

은어의 자성발생 2배체와 Clone의 생리적 형질에 대한 유전적 변이성 : 수온과 염분내성

한 현섭

국립수산진흥원 서해수산연구소

Genetic Variation in Physiological Traits of Gynogenetic Diploid and Clonal Ayu, *Plecoglossus altivelis* : Tolerance to the Water Temperature and Salinity

Hyon-Sob Han

West-Sea Fisheries Research Institute, Puksung-dong Iga, Inchon 400-201, Korea

요약: 생리적 형질인 수온과 염분에 대한 내성을 양적 형질로 개발하기 위하여 은어의 정상 발생 2배체 (2N-cont), 극체형 2배체 (meiotic-G2N), 난할형 2배체 (mitotic-G2N) 및 2 종류의 clone (clone-11, clone-15)의 부화 자어를 대상으로 유전적 변이성을 조사했다. 수온은 19.0°C, 22.5°C, 25.0°C 그리고 30.0°C로 설정하였고 각 수온구에 0%, 15% 및 30%의 염분구를 조합하여 12개의 실험구를 만들어 조사했다. 평균 생존시간 (MST)에서는 모든 수온 실험구에서 15% 실험구의 생존시간이 가장 길었다. 2N-cont가 126.16시간으로 가장 길었고, 다음이 clone으로 각각 113.22시간 (clone-11)과 91.05시간 (clone-15)이었다. 자성발생 2배체는 가장 낮은 87.32시간과 36.56시간이었다. 22.5°C와 25.0°C에서 각 계통의 MST는 현저하게 짧아졌지만 19.0°C의 실험구와 유사한 결과가 나타나, 2N-cont의 MST가 가장 길었으며, clone의 MST는 자성발생 2배체보다 길었다. 이것은 자성발생으로 인해 악성의 유해 유전자가 동형접합화되면서 집단에 현재화하여 그 유전자를 갖는 개체가 조기에 폐사했기 때문이라 생각된다. 또 clone의 MST가 자성발생보다 길게 나타난 것은 어미 집단인 자성발생 1대에서 유해 유전자가 제거되었기 때문에 2대인 clone에서는 우량 유전자의 고정과 함께 내성과 생존성이 개선되었다고 생각된다. 그리고 실험온도를 22.5°C와 25.0°C로 상승시켰을 경우 15%에서 자성발생 2배체의 변이 확대와 clone의 변이 축소가 관찰되었다. 이것은 이 형질도 어느 정도의 유전성이 있는 형질이라는 것을 시사하고 있다. 따라서 이 형질을 양적 형질로 개발하여 선발육종에 적용하면 우량 계통이나 개체를 확립할 수 있는 유용 형질이 될 것이며 또한 선발에 의해 집단의 유전적 개량이 가능하다고 생각된다.

ABSTRACT: In this study, genetic variation in the 5 strains of 2N-cont, meiotic-G2N, mitotic-G2N and two types of clones with different genetic backgrounds was investigated by developing their tolerance to water temperature and salinity, which is a physiological trait, into a quantitative trait. The temperature was set at 19°C, 22.5°C, 25°C and 30°C, each of which was combined with 0%, 15% and 30% of salinity respectively, making 12 groups in all. In the mean survival time (MST), samples with 15% of salinity showed the longest survival time at all temperatures. The 2N-cont had the longest 126.16 h followed by clone-11 and clone-15 surviving for 113.22 h and 91.05 h respectively. Gynogenetic diploids showed the shortest 87.32 h and 36.56 h. At 22.5 and 25°C, MST of each strain was significantly short, showing similar results to those of the groups at 19°C. The 2N-cont had the longest MST while clones had a longer MST than gynogenetic diploids. This could be due to gynogenesis which causes homozygosis among malignant harmful genes, leading to its appearance in populations and resulting in early death in individuals with such genes. On the other hand, MST of clones was longer than that of gynogenetic fish. This could be because the 1st gynogenetic generation, which is a parental population, has already had its malignant genes removed, while the clones of the 2nd gynogenetic generation have had their superior genes fixed as well as their tolerance and survival improved. When temperature was raised to 22.5°C and 25°C, increase in variation was observed in gynogenetic diploids and decrease in clones in 15% of salinity. This shows that such a trait is genetic to a certain extent. Consequently, if this character is developed into a quantitative trait and applied to selective breeding, it could be a useful character to secure superior strains and individuals, and also it would be possible to improve populations genetically through selection.

Key words: Ayu, Gynogenetic fish, Genetic variation, Quantitative trait, Temperature, Salinity.

[†]교신저자: 인천광역시 중구 북성동 1가 98-36, 국립수산진흥원 서해수산연구소 (우) 400-201 (전) 032-763-4308 (팩) 032-763-4309 e-mail: hyon-sob@nfrda.re.kr

서 론

염색체 조작에 의해 유도되는 자성발생 2배체는 모친유래의 염색체만을 가지고 있으며 제2감수분열시 자매염색분체의 재결합으로 인해 제1대에 거의 모든 유전자좌에 있는 각각의 대립 유전자가 동형접합형으로 분리한다. 이러한 동의 유전자의 지배를 받는 양적 형질에 있어서도 유전자의 분리에 의한 유전자 상위효과와 제2감수분열시의 유전자-동원체의 재조합율 (G-C recombination), 그리고 근교계수 (F)의 상승에 의해 집단의 개체변이가 커지면서 표현형 분산 (V_p)이 확대된다 ($V_p = Vg(1-F) + Ve$).

