

붉바리 (*Epinephelus akaara*)와 Brown-Marbled Grouper (*E. fuscoguttatus*) 중간 잡종 수정란의 부화율

노충환* · 김근식 · 명정구 · 조재권¹ · 윤락진² · 임한규³ · 방인철⁴

한국해양과학기술원 동해연구소, ¹국립수산과학원 남서해수산연구소, ²청솔수산, ³목포대학교 해양수산자원학과, ⁴순천향대학교 생명시스템학과

The Hatchability of Fertilized Eggs of Interspecific Hybrid between Red Spotted Grouper (*Epinephelus akaara*) and Brown-Marbled Grouper (*E. fuscoguttatus*) by Choong Hwan Noh*, Keun-Sik Kim, Jung Goo Myoung, Jae Kwon Cho¹, Nak Jin Yun², Han Gyu Lim³ and In-Chul Bang⁴ (East Sea Research Institute, Korea Institute of Ocean Science & Technology, Uljin 767-813, Korea; ¹South Sea Fisheries Research Institute, National Fisheries Research & Development Institute, Yeosu 556-823, Korea; ²Cheong Sol Fisheries Co., Muan 534-841, Korea; ³Department of Marine & Fisheries Resources, Mokpo National University, Mokpo 534-729, Korea; ⁴Department of Life Science & Biotechnology, Soonchunhyang University, Asan 336-475, Korea)

ABSTRACT The hatchability of the artificially induced hybrid between two groupers (family Serranidae), red spotted grouper (*Epinephelus akaara*) and brown-marbled grouper (*E. fuscoguttatus*) that lives in different habit environment was investigated. There was no difference in the required time of each developmental stages after fertilization between hybrid (red spotted grouper ♀ × brown-marbled grouper ♂) and purebred (red spotted grouper ♀ × ♂) and required 25.6 hours to hatch at incubated in 25°C, but a noticeable unequal cleavage in cell size was observed in hybrid eggs unlikely to purebred. The hatching rate of fertilized eggs of hybrid was generally low across the four incubate temperatures (22, 25, 28, 31°C) with highest 9.8% in 25°C. This study demonstrated the possibility of artificial hybridization between two groupers, red spotted grouper and brown-marbled grouper, thus preparing the groundwork on developmental characteristics, deformities of hatched larvae and early survival ability for further studies on aquaculture.

Key words : *Epinephelus akaara*, *Epinephelus fuscoguttatus*, interspecific hybrid, embryonic development, hatchability

서 론

생물 종은 다른 종과 변식적 격리를 통해 구분되어지고 종 특이성을 유지하게 되지만, 진화학적으로 중간 잡종 (interspecific hybrid)을 통하여 새로운 종의 분화가 가능하게 된다 (Barton and Hewitt, 1989; Avise, 2001). 시클리드과 (family Cichlidae)와 바리과 (family Serranidae) 어류에서 중간 잡종을 통한 종 분화가 오랜 기간에 걸쳐 진행된 분자

생물학적 증거가 발견되고 있다 (Crapon De Caprona and Fritsch, 1983; Domeier, 1994; Palumbi, 1994; Kocher, 2004). 어류에 있어서 중간 잡종은 진화학적 연구뿐만 아니라 산업적 측면에서도 매우 중요한 역할을 하며, 잡종 강세 (hybrid vigor)를 통해 상업적으로 유용한 형질을 발현시킬 수 있다 (Bartley *et al.*, 2001).

바리과 중 능성어아과 (sub-family Epinephelinae)는 15속 159종으로 산업적 가치가 높은 중요한 분류군으로서 (Heemstra and Randall, 1993; Froese and Pauly, 2014), 인위적인 중간 잡종이 비교적 수월하게 이루어지는 것으로 알려져 있다 (James *et al.*, 1999; Herwerden *et al.*, 2002; Koh, 2008,

*Corresponding author: Choong Hwan Noh Tel: 82-54-780-5321, Fax.: 82-54-780-5349, E-mail: chnoh@kiost.ac

