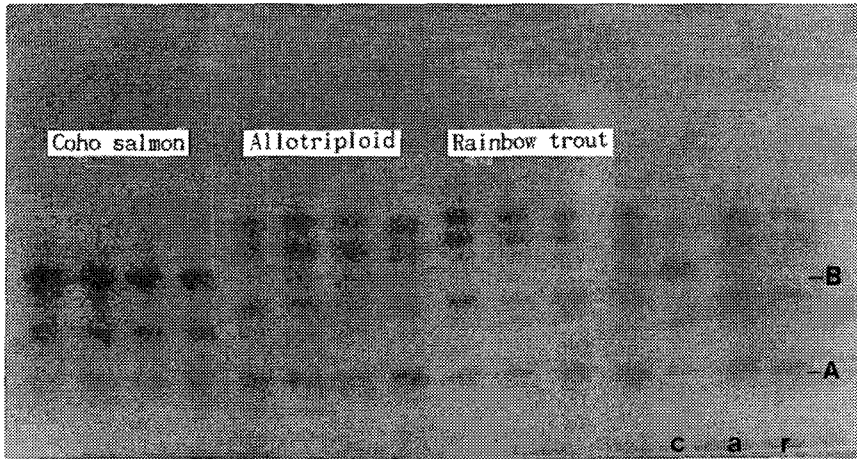


Fig. 2. MDH patterns of alevin in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their allotripliod. (c, coho salmon; a, allotripliod; r, rainbow trout; -A, MDH-A; -B, MDH-B)

하였다.

Malate dehydrogenase (MDH; EC,1.1.1.37)

MDH는 은연어와 무지개송어 및 그들 교잡종의 유전 현상을 가장 명확하게 나타내었다 (Fig. 2). 은연어에서는 MDH-B 좌위에서 모두 *bbbb*형으로 단일 band의 동형접합으로 *a* 유전자의 출현이 전혀 없었던 반면, 무지개송어에서는 *aaab* 또는 *aabb*의 형태로 *a* 유전자의 빈도가 월등히 우세하게 나타났다. 한편 이들의 교잡종인 잡종3배체에서는 *aabb*의 형태로 세 개의 band를 나타내었다. 또한 MDH-A 좌위에 있어서도 역시 잡종 3배체는 은연어와 무지개송어의 중간 형을 나타내어 친어로 사용된 두 종과는 분명하게 구분이 되었다.

Isocitrate dehydrogenase (IDH; EC,1.1.1.42)

분석에 사용된 부화자어의 IDH pattern은 일반적인 성어의 골격근의 IDH pattern과는 다르게 나타나 비교를 위하여 이동 거리에 따라 slow zone (S)과 fast zone (F)로 구분하였다. F zone에서 은연어는 *aabbcc*형을 나타내었고 무지개송어에서는 *aaaccc*형을 나타내어 *b* 유전자를 볼 수가 없었다 (Fig. 3). 그러나 잡종 3배체에서는 *aaabbb*형을 나타내어 역시 양친의 유전

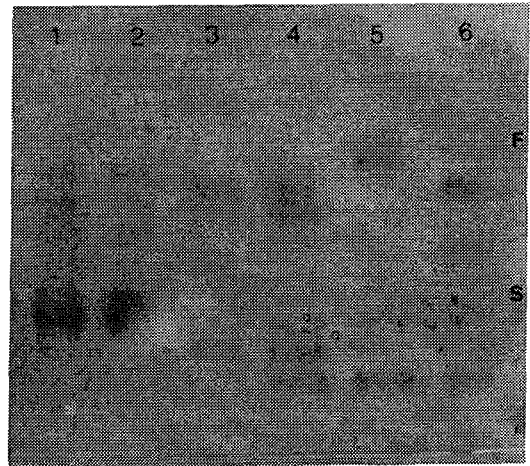


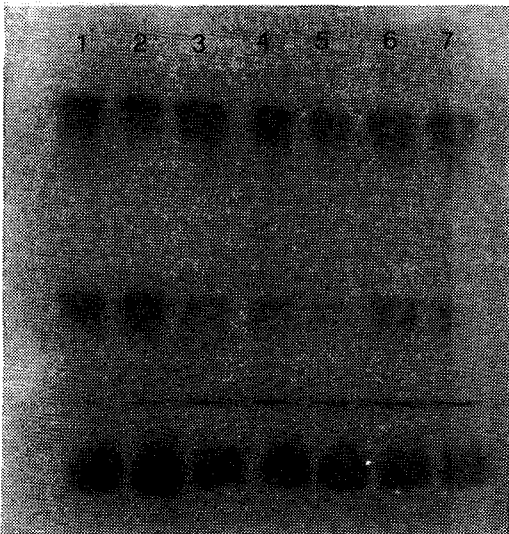
Fig. 3. IDH patterns of alevin in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their allotripliod. (1-2, coho salmon; 3-4, allotripliod; 5-6, rainbow trout; F, fast; S, slow)

자형과 구분되었으며, *c* band는 출현하지 않았다. 또한 S zone에서도 은연어는 *aaaa*, 무지개송어는 *bbbb*형으로 각각의 동형접합이었으나, 이들의 잡종3배체에서는 *aabb*형으로 나타났다. 한편, 무지개송어의 F zone의 *a*와 *c*좌위에서 각각 variants를 가진 개체도

확인되었으나, 잡종3배체에서는 나타나지 않았다.