또 완전 동형접합형 자성발생 2배체를 어미로 사용하여 염색체 조작을 반복하면 2대째의 자성발생 2배체는 유전자형이 완전히 고정되어 같은 모친으로부터 태어난 형제군은 그들의 어미와 같은 유전자형의 clone을 형성한다. Clone은 집단의 유전 분산이 0 ($Vg = 0$)이 되기 때문에 양적 형질에 있어서도 개체변이는 거의 균일해지고 표현형 분산은 환경 분산만을 반영 ($V_p = Ve$)하여 현저하게 축소한다 (Taniguchi et al., 1996).

질적 및 양적 형질에 있어서 제 1대에 유전자의 분리와 동형접합화에 의해 변이가 확대되고 또 제 2대에 유전자의 고정에 의해 변이가 축소되는 유전적 특성을 갖는 자성발생 2배체는 유전학이나 육종학에 응용하는 것이 가능하다. 자성발생 2배체를 실제의 육종학에 응용하기 위해서는 먼저 질적 형질에 기반을 둔 유전성이 높은 양적 형질을 개발해야 하고 또 선발의 지표가 되는 유용 형질의 탐색과 우량 개체를 선발하기 위한 적절한 평가 수법이 확립되어야 한다. 이를 위해서는 대상종과 계통의 질적 형질에 대한 유전적 특성의 파악과 유용 형질에 대한 유전성 및 변이의 정도를 규명하는 것이 중요하다.

자성발생 2배체의 유전적 변이성과 육종학적 유용성에 관해서는 이미 은어 (Taniguchi et al., 1990; 1994), 잉어 (Sumanadinata et al., 1990; Komen et al., 1992), 무지개송어 (Quillet, 1994; Ojolick et al., 1995), 참돔 (Sugama et al., 1990), 넙치 (Tabata et al., 1986) 등에서 형태적 형질을 중심으로 연구되었다. 그러나 대부분의 종에서 제 1난할 저지형 자성발생 2배체 (난할형 2배체 : mitotic-G2N)와 유전적 순계 (clone)를 생산하지 못해 주로 제 2극체 방출 저지형 자성발생 2배체 (극체형 2배체 : meiotic-G2N)의 변이성에 대해서만 보고되었다. 그러나 실제 육종학에서는 제 1난할 저지형 자성발생 2배체와 clone의 유용성이 더 크기 때문에 이를 계통의 양

적 형질의 변이성을 규명하는 것이 중요하다. 그리고 우량 품종의 개발을 위한 육종 형질로서는 형태적 형질뿐만 아니라 생리적 형질이나 재생산 형질 그리고 내병성 형질도 경제적으로 중요한 형질이어서 이러한 형질에 대해서도 선발의 지표가 될 수 있는 양적 형질로 개발하고 또 각 형질에 대한 변이성을 규명하는 연구가 필요하다.

본 연구는 선발을 위한 유용 형질과 우량 품종을 개발하는 것을 목적으로 생리적 형질인 수온과 염분 내성을 양적 형질로 개발하고자 했다. 그리고 이 형질에 대해 2 종류의 자성발생 2배체 - 극체형 2배체, 난할형 2배체 - 와 자성발생 제 2대인 clone의 유전적 변이성을 평가하여 선발 형질로서의 생리적 형질의 유용성 및 우량 품종의 확립을 위한 자성발생 2배체의 육종학적 유용성을 검토했다.

재료 및 방법

실험을 위하여 정상 발생 2배체 (2N-cont), 극체형 2배체, 난할형 2배체 및 2계의 clone (clone-11, 15) 등 유전적 배경이 서로 다른 5 계통의 은어를 사용하였다. 각 계통은 부화 후 30~45일령의 자어로서 이들의 평균 전장은 10.0~23.9 mm 였다.

1. 자성발생 2배체 유도

어미로서는 성숙한 은어를 사용했으며, 채정과 채란은 Taniguchi 등 (1986)의 방법을 따랐다. 한 마리에서 얻은 정액은 둘로 나누어서 하나는 무처리로 정상란과 수정시켜 정상 발생 2배체를 생산하였으며 자성발생 실험구의 대조구 (2N-cont)로 사용했다. 나머지 정액은 은어용 생리식염수에 희석시켜 Taniguchi 등 (1988)의 방법에 따라 77 erg/mm²/sec 의 자외선을 조사하여 유전자를 불활성화 시킨 후 자성발생 2배체의 유도를 위해 사용했다. 자외선을 조사한 정자와 정상적인 알을 수정시킨 후 수정란은 18°C에서 관리하였다. 극체형 2배체의 유도를 위해서는 수정 5분 후에 수정란을 32.5°C의 수온에 5분간 처리하여 제 2감수 분열을 저지하여 제 2극체의 방출을 억제했다. 난할형 2배체의 유도를 위해서는 Taniguchi 등 (1988)의 방법에 따라 수정 80분 후에 650 kg/cm²의 수압에 6분간 처리하여 수정란의 제 1난할을 저지했다. 처리가 끝난 수정란은 18°C에서 발생시켰으며 생존율은 배체형성기인 수정 3일 후에 조사했다. 정상 발생률은 발안기인 수정 6일 후에 조사하여 반수체 증후군의 출현 여부로 판정했다. 유도된 자성발생 2배체는 단백질 전기영동에

의한 isozyme 유전자에 의해 배수성을 확인했다. Isozyme 유전자로는 은어의 경우 G-C 재조합율이 거의 100%인 *Gpi-1* 유전자좌를 이용했다.