2010). 현재까지 바리와 어류의 중간 잡종은 자손 집단의 생존율, 성장률, 내병성 그리고 체색 향상 목적으로 brown-marbled grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) ♀ × 대왕바리 (*E. lanceolatus*) ♂, brown-marbled grouper ♀ × 꼬리큰점바리 (*E. polyphekadion*) ♂, 갈색둥근바리 (*E. coioides*) ♀ × 대왕바리 ♂, 갈색둥근바리 ♀ × brown-marbled grouper ♂ 등 다양하게 유도된 바 있다 (Tseng and Poon, 1983; James *et al.*, 1999; Glamuzina *et al.*, 1999, 2001; Bartley *et al.*, 2001; Koh *et al.*, 2008, 2010; Kiriya *et al.*, 2011). 그러나 앞서의 연구는 동일 환경에 서식하는 바리와 어류의 중간 잡종에 관한 것으로 서식 환경이 다른 중간 잡종에 관한 연구는 아직까지 없다.

붉바리 (*E. akaara*)는 우리나라를 포함한 서태평양 해역의 암반에 주로 서식하는 온대성 어종으로서 서식 수온이 11.7~26.3°C이며, 성어의 전장은 최대 58 cm (체중 2.5 kg) 인 것으로 보고된 바 있다 (Froese and Pauly, 2014). 이와 달리 Brown-marbled grouper는 인도 태평양 해역의 암반이나 산호초에 서식하는 열대 및 아열대성 어종으로서 서식 수온이 21.4~33.1°C이며, 성어는 전장 110 cm (체중 11 kg)까지 성장하는 대형종에 속하는 것으로 알려져 있다 (Chan *et al.*, 1974; Heemstra and Randall, 1993; Froese and Pauly, 2014).

본 연구는 온대에 주로 서식하는 붉바리와 열대 및 아열대 지역에 서식하는 brown-marbled grouper의 중간 잡종 가능성을 탐색하기 위하여 두 종간 교배를 통해 생산한 수정란의 부화율을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 친어와 배우자 생산

붉바리 친어는 전라남도와 제주도 인근에서 수집한 후 여수시 거문도에 위치한 해상가두리에서 3년간 양성한 성숙 개체를 선별하여 전남 무안군 소재 청솔수산으로 옮겨 성숙 및 산란유도 호르몬을 주사하였다. 암컷 친어는 LHRH-a (Sigma-Aldrich, USA) 400 µg/kg과 축산용 HCG (Daihan Pharmaceutical Co., LTD., Korea) 1,000 IU/kg를 혼합하여 주사하였고, 수컷 친어는 축산용 HCG만을 500 IU/kg 주사하였다. 호르몬 주사 후 36시간에 암컷 (3마리, 평균 전장 33.5 ± 1.8 cm, 평균 체중 598.0 ± 124.1 g)과 수컷 (2마리, 평균 전장 37.7 ± 1.9 cm, 평균 체중 872.0 ± 144.3 g) 친어의 복부를 압박하여 채란과 채정을 실시하였다.

Brown-marbled grouper 수컷 친어는 말레이시아 사바주 산다칸 (Sandakan, Sabah) 인근의 해상가두리에서 관리한 개체 중 7마리 (평균 전장 71.6 ± 3.9 cm, 평균 체중 7.7 ± 1.1

kg)를 선별하여 친어로 사용하였으며, 호르몬 주사 없이 유치도뇨관 (Sewoon medical Co., LTD., Korea)을 생식공에 삽입하여 채정하였다.

2. 정자동결보존

Brown-marbled grouper 정액은 풀링 (pooling)하여 정자동결보존을 실시하였다. 희석제로는 인공정장 (artificial seminal plasma, ASP1)을 이용하였고, 동해방지제로는 DMSO와 glycerol을 사용하였다. 정액과 희석액의 평형시간은 1분으로 하였고, 정자동결보존은 0.5 mL 용량의 정자 보존용 straw를 이용하여 액체질소탱크에 보관하였다.

