

# 유도된 넙치와 범가자미간 잡종 자어의 생존 및 성장에 관한 연구\*

김경길 · 방인철 · 김 윤 · 김동수\*\*

국립수산진흥원 어류양식과 · 부산수산대학교 양식학과\*\*

## Survival and Growth in Larval Stage of Induced Hybrid between Olive Flounder (*Paralichthys olivaceus*) and Spotted Flounder (*Verasper variegatus*)

Kyung-Kil Kim, In Chul Bang, Yoon Kim and Dong Soo Kim\*\*

Fish culture Division, National Fisheries Research and Development Agency, Kijang-gun, Pusan 626-900, Korea

\*\* Department of Aquaculture, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

### ABSTRACT

Hybrid fish were induced between olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) female and spotted flounder (*Verasper variegatus*) male by artificial inseminations. Survival, growth and morphological changes in larval stage of hybrids were examined and compared to their parental species. Survival and growth up to 25 days after hatching of the hybrids were more similar to those of olive flounder than to those of spotted flounder ( $P < 0.05$ ). The ratio of yolk length to yolk width in hybrids was similar to that of female parents ( $P < 0.05$ ). The oil globule were resorbed within 18 days after hatching in hybrids and 14 days after hatching in olive flounder, and spotted flounder has no oil globule. These results indicated that survival, growth and morphological changes in larval stage of hybrids were similar to those of maternal olive flounder.

### 서 론

넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 우리나라의 어류 양식에 있어서 대단히 중요한 어종이다. 현재 넙치의 양식은 기술이 확립되어 생산량이 해마다 증가하고 있으나 수온이 낮은 겨울철에 성장이 정지되므로 종묘생산 및 양성을 위해서는 막대한 유류비가 소요되는 등 많은 어려움이 있다. 이에 최근 유전육종학적 기법을 이용 생산성 향상을 위한 연구가 많이 이루어지고 있다. 넙치에 있어 유전육종 기법에 관한 연구로는 유전학적 성전환에 의한 자성발생성 이배체 및 배수체 기법등이 주로 사용되고 있다(Kim *et al.* 1993a; Kim *et al.* 1993c; Tabata 1991a; Tabata 1991b).

\* 본 논문은 1993년 과학기술처 특정 연구 개발 사업비에 의해 수행되었음.

범가자미(*Verasper variegatus*)는 저수온에 강하여 10~15°C에서도 충분히 성장이 가능하며(정 1977), 우리나라와 같이 겨울철에 수온이 낮은 지역에서 양식 대상 어종으로 적합하여 높은 가격으로 거래되고 있으나 아직 종묘생산 및 양성에 관한 연구는 이루어지지 못하고 단지 발생과정 및 유전학적인 종의 동정에 관한 연구 및 종묘생산 가능성에 관한 연구등 단편적인 단계에 머물러 있다(內田 1993; 水戶 1963; 田北 1967; Kim *et al.* 1993b; 조 1994). 이에 본 연구는 넙치와 범가자미의 이러한 장단점을 이용, 잡종화 기법에 의하여 두종간 우량형질을 갖춘 신품종을 생산하여 양식 어종으로의 개발하기 위한 연구의 일환으로 두 종간 잡종을 유도하여 넙치, 범가자미 및 잡종을 대상으로 자어의 생존율 및 성장을 비교 조사하였다.

## 재료 및 방법

본 실험은 1993년~1994년에 걸쳐 국립수산진흥원 어류 사육실에서 2차례 실시하였다. 잡종은 성숙된 넙치의 암컷과 범가자미의 수컷에서 복부 압박법으로 각각 난과 정액을 추출한 후 건식법으로 인공수정시켜 유도하였으며, 이 때 대조군으로 넙치와 범가자미를 동일한 방법으로 각각 인공수정시켰다. 자치어 사육은 각 실험군의 수정난을 수정 2분후에 깨끗한 여과해수로 세란하여 부상난을 부화조로 이동시켜 관리한 후, 부화직전 0.5톤 polycarbonate 수조로 옮겨 사육하였다. 먹이로는 부화 직후 소량의 해산 chlorella를 사육수에 혼합하였고, 부화후 3일째부터는 rotifer를 공급하였으며 성장함에 따라 아르테미아 유생과 배합사료를 공급하였다. 사육은 지수식으로 하였으며 배설물 및 사료 찌꺼기를 수시로 제거하였다. 실험 기간은 변태기 직전인 부화후 25일째 까지였으며, 실험 기간 동안의 사육 수온은 16~18°C, 용존산소는 4.0~6.5 ppm 었다.