2. Clone 생산

Clone을 생산하기 위해서는 Han et al. (1992)의 방법에 따라 어미로는 isozyme 유전자에 의해 확인된 완전 동조접합형인 성숙한 난할형 2배체를 사용했다. 난할형 2배체로부터 얻은 알은 약 7000 erg/cm²의 자외선을 조사하여 유전적으로 불활성화시킨 정자와 수정시켰으며, 수정란은 Taniguchi 등 (1986)의 방법에 따라 수정 5분 후에 0.4~1.0°C의 저온에서 30분간 처리함으로써 제2감수 분열을 저지하여 2대째의 자성발생 2배체를 대량으로 생산했다. 생산된 2계통의 자성발생 2배체는 isozyme 유전자 및 조직이식에 의한 조직 적합성 유전자, 그리고 DNA fingerprint를 이용하여 유전적 동질성 및 clone성을 확인했다 (Han et al., 1991; 1992). 확인된 clone의 일부는 methyltestosterone으로 처리하여 성전환시킨 후 동계 교배하여 2대째의 clone인 clone-11과 clone-15를 생산했으며 각 계통의 자어들은 15%의 해수에서 사육하면서 실험에 사용하였다.

3. 수온과 염분내성

실험은 0% (담수), 15% 및 30%의 인공해수를 각각 19.0°C, 22.5°C, 25.0°C 및 30.0°C의 수온과 조합하여 12개의 실험구를 설정하였다. 실험은 4개의 보온성 용기에 물 5 l를 넣고 250 W의 heater를 이용하여 실험어의 사육 수온인 19.0°C가 되도록 가온했다. 각 용기마다 0% 및 15%와 30%의 인공해수 800 ml가 든 3개의 비이커를 넣었으며 각 비이커에는 30마리씩의 자어를 수용하여 하나의 계통당 360마리씩 합계 1,800마리를 사용했다. 이때 사용한 비이커는 실험어의 안정을 위해 둘레에 검은 비닐을 씌워 차광했다. 각 실험구의 실험어는 19.0°C 상태로 30분간 순치시킨 후 용기의 수온을 상승시켜 최종적인 실험 온도를 19.0°C, 22.5°C, 25.0°C 및 30.0°C가 되도록 설정하였으며 실험 온도에 도달한 시각을 실험 개시시간으로 하였다. 폐사 개체는 실험 개시 후 매 30분마다 계수하였으며 몸의 평형을 상실하여 가라앉는 시점을 폐사 시간인 내성 유지시간으로 간주했다. 폐사하는 생존어에 스트레스를 주지 않도록 조심스럽게 들어내어 전장을 측정했다. 실험은 1 계통씩 실시하였으며 같은 조건에서 5회의 반복실험을 통하여 유전적으로 서로 다른 5계통의 수온과 염분에 대한 내성을 조사했다.

결 과

수정 후 3일째와 6일째에 조사한 각 계통의 생존율과 정상 발생율은 2N-cont의 경우 78.3%의 생존율을 나타냈으며 모든 생존배가 정상이었다. 자외선 조사 효과를 평가하기 위한 UV 대조구 (UV-cont)는 생존율이 25.6%였으며 그 중 1.2%만이 정상배였다. 극체형 2배체의 생존율은 26.7%였고 그 중 78.2%의 배가 정상으로 발생하였다. 난할형 2배체는 37.9%의 생존배 중 84.4%의 배가 정상 발생배였다. Clone-11과 clone-15의 경우는 각각 83.0%, 87.0%의 생존율을 보였으며 모든 생존배가 정상이었다.

자성발생 2배체의 배수성 확인을 위한 marker 유전자인 *Gpi-1* 유전자좌에서는 정상발생 2배체의 경우 부모 유래의 대립 유전자가 멘델의 분리비와 거의 비슷한 빈도로 출현했으며 이형접합체율에 있어서도 기대치와의 유의차($p \leq 0.05$)는 인정되지 않았다. 자성발생 2배체의 경우 수컷 유래의 대립 유전자는 출현되지 않았고 암컷 유래의 대립 유전자만이 출현해서 자성발생 2배체가 성공적으로 유도된 것이 확인되었다. 그리고 hetero형의 암컷에서 유도된 극체형 2배체는 재조합율이 100%인 *Gpi-1*의 유전자좌에 있어서 모든 개체가 이형접합형으로 나타났다. 난할형 2배체의 경우 암컷이 hetero형이었을지라도 자어의 대립 유전자는 A/A형과 B/B형의 동형접합형으로 나타나서 유도된 모든 개체가 난할형 2배체인 것이 확인되었다. Clone의 경우도 조직적합성 유전자와 DNA fingerprint에 의해 모든 개체가 유전적으로 동질인 것이 확인되었다.

1. 각 계통의 평균 생존시간

수온과 염분에 대한 정상 발생 2배체, 극체형 2배체, 난할형 2배체 및 clone-11과 clone-15의 평균 생존시간 (MST)과 표준편차는 Table 1에 나타냈으며, 관찰 시간에 따른 각 계통의 폐사 개체의 비율은 Fig. 1~Fig. 3에 표시하였다.