3. 수정 및 발생

두 종간 잡종 교배 수정란은 붉바리로부터 채란한 알에 1개월간 동결보존 중인 brown-marbled grouper 정액을 사용하여 건식법으로 인공 수정하여 생산하였고, 대조구로서 붉바리 수정란은 채란, 채정 후 즉시 같은 방법으로 수정하여 생산하였다. 수정란은 멸균 여과된 해수로 2~3회 세란 후 포장하여 실험실로 운반하였다. 수온별 부화율 조사는 22, 25, 28 그리고 31°C가 유지되는 인큐베이터에 설치한 5 L 용량의 유리 비이커 각각에 부상란을 약 3,000~5,000개 수용하여 수행하였다. 발생 기간 중 수질 악화를 방지하기 위해 마이크로필터로 여과한 후 자외선 살균한 해수 (염분은 33~34 psu)를 이용하여 1일 1회 환수하였으며, 각 비이커에 에어스톤을 설치하여 산소를 공급하였다. 난 발생은 각 발생단계에서 매번 30개 내외의 수정란을 만능투영기 (NIKON JP V-12B, Japan)와 입체해부현미경 (Leica MZ10 F, Taiwan)으로 관찰하였으며, 디지털카메라 (Leica DFC450 C, Taiwan)로 촬영하여 기록하였다. 그리고 각 발생단계에 전체 알의 약 50%가 도달한 시점을 기준으로 발생단계별 소요시간을 구하였다.

결과 및 고찰

본 연구에 이용한 붉바리의 성숙란은 구형의 투명한 분리 부상란이었고, 유구수는 대부분 1개였다. 난의 크기는 754~822 µm (평균 798.9 ± 16.9 µm, n=20)였으며, 유구의 크기는 165.7~188.6 µm (평균 173.7 ± 5.8 µm, n=20)였다. 붉바리 ♀ × brown-marbled grouper ♂ 잡종의 수정란은 부상란 기준으로 76.7%로서 붉바리 순종 (90.9%)에 비해 낮았으며, 발생 과정 중 상실기 이전 단계에서 붉바리 순종과는 다르게 난할이 균등하게 이루어지지 않는 기형 현상이 발생하였다 (Fig. 1B). 이러한 현상은 brown-marbled grouper ♀ × 대왕바리 ♂ 잡종과 goldblotch grouper (*E. costae*) ♀ × dusky