생존율은 매일 표본 개체수 1,000마리에 대한 생존 개체수의 백분율로 계산하였다. 성장 및 어체의 각 부위별 측정은 자어를 매일 20마리씩 무작위 추출하여 마취제(MS-222, 100 ppm)로 마취시킨 후 만능투영기로 mm 단위까지 측정하였다. 성장을 알기 위해서는 전장(total length)을, 자어의 형태 변화를 알기 위해서는 난황의 길이(yolk length)와 폭(yolk width) 및 유구의 직경(oil globule diameter)을 측정하였다.

유도된 잡종의 자성발생성 또는 응성발생성 개체의 가능성을 배제하기 위해 Klingerman과 Bloom (1977)의 방법에 의거 부화자어에 대하여 solid-technique으로 염색체를 조사하였다. 실험 결과의 통계 처리는 Student's t-test로 하였다.

## 결 과

### 1. 생존율

잡종의 생존율은 Fig. 1 처럼 부화직후 높은 사망율은 없었으며 입이 열리고 먹이를 먹기 시작하는 부화후 4일째에 4.7%의 사망율을 보였으나, 이후 6일째부터는 모든 개체가 먹이를 양호하게 먹어 생존율이 92.5%로 대단히 높았다. 넙치의 생존율도 잡종과 같이 6일째의 생존율이 94.2%로 대단히 높았으며 범가자미의 경우 부화후 1일째 일부의 개체가 기형으로 폐사하였으나 6일째의 생존율이 89.6%로 세 실험군 모두 비교적 양호한 편이었다. 부화후 25일째의 생존율은 잡종이 72.2%, 넙치가 76.8%, 범가자미가 56.8%로 잡종의 생존율은 넙치와 비슷하고( $P > 0.05$ ) 범가자미보다는 훨씬 높았다( $P < 0.05$ ).

### 2. 난황 및 유구의 형태

난황의 길이 변화를 보면 Table 1과 같이 잡종이 1일째 1.00 mm, 5일째 0.15 mm로 짧아져 6일째

Table 1. Yolk length and yolk width of olive flounder (OF), spotted flounder (SF) and hybrid olive flounder dam×spotted flounder sire (OS) up to 7 days after hatching

Days	Yolk length (mm)			Yolk width (mm)		
	OF	OS	SF	OF	OS	SF
1	0.94±0.10	1.00±0.05	1.90±0.01	0.43±0.43	0.42±0.05	1.10±0.01
2	0.68±0.05	0.68±0.05	1.50±0.01	0.36±0.06	0.27±0.03	0.87±0.01
3	0.55±0.09	0.47±0.05	1.16±0.02	0.20±0.02	0.20±0.03	0.66±0.03
4	0.18±0.01	0.34±0.07	1.11±0.01	0.06±0.01	0.16±0.02	0.56±0.02
5	0	0.15±0.06	0.91±0.03	0	0.07±0.02	0.39±0.03
6		0	0.35±0.06		0	0.13±0.03
7			0			0