수온이 19.0°C 일 때 0% 담수에서는 대부분의 계통에서 실험 개시 30분 후에 50~70%의 개체가 폐사하였고 2시간 후에는 거의 모든 개체가 폐사했다. 그러나 극체형 2배체에서는 2시간 후에도 20%의 개체가 생존하였으며 10%의 개체가 25시간까지 생존하여 평균 생존시간이 4.2시간으로 가장 길었다. Clone에서는 clone-15의 MST가 2.26시간으로 clone-11보다 1시간 이상 더 길었다. 15%의 경우 정상 발생 2배체는 80%의 개체가 150시간까지 생존하였고 나머지 개체들이 200시간까지 생존하여 MST는 126.26시간으로 실험 계통중 가장 길게 생존했다. 자성발생의 경우 극체형 2배체는 58%의 개

Table 1. Mean survival time (MST) and standard deviation (SD) of larvae of 2N-cont, meiotic-G2N, mitotic-G2N and two clones incubated at 4 temperature and 3 salinity combinations

Temperature (°C)	Salinity (‰)	2N-cont	Meiotic-G2N	Mitotic-G2N	Clone-11	Clone-15
19.0°C	0	1.0 ± 0.46	4.20 ± 7.44	1.48 ± 0.24	1.05 ± 0.94	2.26 ± 1.84
	15	126.16 ± 36.42	87.32 ± 96.41	36.56 ± 54.18	113.22 ± 59.58	91.05 ± 53.67
	30	13.47 ± 21.13	16.42 ± 34.67	1.36 ± 0.99	27.43 ± 34.92	6.20 ± 11.09
22.5°C	0	1.20 ± 1.88	0.21 ± 0.63	ND	0.15 ± 0.54	0.06 ± 0.30
	15	58.57 ± 41.85	35.50 ± 77.20	25.14 ± 51.26	31.46 ± 25.03	21.49 ± 18.42
	30	13.47 ± 21.13	16.42 ± 34.67	1.36 ± 0.99	27.43 ± 34.92	6.20 ± 11.09
25.0°C	0	0.05 ± 0.32	ND	ND	0.01 ± 0.11	ND
	15	46.00 ± 38.83	22.00 ± 54.40	7.34 ± 14.73	16.18 ± 23.43	13.02 ± 11.18
	30	5.21 ± 3.41	2.33 ± 4.71	0.15 ± 0.49	0.41 ± 0.92	0.48 ± 0.95
30.0°C	0	0.12 ± 0.25	ND	ND	ND	ND
	15	2.07 ± 1.18	ND	0.06 ± 0.44	ND	0.49 ± 1.05
	30	0.31 ± 0.42	ND	ND	ND	ND

*1 Clones were obtained by mating clonal fish and hormonally sex reversed clonal male.

ND : not determined

체가 30시간 이전에 폐사했으며 나머지 42%의 개체는 90시간 후부터 폐사하기 시작하여 최고 300시간까지도 생존하여, 조기 폐사군과 만기 폐사군으로 구분되었다. 난할형 2배체의 경우 78%의 개체가 15시간 이내에 대량 폐사하여 평균 생존 시간이 36.56시간으로 극체형 2배체나 clone에 비해 현저하게 짧았다. Clone-11의 경우는 50시간 이후부터 폐사하기 시작하였으며 150~200시간 사이에 56%의 개체가 폐사했다. Clone-15도 clone-11과 마찬가지로 150~200시간대에 53%의 개체가 집중적으로 폐사하였으며 MST (91.05시간)가 clone-11보다는 짧았으나 2종류의 자성발생 2배체보다는 길었다. 사육수의 염분을 30‰로 했을 경우 모든 계통의 생존율이 급격하게 낮아졌으며 정상 2배체와 극체형 2배체의 경우도 86%의 개체가 15시간 이내에 폐사하여 평균 생존시간이 각각 13.47시간과 16.42시간으로 나타나 이번에 실험한 모든 계통이 염분에 대한 내성이 약한 것으로 나타났다 (Fig. 1).

사육 온도를 22.5°C로 하여 0‰에 수용한 경우 대부분의 계통이 실험 온도로 순차되는 과정에서 활력을 잃어 2시간이내에 거의 모든 개체가 폐사하였다 (Fig. 2). 다만 정상 2배체가 19.0°C에서 0‰에 수용했을 때와 비슷한 MST (1.20시간)를 나타냈다. 15‰에서는 이번 실험에 사용한 모든 계통이 19.0°C에서 15‰에 노출되었을 때보다 MST가 현저하게 짧아졌다. 2N-cont의 경우 19.0°C에서는 90%의 개체가 150~200시간 사이에 폐사했으나 온도를 22.5°C로 상승시켰을 때는 LT50이 72시간이었으며 나머지 50%의 개체가 100~150시간

사이에 폐사하여 평균 생존시간도 19.0°C의 15‰에 비해 약 68시간 정도 단축되었다. 특히 clone의 경우 다른 계통에 비해 생존율이 더 큰 폭으로 낮아졌다. 30‰ 실험구는 MST가 19.0°C의 30‰ 실험구보다 현저하게 낮아졌으며, clone-15는 70%의 개체가 1시간 이내에 폐사했지만, 70시간까지도 생존한 개체가 있어서 19.0°C에서 30‰ 실험구의 MST (6.20시간)과 거의 유사한 결과를 보였다.