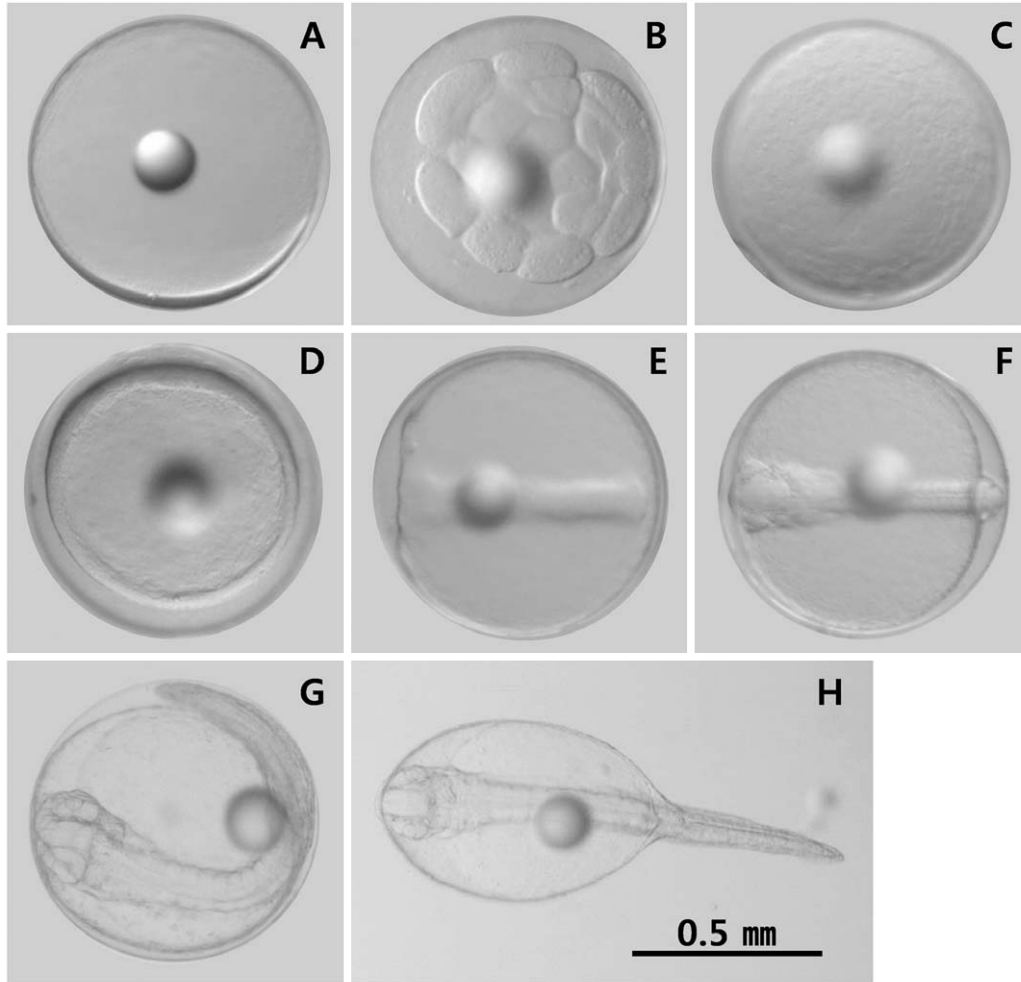


Fig. 1. Egg development of hybrid (red spotted grouper ♀ × brown-marbled grouper ♂). A, fertilized egg; B, 16-cell stage; C, morula; D, gastrula; E, embryo formation; F, optic vesicle appearance; G, tail beating; H, hatched larva.

grouper (*E. marginatus*) ♂ 잡종에서도 나타났으며, 비균등 난할의 원인과 부화율에 미치는 영향에 관해서는 알려진 바가 없다(Glamuzina *et al.*, 2001; Ch'ng and Senoo, 2008).

두 종의 자연산란기간 동안 부화 수온은 붉바리가 21°C ~ 26°C (6월~8월) 그리고 brown-marbled grouper는 28~31°C인 것으로 알려져 있다(Sugama *et al.*, 2012). 이에 따라 수온을 달리하여 두 종간 잡종 수정란의 난발생 과정을 조사한 결과는 Table 1에 정리하였다. 낭배기(gastrula)까지 소요 시간은 22°C 실험구와 31°C 실험구간 3.8시간으로 큰 차이가 나타났다. 배 형성 단계(embryonic formation) 이후에서도 수온에 따른 발생 시간의 차이는 계속 나타나 부화까지 소요시간은 25°C 실험구에서 25.6시간, 28°C 실험구에서 21.9시간 그리고 31°C 실험구에서 18.1시간으로서 수온에 비례하여 짧아졌다. 잡종의 부화 소요 시간은 goldblotch grouper ♀ × dusky grouper ♂ 잡종의 경우 순종에 비해 빨랐지만, 갈색동근바리 ♀ × 대왕바리 ♂ 잡종은 순종과 차이

Table 1. Required times of hybrid (red spotted grouper ♀ × brown-marbled grouper ♂) to reach each of the embryonic developmental stages after fertilization in four different water temperature

Embryonic developmental stage	Water temperature			
	22°C	25°C	28°C	31°C
2~4 cells	0.78 h	0.73 h	0.60 h	0.58 h
16 cells	2.06 h	1.80 h	1.25 h	1.21 h
Morula	2.50 h	2.27 h	1.87 h	1.80 h
Gastrula	9.87 h	6.57 h	6.50 h	6.07 h
Embryonic formation	14.60 h	10.60 h	8.92 h	8.25 h
Optic vesicle appearance	Dead	17.10 h	13.10 h	12.10 h
50% hatching	Dead	25.60 h	21.92 h	18.10 h

가 없는 것으로 보고된 바 있다(Glamuzina *et al.*, 1999; Kiriya *et al.*, 2011). 본 연구에서 붉바리 ♀ × brown-marbled grouper ♂ 잡종의 부화 소요 시간은 수정란이 모두 죽은 22°C를 제외하고 붉바리 순종과 차이가 나타나지 않았다.