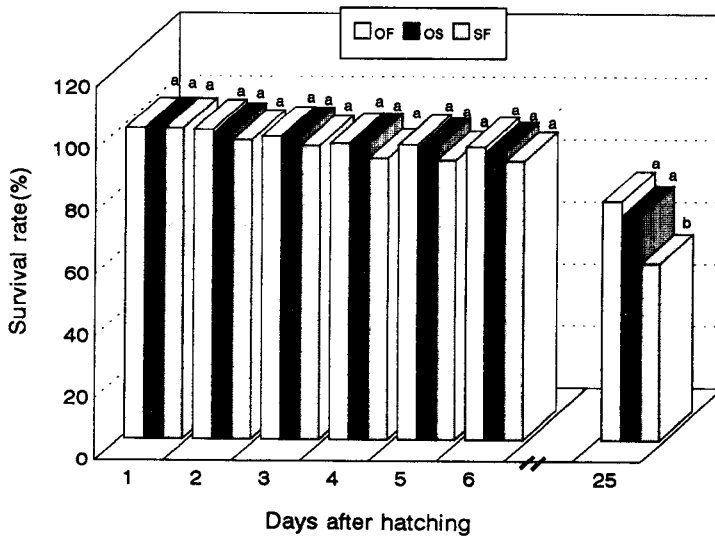


Fig. 1. Survival of olive flounder (OF), spotted flounder (SF) and hybrid, olive flounder dam× spotted flounder sire (OS) up to 25 days after hatching.

는 완전히 흡수되었다. 넙치는 1일째 0.94 mm, 4일째 0.18 mm로 짧아지며 5일째는 완전히 흡수되었다. 범가자미는 1일째 1.90 mm, 6일째 0.35 mm로 짧아지며 7일째는 완전히 흡수되어 넙치와 잡종에 비하여 난황이 크고 흡수되는 기간도 길었다( $P < 0.05$ ). 난황의 폭 변화를 보면 Table 1과 같이 잡종이 1일째 0.42 mm, 5일째 0.07 mm 이며, 넙치는 1일째 0.43 mm, 4일째 0.06 mm 이고, 범가자미는 1일째 1.10 mm, 6일째 0.13 mm로 짧아 졌다. 한편 난황의 길이 대 폭의 비를 보면 부화후 1일째가 넙치 45.7%, 잡종 45.2%, 범가자미 57.9%로 넙치와 잡종은 난황의 형태가 유사하나 범가자미의 난황은 넙치와 잡종에 비하여 둥근 편이었다.

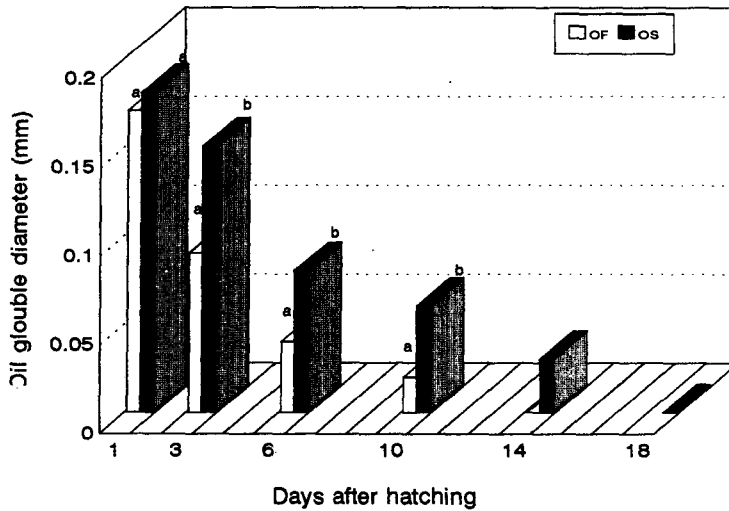


Fig. 2. Oil globule diameter of olive flounder (OF), spotted flounder (SF) and hybrid, olive flounder dam×spotted flounder sire (OS) up to 18 days after hatching.

유구의 크기 변화를 보면 Fig. 2와 같이 잡종이 1일째 0.18 mm, 3일째 0.09 mm, 14일째 0.03 mm으로 짧아지며 18일째 완전히 소실되었다. 넙치는 1일째 0.17 mm, 4일째 0.15 mm, 10일째 0.02 mm으로 짧아지며 14일째 완전히 흡수되었으나 범가자미는 유구가 관찰되지 않았다. 성장에 따른 유구의 크기 변화를 보면 먹이를 먹지 않는 부화후 3일째까지는 소실 속도가 느린 반면에 처음으로 먹이를 먹기 시작하는 4~5일째에 소실의 속도가 빨라지나 그 이후 다시 속도가 느려졌다. 또한 잡종의 경우 일부의 개체에서 유구의 완전한 소실에 소요되는 기간이 넙치보다 4일이 더 길었다.