**Phosphoglucose isomerase (PGI; EC, 5.3.1.9)**

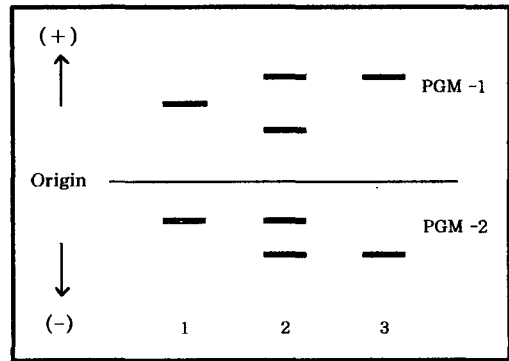
PGI는 은연어와 무지개송어 모두 양극 쪽에 두 개의 좌위와 음극 쪽에 1개의 좌위를 나타내어 종간의 차이를 보이지 않았다 (Fig. 4). 따라서 이들의 잡종3배체도 동일한 형태로 나타났다. PGI는 원래 연어류에서 PGI-1, -2, -3의 세가지 loci가 나타나며 이중 PGI-3는 *aa*, *ab* 및 *bb* 형이 있고 *c* 유전자도 관찰되나 항상 이량체적 구조를 나타내는 것으로 보고되어 있다 (Okazaki, 1982).



**Fig. 4. PGI patterns of alevin in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their allotriploid. (1,2,6, coho salmon; 3,7, rainbow trout; 4,5, allotriploid)**

**Phosphoglucumutase (PGM; EC, 2.7.5.1)**

PGM은 무지개송어에서 단량체적 구조 (monomeric structure)를 가지며 *aa*, *ab* 및 *bb* 형이 존재한다는 보고가 있는데 (Utter and Hodgins, 1972), 본 연구결과에서는 PGM-2에서 각각 은연어는 *bb*, 무지개송어는 *aa*, 그리고 잡종3배체는 *ab*로 나타났다 (Fig. 5). 이는 잡종3배체의 생산시 친어로 사용된 무지개송어와 은연어에서 각각 *a*와 *b*에 대한 동형접합의 친어가 관여한 것으로 보이며, 따라서 잡종3배체의 구분이 가능



**Fig. 5. Schematic diagram of alevin PGM patterns in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their allotriploid.**

하였던 것으로 판단된다.

이상과 같이 본 연구의 결과 LDH, MDH, IDH 및 PGM 등은 종 특이적 pattern을 나타내었는데 이들 어종간의 발생 초기에 종의 식별을 위한 유전적 marker로써 유용한 것으로 판단되며, 잡종 및 잡종3배체의 genetic marker로서도 상기 네 가지의 동위효소는 유용할 것으로 보인다.

한편, 연어과 어류에서 잡종의 낮은 생존율을 극복하기 위해서 잡종을 3배체화 시키는 방법을 적용한 바 있으며 (Scheerer and Thorgaard, 1983), Arai (1986) 역시 chum salmon (*Oncorhynchus keta*) 암컷과 brook trout (*Salvelinus fontinalis*) 수컷간의 잡종을 3배체화 시켜 생존율이 향상됨을 보고한 바 있다. Arai (1986)는 유도된 잡종3배체가 모계로부터의 두개의 반수체와 부계로부터의 하나의 반수체를 가지고 있음을 밝혀내었고, genetic marker로는 PGM과 6-PGDH를 이용하였다. PGM의 경우, 본 실험의 결과와 동일한 pattern을 보였으며, marker로 유용한 것으로 밝힌 바 있다.

이 밖에도 연어과 어류의 잡종 및 잡종3배체와 관련된 많은 연구 보고가 있으며 (Tsuyuki and Roberts, 1965; Simon and Noble, 1968; Ueda et al., 1984), 잡종3배체의 잇점은 이미 언급한 것 이외에도 일반 잡종 (hybrid) 보다 더 큰 잡종강세를 얻을 수도 있다는 점과 교잡종의 불임을 유도할 수 있다는 것이다. 따라서 일반 종간교배와 같이 경제적 가치의 제고를 위

함은 물론, 새로운 잡종 유전인자의 생태계 유입으로 인한 유전적 균형 및 생태계 파괴의 위험성을 배제할 수 있다는 장점이 있다.

한편 이들 잡종3배체의 성장을 비롯한 성성숙 및 경제적 가치 등에 대해서는 앞으로 계속 평가되어야 할 것이다. 또한 향후 이들 동위효소의 유전좌위에 대한 정량적 분석이 추가로 이루어 진다면 한층 정확한 유전분석이 이루어 질 수 있을 것으로 사료된다.