수온을 25.0°C로 했을 경우 0‰에 수용한 실험구는 거의 모든 계통이 실험 온도에 노출된 즉시 폐사하였다 (Fig. 3). 15‰에서 정상 2배체가 50% 폐사하는데 걸린 시간은 43시간이었으며 이들의 MST는 46시간으로 고온으로 갈수록 높은 폐사율을 나타냈다. 극체형 2배체는 3시간 30분만에 50%가 폐사하여 평균 생존시간이 22시간으로 2계통의 clone보다 수온에 대한 내성이 개선되었다. 따라서 담수보다는 일정 농도의 염분이 생리적으로 완충작용을 하여 생존시간이 길어진 것으로 판단된다. 수온과 염분을 동시에 상승시킨 25.0°C의 30‰구에서는 모든 계통이 22.5°C 때와 비슷한 경향을 나타냈으며 거의 모든 개체가 4시간 이내에 폐사하여 계통간의 차이라고 할 수 있는 어떠한 증거도 발견하지 못했다.

실험온도를 30°C로 올렸을 때 이들 5계통에 대한 모든 실험구에서 실험 개시전인 온도상승 도중에서 많은 개체가 폐사하여 정확한 측정과 비교가 불가능했다.

2. 수온과 염분 내성에 대한 각 계통의 변이성

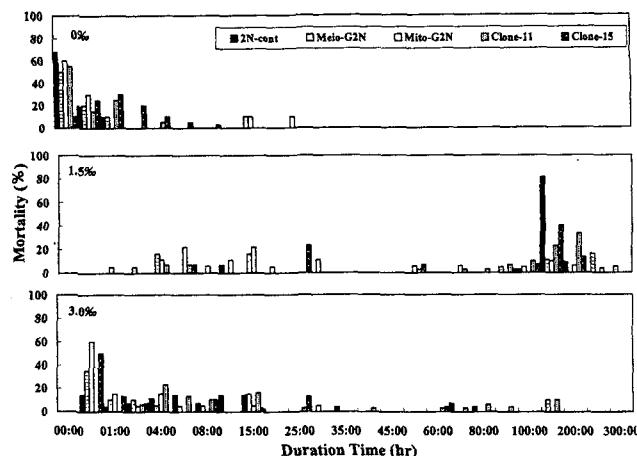


Fig. 1. Mortality of larvae of 2N-cont, meiotic-G2N, mitotic-G2N and clones subjected to various duration of salinity combinations at 19.0°C.

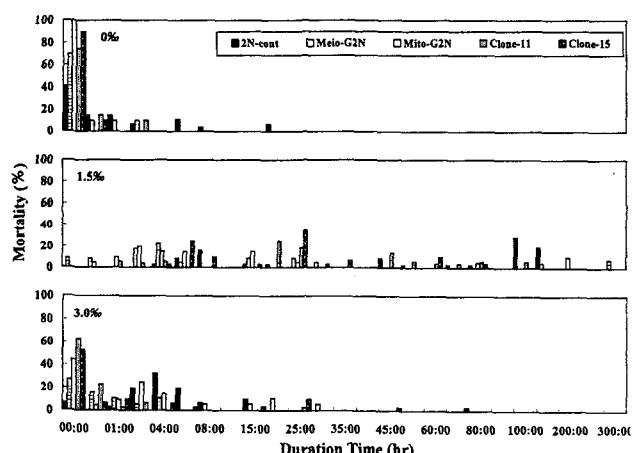


Fig. 2. Mortality of larvae of 2N-cont, meiotic-G2N, mitotic-G2N and clones subjected to various duration of salinity combinations at 22.5°C.

19.0°C에서 각 염분 실험구의 분산은 Table 1에 나타냈으며, 각 계통의 폐사 시간과 변이성은 Fig. 1과 같다. 0%에서는 뚜렷한 경향이 인정되지 않았지만 극체형 2배체의 MST가 4.20시간으로 가장 길었으며, 분산도 7.44로 다른 계통에 비해 변이성의 확대가 관찰되었다. 그러나 변이성이 가장 클 것으로 예상되는 난할형 2배체는 clone의 변이성 (0.94, 1.84) 보다도 더 낮게 나타났다. 15%의 경우 극체형 2배체는 분산이 96.41로 가장 높아 역시 변이성의 확대가 관찰되었다. 특히 1~4시간 사이에 폐사한 초기 그룹과 15~30시간 사이에 폐사한 중기 그룹 그리고 90~300시간 사이에 폐사한 만기 그룹의 세 그룹으로 나뉘어졌다. 난할형 2배체의 경우도 폐사 시간에 따라 2그룹으로 나뉘어졌다 (Fig. 1). 또한 변이성

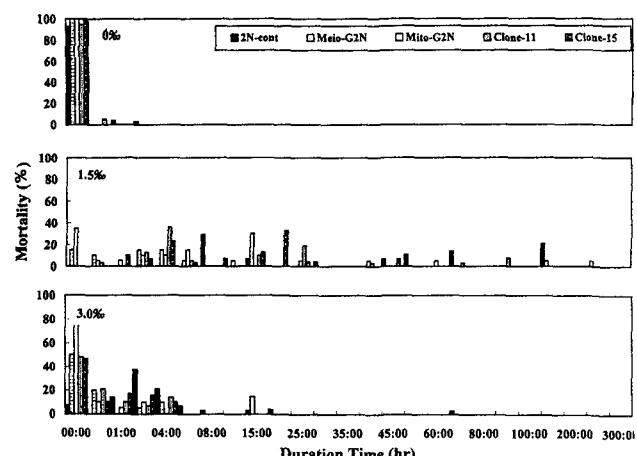


Fig. 3. Mortality of larvae of 2N-cont, meiotic-G2N, mitotic-G2N and clones subjected to various duration of salinity combinations at 25.0°C.