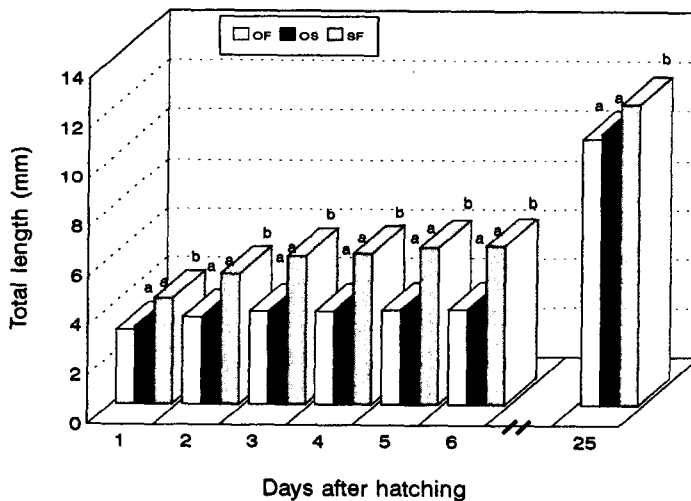


Fig. 3. Growth of olive flounder (OF), spotted flounder (SF) and hybrid, olive flounder dam×spotted flounder sire (OS) up to 25 days after hatching.

### 3. 성 장

잡종의 성장은 Fig. 3에서 보는 바와 같이 부화직후 자어의 평균 전장이 2.42 mm (이하 평균값), 1 일째 3.14 mm, 3일째 3.69 mm으로 빠른 성장을 보이다가 먹이를 먹기 시작하는 부화후 4일째부터 느려져 6일째는 3.84 mm 였다. 넙치는 부화직후 자어의 전장이 2.28 mm으로 잡종보다 작았으나( $P < 0.05$ ) 6일째의 전장은 3.86 mm으로 잡종과 비슷하였다. 한편 범가자미의 부화직후 자어의 전장은 4.21 mm, 6일째의 전장은 6.40 mm으로 잡종과 넙치보다 훨씬 컸다( $P < 0.05$ ). 부화후 25일째의 성장은 잡종이 11.0 mm, 넙치가 10.8 mm, 범가자미가 12.2 mm으로 나타나 넙치와 비슷하였고 범가자미보다는 느린 경향을 보였다( $P < 0.05$ ).