## 요 약

본 연구는 우리나라의 대표적인 연어과 어류인 은연어, 무지개송어 및 그 잡종3배체의 부화자어에 있어서의 동위효소를 분석하여 부화후 초기의 유전적 특징과 유전현상을 규명하고 이를 토대로 이들 종 및 잡종의 식별을 위한 genetic marker를 찾아보고자 5개의 동위효소에 대한 분석을 실시하였다.

이들 중 PGI에서는 중간 차이를 나타내지 않은 반면에 LDH, MDH, IDH 및 PGM 등은 은연어와 무지개송어간에 종 특이적 pattern을 나타내었는데 이는 이들 어종간의 발생 초기에 종의 식별을 위한 유전적 marker로써 유용한 것으로 판단되며, 또한 잡종 및 잡종3배체의 genetic marker로서도 상기 네 가지의 동위효소는 유용한 것으로 나타났다.

## 참 고 문 헌

- Arai, K. 1984. Developmental genetic studies on salmonids: morphogenesis, isozyme phenotypes and chromosomes in hybrid embryos. Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 31, 1~94.
- Arai, K. 1986. Effect of allotriploidization on development of hybrids between female chum salmon and male brook trout. Jap. Soc. Sci. Fish., 52, 823~829.
- Clayton, J. W. and D. N. Tretiak. 1972. Amine-citrate buffers for pH control in starch gel electrophoresis. J. Fish. Res. Bd. Can., 29, 1169~1172.
- Croizer, W. W. and I. J. J. Moffett. 1989. Application of electrophoretically detectable genetic marker to ploidy testing in brown trout (*Salmo trutta L.*) triploidised by heat shock. Aquaculture, 80, 231~239.
- May, B., F.M. Utter and F.W. Allendorf. 1975. Biochemical genetic variation in pink and chum salmon. J. Hered., 66, 227~232.
- May, B., M. Stoneking and J.E. Wright. 1980. Joint segregation of biochemical loci in salmonidae. II. Linkage associations from a hybridized *Salvelinus* genome (*S. Namaycush* × *S. fontinalis*). Genetics, 95, 707~726.
- Okazaki, T. 1982. Genetic study on population structure in chum salmon (*Oncorhynchus keta*). Bull. Far Seas Fish. Res. Lab., 19, 25~116.
- Scheerer, P. D. and G. H. Thorgaard. 1983. Increased survival in salmonid hybrids by induced triploidy. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 40, 2040~2044.
- Shaklee, J. B., F. W. Allendorf, D. C. Morozot and G. S. Whitt. 1990. Gene nomenclature for protein-coding loci in fish. Trans. Am. Fish. Soc. 119, 2~15.
- Shaw, C. R. and R. Prasad. 1970. Starch gel electrophoresis of enzymes-A compilation of recipes. Biochem. Genet., 4, 297~320.
- Simon, R. C. and R. E. Noble. 1968. Hybridization in *Oncorhynchus* (Salmonidae). I. Viability and inheritance in artificial crosses of chum and pink salmon. Trans. Am. Fish. Soc., 97, 109~118.
- Tave, D. 1986. Genetics for fish hatchery managers. The AVI Publishing Company, Inc. U.S.A., pp. 167~180.
- Tsuyuki, H. and E. Roberts. 1965. Zone electrophoretic comparison of muscle myogens and blood proteins of artificial hybrids of salmonidae with their parental species. J. Fish. Res. Bd. Canada, 22, 767~773.
- Ueda, T., Y. Ojima, R. Sato and Y. Fukuda. 1984. Triploid hybrids between female rainbow trout and male brook trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.,

- 50, 1331~1336
- Utter, F. M. and H.O. Hodgins. 1972. Biochemical genetic variation at six loci in four stocks of rainbow trout. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 101, 494~502.
- 명정구. 1992. 한국산 연어속 (*Oncorhynchus* spp.) 어류의 형태학적 연구. 국립부산수산대학교 박사학위논문, 부산. 141p.
- 한국해양연구소. 1990. 신품종 어류 개발에 관한 연구 (III). 과기처 BSPG00105-302-3. 273p.
- 한국해양연구소. 1995. 연어과 어류의 생산기술 연구 (왕연어 및 잡종3배체). 과기처 BSPN00256-814-3. 서울, 53p.
- 홍경표, 명정구, 손진기, 박철원. 1994. 한국산 연어류에서 Genetic Marker 개발을 위한 생화학적 연구. *한수지* 27, 83~88.
- 寺尾俊郎. 1966. 交雜種の育生一魚類(サケとヒメマス)の交雜種の育種に 關する現況と問題點. *水産増殖* 13卷3號 pp.146~148.
- 寺尾俊郎·林中信男. 1961. サケ屬魚類交雜試験のについて-I. *北水孵* 16號 51~62.
- 
- 1995년 9월 14일 접수  
1996년 2월 10일 수리