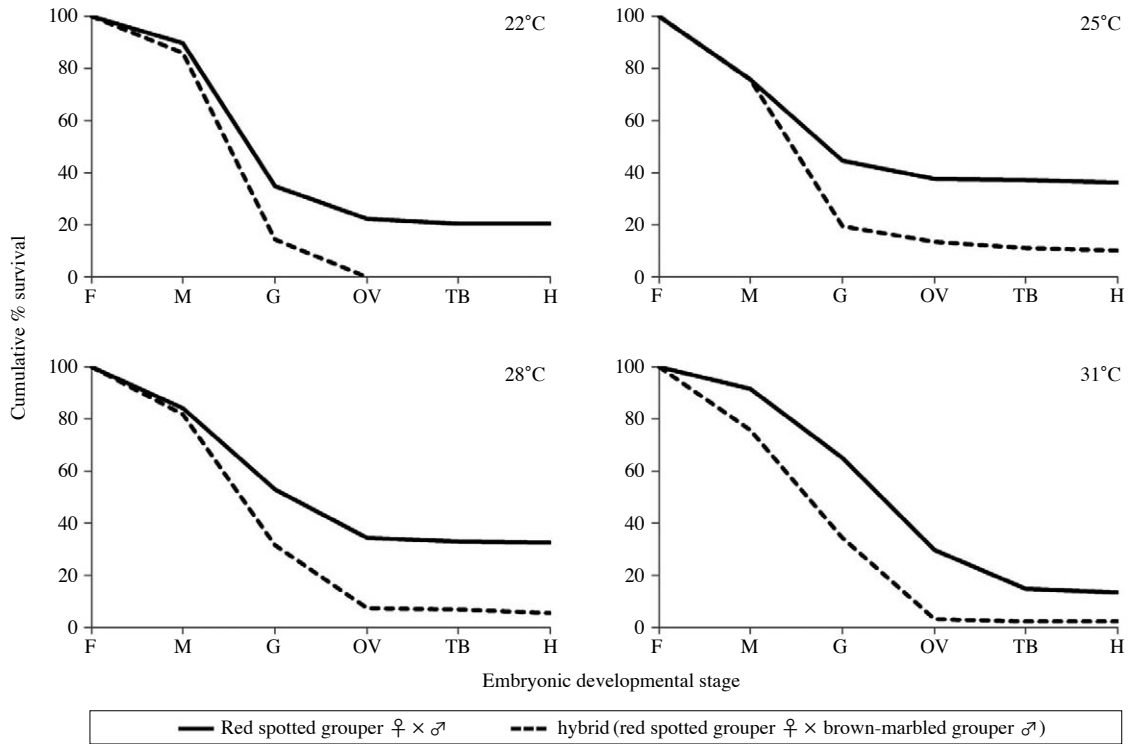


Fig. 2. Cumulative survival rate of hybrid (red spotted grouper ♀ × brown-marbled grouper ♂) and red spotted grouper fertilized eggs in the four different water temperatures. F, fertilization; M, morula; G, gastrula; OV, optical lens appearance; TB, tail beating; H, hatching.