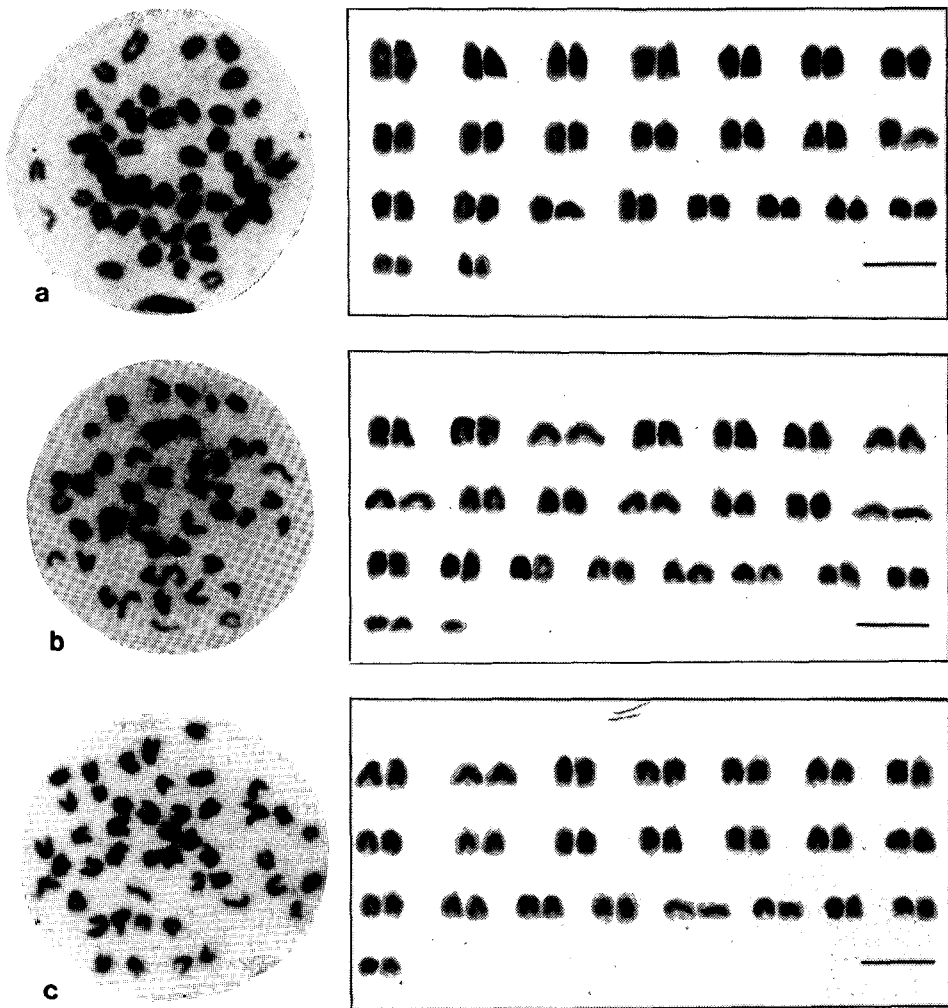


Fig. 4. Metaphase and idiogram of olive flounder (a), hybrid between olive flounder and spotted flounder (b), and spotted flounder (c). Bar indicates 5 μm.

#### 4. 염색체

각 실험군의 염색체수를 조사한 결과는 Fig. 4와 같다. 넙치의 염색체수는  $2n=48$ 개, 범가자미의 염색체수는  $2n=46$ 개 였으며, 잡종의 염색체수는  $2n=47$ 개 였다.

### 고 찰

잡종 유도시 초기발생은 사용된 친어의 염색체수, 핵내의 유전물질 불균형 및 단백질의 생산을 조절하는 유전자의 차이에 기인된다(Wu 1990). 따라서 중간 잡종 유도시 초기 생존율은 사용된 친어의 유연관계에 의해 결정된다. 양식에 있어서 부화자어의 생존율은 경제성 면에서 대단히 중요하다(Chevassus 1983). 특히 잡종의 경우 일반적으로 자어의 생존율이 양친보다 낮아 유도된 잡종의 산업화에 큰 장애 요인이 되므로 자어의 생존율 및 성장에 관한 연구가 대단히 중요하다(Purdom 1972; Blanc and Chevassus 1979; Blanc and Chevassus 1986; Jug Dujaković and Glamuzina 1990; Dumas *et al.* 1992; McGowan and Davidson 1992; 박 1992). 잡종 자어의 생존율에 대한 보고를 보면 brook trout (*Salvelinus fontinalis*)와 Arctic charr (*S. alpinus*) 간의 상호 교배에 의하여 유도된 잡종은 생존율이 53~57%로 양친의 중간으로 보고된 바 있으며(Dumas *et al.* 1992) brown trout와 Atlantic salmon간의 잡종은 첫 먹이를 먹기 이전까지의 생존율이 그들의 양친보다 훨씬 낮다고 보고하였다(McGowan and Davidson 1992). 본 연구에서 넙치와 범가자미간 잡종 자어의 생존율이 양친의 중간이나 넙치와 비슷하여 앞으로 사육관리 기법을 잘 개발한다면 변태기 이전까지의 생존율은 큰 문제가 되지 않을 것으로 보여 산업적 가치가 있을 것으로 사료된다. 특히 본 실험에서 잡종 유도시 어미로 사용한 넙치와 범가자미는 같은 가자미목(Order Pleuronectida)에 속하나 科(Family)가 다른 科간의 잡종임에도 불구하고 부화자어 초기 생존율 및 기형율에 있어서 양친과 차이가 없어 넙치와 범가자미는 진화학적으로 매우 가까운 유연관계라고 사료된다.