의 축소가 기대되는 clone의 분산이 각각 59.58, 53.67로 대조구인 정상 2배체나 난할형 2배체보다도 더 높게 나타났다. 30%의 실험구에서는 극체형 2배체와 clone-11이 30분 후부터 폐사 개체가 발생하여 150시간까지 넓은 범위에서 폐사 개체가 발생하여 변이성이 높게 나타났으나, clone-15는 70%의 개체가 실험 개시 후 0.5~2시간 사이에 집중적으로 폐사하여 변이성이 정상 2배체보다 축소되었다.

22.5°C에서 0%에 수용한 경우는 정상 2배체구를 제외한 다른 계통에서는 실험개시 직후에 거의 모든 개체가 폐사하여 개체차가 전혀 나타나지 않았다 (Fig. 2). 15%에서는 극체형 2배체가 6시간 이내에 폐사한 그룹과 15~30시간 사이에 폐사한 그룹 그리고 150~300시간 사이에 폐사한 만기 폐사 그룹으로 나뉘어졌으며 분산도 77.20으로 정상 2배체보다 현저히 확대되었다. 난할형 2배체의 변이성도 대조구보다 확대되었으나 clone은 반대로 대조구보다 축소되어 낮은 변이성을 보였다. 30%에서는 다른 계통에 비해 clone-15가 넓은 범위에서 폐사 개체가 발생하여 변이성도 14.82로 가장 높게 나타났다.

25.0°C에서 0%에 수용한 실험구의 거의 모든 개체가 실험온도에 노출된 직후 바로 폐사하여 어떠한 경향도 발견하지 못했다. 15%구에서는 22.5°C의 경우와 마찬가지로 극체형 2배체의 분산이 정상 2배체보다 확대되었고, clone의 분산은 대조구보다도 축소되었다. 30%에서는 정상 2배체를 제외한 모든 계통이 실험개시 후 4시간까지 집중적으로 폐사하여서 변이성도 낮았으나 극체형 2배체가 약간 확대된 경향을 보였다 (Fig. 3).

Table 2. Statistical analysis of variance for mean survival time of larvae of 2N-cont, meiotic-G2N, mitotic-G2N and clones incubated at 4 temperature and 3 salinity combinations

Source	2N-cont	Meiotic-G2N	Mitotic-G2N	Clone-11	Clone-15
SS(Total)	16149.9	6377.6	1603.1	11818.4	7327.4
SS(Temp.)	7904.8	3866.7	760.3	3652.9	2358.9
SS(Sal.)	3794.7	1317.1	329.5	4118.5	1953.5
MS(Total)	1468.2	797.2	145.7	1074.4	666.1
MS(Temp.)	2634.9	1933.3	253.4	1217.7	786.3
MS(Sal.)	1897.3	658.6	164.7	2059.2	976.7
df(Total)	11	8	11	11	11
df(Temp.)	3	2	3	3	3
df(Sal.)	2	2	2	2	2
F(Temp.)	3.552	6.478	2.962	1.805	1.565
F(Sal.)	2.558	2.207	1.925	3.053	1.944

3. 통계학적 분석

각 계통의 폐사에 미치는 원인으로 수온과 염분 중 어느 쪽의 영향이 더 큰가를 평가하기 위해 Two-way ANOVA test를 실시했으며, 그 결과는 Table 2에 나타냈다. 각 계통의 F값은 수온에 의해 발생한 F값과 염분에 의해 발생한 F값에 각 계통간 그리고 수온과 염분간에 명료한 유의차는 인정되지 않았고 ($P \leq 0.05$), 이 두 가지 요인이 거의 같은 수준으로 작용하여 폐사에 이르게 하는 것으로 나타났다. 각 계통의 F값에 의하면 정상 2배체, 극체형 2배체, 난활형 2배체는 수온에 의한 F값이 더 크게 나타나서 이들의 폐사 원인은 수온보다는 염분의 영향이 큰 것으로 나타났다. 한편 clone-11은 염분에 대한 F값이 더 크게 나타나서 이 계통의 폐사 원인은 염분보다는 수온에 의한 가능성이 더 크다고 생각되지만 유의차가 없기 때문에 두 요인이 같은 비중으로 영향을 미쳤다고 생각된다. 그리고 clone 생산으로 인해 열성의 유전자가 도태되고 우량의 염분 내성을 유전자가 선택되었을 가능성도 있다.

고찰

생명현상의 근본에는 항상 생체내의 화학변화가 있으며 생체에서 일어나는 모든 화학변화는 효소에 의해서 촉매되고, 그 효소 반응은 온도의 영향을 크게 받는다. 어류는 변온동물로 그 체온은 보통 환경 수온과 거의 같기 때문에 어류의 생명 현상은 환경 수온의 영향을 크게 받는다. 또 환경 수온의 염분도 어류의 생명 현상과 밀접한 관련이 있어 그 환경에 적응하기 위한 삼투압 조절을 끊임없이 계속하고 있다. 이것은 특히 은어와 같은 양측회유형 어류에서는 극히 중요

한 기능이다. 이들의 환경의 변화에 대한 적응력을 유용형질로 개발하는 것은 선발육종을 이어가는 데 극히 중요하다고 생각된다. 일반적으로 부화 직후의 해산어류 자이는 넓은 범위의 염분에서 내성을 가진다고 알려져 있다 (Holliday, 1971). 본 실험에 이용한 은어도 강의 중상류에 산란하지만 부화 자이는 강의 흐름에 따라 바다로 내려가 월동한 다음 이듬해 봄에 다시 강으로 소상한다. 즉 일생동안 급격한 염분의 변화를 겪는 어류 중 한 종이다.