발생 과정 중 생존율은 붉바리 ♀ × brown-marbled grouper ♂ 잡종 수정란이 상실기~낭배기로 이행하는 단계에서 급격히 낮아졌으며, 붉바리 순종 역시 동일한 경향을 보였다 (Fig. 2). 그리고 모든 수온에서 잡종의 부화율은 붉바리 순종에 비해 낮았다. 붉바리 ♀ × brown-marbled grouper ♂ 잡종 수정란은 22°C 실험구에서 안포형성기 이후 모두 폐사하였고 (붉바리 순종 20.1%), 25°C 실험구에서 부화율이 9.8%로서 가장 높았으며 (붉바리 순종 36.3%), 28°C와 31°C에서는 부화율이 각각 5.5%와 2.0%로서 수온이 높을수록 감소하면서 붉바리 순종 (각각 32.2%와 13.5%)과 부화율의 격차가 커지는 경향이 나타났다. 이전의 연구에서 잡종과 순종의 수정률과 부화율은 goldblotch grouper ♀ × dusky grouper ♂ 잡종이 각각 50.0%와 35.0%로서 goldblotch 순종 (각각 50.0%와 37.5%)와 차이가 없었으며, 갈색등근바리 ♀ × 대왕바리 ♂ 잡종이 각각 76.7%와 51.3%로서 갈색등근바리 순종 (각각 86.0%와 48.0%)과 역시 차이가 없었다 (Glamuzina *et al.*, 2001; Kiriya *et al.*, 2011). 그리고 순종에 관한 보고는 없지만 다른 잡종의 수정률과 부화율은 brown-marbled grouper ♀ × 대왕바리 ♂ 잡종이 각각 86.8%와 87.2% (Ch'ng and Senoo, 2008), 갈색등근바리 ♀ × 대왕바리 ♂ 잡종이 각각 91.0%와 33.6% (Koh *et al.*, 2010), 갈색등근바리 ♀ × brown-marbled grouper ♂ 잡종이 각각 93.9%와

50.3% (Koh *et al.*, 2008)였다. 본 연구에서 잡종과 순종 모두 수정률에 비해 부화율이 낮은 것은 발생 중 중층 부상란이 많이 관찰되어 난질에 의한 것으로 판단된다. 그러나 잡종의 수정률과 부화율이 붉바리 순종에 비해 낮게 나타난 것은 중간 교배에 따른 영향일 수도 있으며, 신선한 정액을 사용한 붉바리 순종과는 달리 동결보존된 정액을 사용한 것에 기인할 수도 있다 (Suquet *et al.*, 2000; Kiriya *et al.*, 2011).

이전의 연구에서 바리와 어류의 중간 잡종은 동일 서식지에 분포하는 중간에만 이루어졌으며, 다른 해양어류 분류군에서도 서식지가 다른 어종간 잡종에 관한 보고는 찾을 수 없었다. 본 연구에서 서식 환경이 다른 붉바리와 brown-marbled grouper 잡종의 수정률은 적정 수온에서 부화가 가능한 것으로 조사되었으며, 향후 양질의 알과 신선한 정액으로 수정란을 생산하여 발생 양상, 기형률 및 초기 생존율 등에 관한 면밀한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

요 약

서식 환경이 다른 바리과 (family Serranidae) 어류 두 종, 붉바리 (*Epinephelus akaara*)와 brown-marbled grouper (*E. fuscoguttatus*)의 중간 잡종 수정란의 부화율을 조사하였다.

잡종(붉바리 ♀ × brown marbled grouper ♂)의 수정 후 각 발생단계까지 소요시간은 붉바리 순종과 차이가 없었으며, 부화 소요시간은 25°C에서 25.6시간이었다. 잡종은 붉바리 순종과는 달리 비균등 난황이 분명하게 관찰되었다. 잡종의 부화율은 네 수온(22, 25, 28, 31°C)에서 대체적으로 낮았으며, 25°C에서 9.8%로 가장 높았다. 이상의 연구에서 서식 환경이 서로 다른 바리과 두 종간 잡종이 생산 가능한 것으로 조사되었으며, 향후 산업적 활용성을 검증하기 위하여 발생 양상, 기형률 및 초기 생존율 등에 관한 면밀한 연구가 필요할 것으로 판단된다.

사 사

본 논문은 농림축산식품부, 해양수산부, 농촌진흥청, 산림청 ‘Golden Seed 프로젝트 사업 (213004-04-2-SB530)’과 한국해양과학기술원 (PE-99201)의 지원에 의해 수행되었습니다.