잡종의 형질을 형태학적, 계측학적 및 계수학적 측면에서 보면 일부의 형질에서는 사용된 암수 친어 중 한 쪽을 따르나 대부분의 형질에서 사용된 암수 친어의 중간을 나타내므로 형태계측학적 분석 방법은 잡종 평가의 한 방법으로 널리 사용되고 있다(Chevassus 1983; Makeyeva 1975). 특히 자어기의 난황의 흡수 및 유구의 소실에 관한 연구는 먹이 섭취 및 생존율과 깊은 관계를 가지고 있다(Jug Dujaković and Glamuzina 1990). 본 연구에서 유도한 잡종 중 일부는 유구가 정상적으로 소실되지 못하고 유구의 완전 소실까지 소요되는 기간이 넙치보다 4일이 더 길었다. 이러한 개체는 대부분 먹이를 충분히 먹지 못한 자어으로써 폐사하였다. 이러한 결과로 보아 유구의 소실이 다른 개체보다 상대적으로 느린 개체는 후기자어의 생존율에 영향을 미칠 것으로 생각된다. 부화자어의 형태 변화 및 먹이 섭취에 있어서 넙치와 범가자미간의 잡종은 넙치와 거의 비슷하여 앞으로 본종을 종묘생산할 시 변태기 이전까지의 초기 사육에 있어서는 넙치와 유사하게 사육관리 한다면 큰 어려움이 없을 것으로 생각된다.

잡종 유도시 일반적으로 양식의 측면에서 가장 큰 잇점은 잡종 강세에 있다. 특히 성장의 측면에서 볼 때 잡종은 그들 양친보다 성장이 약간 빠른 어종도 있으며(Hickling 1960), gilthead sea bream (♀)과 sharp-snout sea bream (♂)간의 잡종처럼 부화후 30일째의 성장이 그들 양친과 유사한 어종도 있다(Jug Dujaković and Glamuzina 1990). 본 연구에서 유도한 잡종은 자어의 성장이 양친의 중간이나 넙치와 매우 유사하였다.

잡종의 염색체는 친어로 사용된 암수 각각의 반수체 염색체 1조로 구성되므로 염색체수 조사 및 핵형분석을 통해 잡종의 판별이 가능하다. 미꾸리와 미꾸라지의 상호 교배에 의하여 유도된 잡종의 염색체수는  $2n=49$ 개로 명확한 잡종임이 밝혀졌으며(박 1992), 본 연구에서도 넙치와 범가자미간의

잡종의 염색체수는  $2n=47$ 개로 나타나 정확하게 잡종이 유도되었음을 알 수 있다.

이상의 조사 결과, 본 연구에서 유도한 잡종에 있어서 자어의 생존율, 성장 및 형태변화는 양친의 중간이나 넙치와 보다 더 유사하여, 잡종 유도시 사용한 친어 중 수컷인 범가자미보다 암컷으로 사용한 넙치의 영향을 더 강하게 받은 것으로 사료된다.

## 요 약

넙치(*Paralichthys olivaceus*) 암컷과 범가자미(*Verasper variegatus*) 수컷간의 잡종을 유도하여 넙치, 범가자미 및 잡종을 대상으로 변태기 전인 부화후 25일째까지 자어의 생존율 및 성장을 비교 조사하였다. 실험 종료시 잡종의 생존율과 성장은 양친으로 사용된 두 종 중 넙치와 유사하였다( $P > 0.05$ ). 부화자어의 형태에서 잡종은 난황의 길이 대 폭의 비에서 넙치와 좀 더 많이 닮았고, 수온  $17 \pm 1^\circ\text{C}$ 에서 유구가 완전히 소실되는 기간은 잡종이 18일, 넙치가 14일이었으며 범가자미에서는 유구가 관찰되지 않았다. 조사 결과 변태기전까지의 잡종은 그의 생존율 및 성장에서 범가자미보다 넙치와 더 유사한 경향을 나타내었다( $P > 0.05$ ).