본 연구의 결과에서 정상 2배체 집단이 다른 계통에 비해 수온과 염분 변화에 대한 적응력이 강했다. 다음이 극체형 2배체로서 특히 19.0°C의 0%에서는 아주 강한 적응력과 내성을 보였다. 이것은 이번 실험에 사용한 극체형 2배체가 45일령의 것으로서 다른 계통에 비해 커기 때문으로 생각되며 은어의 자이는 이 시기부터 어느 정도의 삼투조절 능력을 갖추었기 때문이라고 생각된다. 한편 난활형 2배체는 거의 모든 실험구에서 MST가 최소값을 나타내 이 집단은 환경변화에 대한 한계 허용 범위가 매우 좁은 것으로 나타났다. 그러나 실험구에 따라서는 소수이지만 대조구보다 생존시간이 길었던 개체도 관찰되었다. 특히 난활형 2배체는 모든 유전자가 동형접합형으로 되기 때문에 집단중에는 hetero형이었던 열성 유해 유전자가 현재화하여 이 형질에서 열성 유해 유전자를 가지고 있는 개체는 초기에 폐사하고 우량 유전자를 가지고 있는 개체의 생존시간이 길어진 경향을 보여 집단의 개체 변이 확대의 원인이 되었다고 생각한다. 따라서 이들 형질은 유전성이 있는 형질로 생각되며 생존에 대해서 선발을 실시하면 집단의 온도 내성에 관한 우량 유전자의 비도를 개선하는 것이 가능하며 또한 다음 세대에는 어느 정도의 선발효

과가 나타날 것으로 생각된다. 자성발생 2배체를 이용하여 육종을 할 경우 이 형질을 선발에 이용하는 것에 의해서 치사 유전자나 유해 유전자의 제거와 우량 유전자의 선발과 고정이 효과적으로 이루어질 수 있다고 생각된다. 또 이 형질에 있어서도 2계통의 clone간에는 온도와 염분에 대한 내성에 있어 그들의 MST와 변이성이 모두 명료하게 차이가 났다. 이 형질에 있어서 clone의 표현형 값은 어미의 표현형 값이 유전된 것으로서 그들 어미의 유전적 차이를 반영하고 있다고 생각되어 어미의 선발에 의해서 온도와 염분에 대해 내성을 갖는 계통의 확립도 가능하다고 생각된다. 또 clone의 변이성이 높게 나타나 급격한 환경변화에 의한 요인도 강하게 영향을 미치고 있다고 생각되어 폭넓은 실험 조건의 검토도 필요하다고 생각되었다.

어류는 변온동물로서 수온에 민감하며, 성장, 대사, 번식 및 면역 등 생명활동에 큰 영향을 받는다. 또한 환경수증의 염분변화는 어체내의 삼투압 변화를 유발하고 이때 어류는 염분 변화에 대처하기 위하여 항상성 유지 측면의 삼투압 조절을 시도한다. 이러한 환경수의 염분변화에 따라 어류는 일정한 체내 삼투압 유지를 위하여 수분과 세포내 염류 및 영양물질의 농도를 조절하려고 노력한다 (Morgan, 1991).

어류가 부적절한 환경에 놓이게 되어 스트레스를 받게 되면 전해질의 혼란 (Avella, et al., 1990; Crawshaw, 1977; Ishioka, 1980), 스트레스를 경감시키기 위한 에너지 소모의 증가 (Barton and Iwama, 1991; Pickering et al., 1989)가 초래되어 궁극적으로 성장을 둔화시키게 된다. 특히, 급격한 환경변화에 의한 심한 스트레스는 폐사를 유발하기도 한다. 본 실험의 경우에서도 30.0°C 실험구에서는 실험 시작전 온도를 상승하는 도중 28°C 전후에서 모든 자어가 폐사하였다. 이것은 급격한 수온 변화가 어체의 생존을 좌우하는 스트레스로 좌우했음을 암시하며 은어 자어의 임계상한 온도가 28°C 이하임을 나타내고 있다.

염분에 따른 실험의 경우 실험에 사용한 은어 자어는 이미 바다로 내려갈 준비를 마친 시기로 15%과 30%의 염분은 생존에 불리한 환경조건은 아니지만 0%의 경우는 은어 자어의 생존에 치명적인 요인으로 작용할 수 있다. 경골어류의 삼투압 조절은 아가미, 소화관 및 신장에서 주로 이루어지고 있다 (Laurent and Kunel, 1980; Maina, 1990). 본 실험에서 은어 자어는 환경으로 수분을 빼았기고 반대로 이온들은 어체로 유입되는 환경에 적응하여 각 기관들이 발달한 상태였다. 따라서 0%에 노출된 자어는 외부 삼투환경에 대한 조절능력을 잃고 결국 어체내 항상성이 파괴되어 폐사에 이르게 되었다.