인 용 문 헌

- Avise, J.C. 2001. Cytonuclear genetic signatures of hybridization phenomena: rationale, utility and empirical examples from fishes and other aquatic animals. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10: 253-263.
- Bartley, D.M., K. Rana and A.J. Immink. 2001. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 10: 325-337.
- Chan, W., D. Carlsson and N. Loharkan. 1974. Serranidae. In: Fischer, W. and P. J. P. Whitehead (eds.), *FAO species identification sheets for fishery purposes. Eastern Indian Ocean (Fishing Area 57) and Western Central Pacific (Fishing Area 71)*. Volume 4. FAO, Rome.
- Ch'ng, C.L. and S. Senoo. 2008. Eggs and larval development of a new hybrid grouper, tiger grouper *Epinephelus fuscoguttatus* × giant grouper *E. lanceolatus*. *Aquaculture Science*, 56: 505-512.
- Crapon De Caprona, M.D. and B. Fritsch. 1983. Interspecific fertile hybrids of *Haplochromine Cichlidae* (Teleostei) and their possible importance for speciation. *Netherlands Journal of Zoology*, 34: 503-538.
- Domier, M.L. 1994. Speciation in the Serranid fish *Hypoplectrus*. *Bulletin of Marine Science*, 54: 103-141.
- Froese, R. and D. Pauly. 2014. FishBase. World wide web electronic publication. www.fishbase.org (version 02/2014).
- Glamuzina, B., N. Glavic, B. Skaramuca, V. Kožul and P. Tutman. 2001. Early development of the hybrid *Epinephelus costae* ♀ × *E. marginatus* ♂. *Aquaculture*, 198: 55-61.
- Glamuzina, B., V. Kožul, P. Tutman and B. Skaramuca. 1999. Hybridization of Mediterranean groupers: *Epinephelus marginatus* × *E. aeneus* and early development. *Aquaculture Research*, 30: 626-628.
- Heemstra, P.C. and J.E. Randall. 1993. *FAO species catalogue. Vol. 16. Groupers of the world (family Serranidae, subfamily Epinephelinae). An annotated and illustrated catalogue of the grouper, rockcod, hind, coral grouper and lyretail species known to date.* FAO Fisheries Synopsis, 125: p. 382.
- Herwerden, L., C.R. Davies and J.H. Choat. 2002. Phylogenetic and evolutionary perspectives of the Indo-Pacific grouper *Plectropomus* species on the Great Barrier Reef, Australia. *Journal of Fish Biology*, 60: 1591-1596.
- James, C.M., S.A. Al-Thobaiti, B.M. Rasem and M.H. Carlos. 1999. Potential of grouper hybrid (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. polyphekadion*) for aquaculture. *Naga, The ICLARM Quarterly*, 22: 19-23.
- Kiriyakit, A., W.G. Gallardo and N. Bart. 2011. Successful hybridization of groupers (*Epinephelus coioides* × *Epinephelus lanceolatus*) using cryopreserved sperm. *Aquaculture*, 320: 106-112.
- Kocher, T.D. 2004. Adaptive evolution and explosive speciation: the Cichlid fish model. *Nature Reviews Genetics*, 5: 288-298.
- Koh, I.C.C., S.R.M. Shaleh and S. Senoo. 2008. Egg and larval development of a new hybrid orange-spotted gruper *Epinephelus coioides* × tiger grouper *E. fuscoguttatus*. *Aquaculture Science*, 56: 441-451.
- Koh, I.C.C., S.R.M. Shaleh, N. Akazawa, Y. Oota and S. Senoo. 2010. Egg and larval development of a new hybrid orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* × giant grouper *E. lanceolatus*. *Aquaculture Science*, 58: 1-10.
- Palumbi, S.R. 1994. Genetic divergence, reproductive isolation and marine speciation. *Annual Reviews*, 25: 547-572.
- Suquet, M., C. Dreanno, C. Fauvel, J. Cosson and R. Billard. 2000. Cryopreservation of sperm in marine fish. *Aquaculture Research*, 31: 231-243.
- Tseng, W.Y. and C.T. Poon. 1983. Hybridization of *Epinephelus* species. *Aquaculture*, 34: 177-182.