## 참 고 문 헌

- Blanc, J. M. and B. Chevassus. 1986. Survival, growth and sex maturation of the tiger trout hybrid (*Salmo trutta* ♀ × *Salvelinus fontinalis* ♂). *Aquaculture* 52: 59~69.
- Blanc, J. M. and B. Chevassus. 1979. Interspecific hybridization of salmonid fish. I. Hatching and survival up to the 15th day after hatching in F1 generation hybrids. *Aquaculture* 18: 21~34.
- Chevassus, B. 1983. Hybridization in fish. *Aquaculture* 33: 245~262.
- Dumas, S., J. M. Blanc, C. Audet and J. de la Noüe. 1992. The early development of hybrids between brook charr (*Salvelinus fontinalis*) and Arctic charr (*Salvelinus alpinus*). *Aquaculture* 108: 21~28.
- Jug Dujaković, J. and B. Glamuzina. 1990. Intergeneric hybridization in Sparidae. 1. *Sparus aurata* (♀) × *Diplodus puntazzo* (♂) and *Sparus aurata* (♀) × *Diplodus vulgaris* (♂). *Aquaculture* 86: 369~378.
- Hickling, C. F. 1960. Malacca tilapia hybrids. *J. Genet.* 57: 75~85.
- Kim, D. S., J. H. Kim, J.-Y. Jo, Y. B. Moon and K. C. Cho. 1993a. Induction of gynogenetic diploid in *Paralichthys olivaceus*. *Korean J. Genet.* 15: 179~186.
- Kim, K.- K., Y. Kim, Y. K. Nam and D. S. Kim. 1993b. Genetic stock identification of spotted flounder *Verasper variegatus* from Yeosu, Korea. *J. Aquacult.* 6: 221~233.
- Kim, Y., K.- K. Kim, I. C. Bang and J. K. Lee. 1993c. Studies on the Production of all-female populations of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. I. Induction of gynogenetic diploid and its growth. *Korea. J. Aquacult.* 6: 285~293.
- Kligerman, A. D. and S. E. Bloom. 1977. Rapid chromosome preparations from solid tissues of fishes. *J. Fish. Res. Bd. Can.* 34: 266~269.
- Makeyeva, A. P. 1975. The phenomenon of hybrid gynogenesis in fishes. *J. Ichthyol.* 15: 72~81.

- McGowan, C. and W. S. Davidson. 1992. Artificial hybridization of Newfoundland brown trout and Atlantic salmon: hatchability, survival and growth to first feeding. *Aquaculture* 106: 117~125.
- Purdom, C. E. 1972. Induced polyploidy in plaice (*Pleuronectes platessa*) and its hybrid with the flounder (*Platichthys flesus*). *Heredity*: 11~24.
- Tabata, K. 1991a. Application of the chromosomal manipulation in aquaculture of hirame, *Paralichthys olivaceus*. *Bull. Hyogo Pref. Fish. Exp. Stn.* 28: 1~134.
- Tabata, K. 1991b. Induction of gynogenetic diploid males and presumption of sex determination mechanisms in the hirame, *Paralichthys olivaceus*. *Nippon Suisan Gakkaishi* 57: 845-850.
- Wu, C. 1990. Retrospects and prospects of fish genetics and breeding research in China. *Aquaculture* 85: 61~68.
- 内田恵太郎, 1933. 本邦産異體魚類の變態期前後. *動物學雜誌* 45: 268~277.
- 水戸 敏, 1963. *魚雜*, 9: 88, PI 33.
- 田北 徹·藤田矢郎·道津喜衡. 1967. 卵發生ふ化仔魚. *長崎大學水産學研究報告* 第23號: 101~106.
- 박인석. 1992. 미꾸리와 미꾸라지의 잡종 및 잡종 3배체에 관한 연구. 부산수산대학 박사 학위 논문. 부산, 84pp.
- 정문기. 1977. 한국어도보. 일지사, 서울, pp. 210-218.
- 조기채. 1994. 범가자미(*Verasper variegatus*)의 종묘생산에 관한 연구. 부산수산대학교 석사학위논문. 부산, 42pp.