어류에서 외부 스트레스에 대한 1차적 반응은 카테콜아민

과 corticosteroid의 과다분비가 일어나고 (Pickering, 1981), 이러한 1차반응의 결과 2차적으로 대사(Barton and Schreck, 1987), 삼투압조절 (Avella, et al., 1990) 및 면역반응 (Maule et al., 1987) 등에 작용한다. 그러나 본 연구에서는 실험어가 작은 자어였기 때문에 스트레스 지표로 흔히 이용되는 혈중 코티졸의 농도나 기타 혈장의 이온 및 생화학적인 변화를 조사할 수 없었다. 따라서 어류의 선발 육종에 수온 내성이나 염분 내성과 같은 생리적 형질을 이용하기 위해서는 생리적 형질을 수량화, 정량화시킬 수 있는 지표의 개발이 시급하다.

생리적 형질은 개체의 형질 발현에 매우 중요한 것으로서 그것을 육종학에 응용하는 것은 하나의 지표로서 큰 의의가 있다. 그렇지만 형질에 따라서는 간단하게 이용할 수 없는 형질과 현 단계에서는 응용이 곤란한 형질이 있는데 계속 검토하여 일상적으로 응용할 수 있게 되면 생리적 형질은 품종 개량을 위한 중요한 요소가 될 것으로 시사된다. 우량개체의 선발이 비교적 용이한 형태, 형질 등과 상관성을 검토한 후 선발육종을 실시하면 유전적으로 아주 우수한 계통을 확립 할 수 있다고 생각한다.

인용문헌

- Avella M, Young G, Prunter P, Schreck CB (1990) Plasma prolactin and cortisol concentrations during salinity challenges of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) at smolt and post-smolt stage. Aquaculture 91: 359-372.
- Barton BA, Iwama GK (1991) Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroids. Annual Rev Fish Dis: 3-26.
- Barton BA, Schreck CB (1987) Influence of acclimation temperature on interrenal and carbohydrate stress responses in juvenile chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquaculture 62: 299-310.
- Crawshaw LI (1977) Physiological and behavioral reactions of fishes to temperature change. J Fish Res Bd Can 34: 730-734.
- Holliday FGT (1971) Salinity. In : Marine Ecology. A Comprehensive, integrated treatise on life in oceans and coastal water. New York Academic Press I : 293-310.
- Ishioka H (1980) Stress reactions in the marine fish. I. Stress reactions induced by temperature change. Bull Jpn Soc Sci Fish 46: 523-532.
- Laurent P, Kunel S (1980) Morphology of gill epithelia in fish.

- Am J Physiol 238: 147-159.
- Maina JN (1990) A study of the morphology of the gills of an extreme alkalinity and hyperosmotic adapted teleost *Oreochromis alcalicus grahami* (Boulenger) with particular emphasis on the ultrastructure of the chloride cells and their modifications with water dilution. A SEM and TEM study. Ana Embryol 181: 83-98.
- Maule AG, Schreck CB, Kaattari SL (1987) Change in the immune system of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) during the parr-to-smolt transformation and after implantation of cortisol. Can J Fish Aquat Sci 44: 161-166.
- Morgan JD, Iwama GK (1991) Effects of salinity on growth, metabolism, and ion regulation in juvenile rainbow trout and steel head trout (*Oncorhynchus mykiss*) and fall chinook salmon (*Oncorhynchus kisutch*). Can J Fish Aquat Sci 48 : 2083-2094.
- Ojolick EJ, Cusack R, Benfey TJ, Kerr SR (1995) Survival and growth of all-female diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at chronic high temperature. Aquaculture 131: 177-187.
- Pickering AD (1981) Introduction: the concept of biological stress. 1-9.
- Pickering AD (1992) Rainbow trout husbandry: management of the stress response. Aquaculture 100: 125-139.
- Pickering AD, Pottinger TG, Carragher JF (1989) Differences in the sensitivity of brown trout, *Salmo trutta*, and rainbow trout, *Salmo gairdneri* richardson, to physiological doses of cortisol. J Fish Biol 34: 757-768.
- Quillet E (1994) Survival, growth and reproductive traits mitotic gynogenetic rainbow trout. Aquaculture 123: 223-236.
- Sumantadinata K, Taniguchi N, Sugiarto (1990) Increase in variation of quantitative characters in meiotic and mitotic-gynogenetic diploids of Indonesian common carp. Nippon Suisan Gakkaishi 56: 1901-1910.
- Tabata K, Gorie S, Taniguchi N (1986) Verification by isozyme gene marker for gynogenetic diploidization and triploidization in hirame, *Paralichthys olivaceus*. Fish genetics and breeding science 11: 35-41.
- Taniguchi N, Han HS, Tsujimura A (1994) Variation in some quantitative traits of clones produced by chromosome manipulation in ayu, *Plecoglossus altivelis*. Aquaculture 120 : 53-60.
- Taniguchi N, Hatanaka A, Seki S (1990) Genetic variation in quantitative characters of meiotic- and mitotic- gynogenetic diploid ayu, *Plecoglossus altivelis*. Aquaculture 85: 223-233.
- Taniguchi N, Kijima A, Fukai J (1986) High heterozygosity at *Gpi-1* in gynogenetic diploids and triploids of ayu *Plecoglossus altivelis*. Nippon Suisan Gakkaishi 53: 717-720.
- Taniguchi N, Sekis S, Fukai J, Kijima A (1988) Induction of two types gynogenetic diploids by hydrostatic pressure shock and verification by genetic marker in ayu. Nippon Suisan Gakkaishi 54(9): 1483-1491.