

시베리아 철갑상어(*Acipenser baerii*) 암컷과 러시아 철갑상어(*Acipenser gueldenstaedtii*) 수컷간 유도된 잡종 자어의 행동 발달 및 주광성 특징

남윤권* · 김은정

부경대학교 해양바이오신소재학과

Ontogenetic Behavior and Phototactic Properties of Interspecific Hybrid Prolarvae Produced by Crossing Female Siberian Sturgeon *Acipenser baerii* and Male Russian Sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii*

Yoon Kwon Nam* and Eun Jeong Kim

Department of Marine Bio-Materials and Aquaculture, Pukyong National University, Busan 48513, Korea

Female Siberian sturgeon *Acipenser baerii* were crossed with male Russian sturgeon *A. gueldenstaedtii* and the development, ontogenetic behavior, and phototactic characteristics of the resultant hybrid prolarvae were examined. The fertilization rate of the hybrid group was similar to that of Siberian sturgeon (the maternal species), and the overall developmental characteristics of hybrid embryos were not significantly different from those of either parental species. The time window from first hatch to the completion of hatching was wider in Russian sturgeon than in Siberian and hybrid sturgeon groups. The prolarval viability of the hybrid group was similar to that of the maternal species, and significantly higher than that of the paternal species. Hybrid prolarvae displayed ontogenetic behavioral patterns that were quite similar to those of Siberian sturgeon. In an illumination preference test, hybrid prolarvae displayed significant positive phototaxis, similar to the maternal species, and clearly distinct from the negative phototactic character of the paternal species. Taken together, our data indicate that the prolarval traits of hybrid sturgeon from this cross more closely resemble those of the maternal than the paternal species.

Key words: Hybrid sturgeon (*A. baerii* ♀ × *A. gueldenstaedtii* ♂), Development, Ontogenetic behavior, Phototaxis

서론

철갑상어는 ‘캐비아(caviar)’의 원재료로서 중요시되는 고급 수산물이지만 그간 자연 집단의 급감으로 인해 캐비아의 지속 가능한 이용을 위해서는 양식에 의한 철갑상어의 생산이 중요 시되고 있다. 우리나라의 경우 1990년대 후반 양식 대상 후보 종으로 철갑상어가 처음 도입된 이래 철갑상어 인공종자 생산 및 양식 기술에 관한 연구 개발이 점차 확대되고 있으며, 이 중 시베리아 철갑상어(*Acipenser baerii*)와 러시아 철갑상어(*A. gueldenstaedtii*)는 현재 우리나라에서 양식되고 있는 대표적인 철갑상어 종들이다(Park, 2018).

시베리아 철갑상어의 경우 국내 양식산 성숙 친어로부터 성

공적인 인공산란유도, 배 발생, 초기 자·치어의 발달 및 세포유 전학적 특징에 관한 여러 연구 결과들이 보고된 바 있으며(Park et al., 2013a, 2013b; Kim and Nam, 2018, Ryu et al., 2018) 인공종자생산 측면에서 국내 양식 철갑상어 종들 중 가장 많은 연구 정보들이 축적되어 있는 종이다. 반면, 러시아 철갑상어는 시베리아 철갑상어에 비해 보다 고가의 캐비아를 생산할 수 있다는 장점을 인정받아 국내에 도입되었으나(Kim et al., 2009), 성숙까지의 소요 기간이 시베리아 철갑상어보다 길고, 자·치어 단계에서 높은 폐사율이 빈번히 관찰되는 등 인공종자생산 기술의 완성도가 시베리아 철갑상어에 비해 상대적으로 낮은 실정이다(Chebanov and Galich, 2011). 러시아 철갑상어의 경우, 국내 양식산 친어로부터 인공산란유도, 발생 및 자·치어 생산

*Corresponding author: Tel: +82. 51. 629. 5918 Fax: +82. 51. 629. 5910

E-mail address: yoonknam@pknu.ac.kr



This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0/>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

<https://doi.org/10.5657/KFAS.2019.0274>

Korean J Fish Aquat Sci 52(3), 274-282, June 2019

Received 18 March 2019; Revised 9 April 2019; Accepted 20 May 2019

저자 직위: 남윤권(교수), 김은정(대학원생)

에 관한 실험적 연구 결과들이 최근 보고되기 시작하고 있지만 (Kim et al., 2018; Nam et al., 2018; Kim et al., 2019) 아직 국내에서 상업적 규모의 인공종자생산이 효과적 수행될 수 있는 단계까지는 도달하지 못한 상태이다.

양식 어류 종들을 대상으로 한 종간 잡종 유도(interspecific hybridization)는 서로 다른 두 종으로부터 각 종의 장점을 잡종 개체에 집적시키거나 또는 단점을 상쇄하기 위한 육종기법으로 널리 사용되고 있다(Bartley et al., 2001). 종간 잡종을 양식 후보종으로 개발하기 위해서는 일련의 양적 형질에 관한 다양한 평가가 이루어져야 하지만, 이중 특히 초기 생존 형질(수정률, 부화율 및 자치어 생존율 등)은 잡종의 양식적목에 관해 가장 우선적으로 고려해야하는 핵심 지표이다(Chevassus, 1983; Kim et al., 1995). 철갑상어의 경우 부화 후 비교적 긴 난황자어 시기(prolarval period)를 거치며 그 기간 동안 큰 폭의 형태 변화와 및 유영 패턴의 변화(주류성 및 군집성 등)를 나타내며(Dettlaff et al., 1993; Gisbert and Nam, 2018), 특히 난황자어 시기의 주광성(phototaxis) 특성은 *Acipenser* 속 어류 종에 따라서 판이하게 다른 종 특이성을 나타낸다. 예컨대, 시베리아 철갑상어 부화자어의 경우 강한 양성 주광성(positive phototaxis)을 나타내는 반면 러시아 철갑상어는 음성 주광성(negative phototaxis) 또는 특정 방향의 주광성이 없다고(no clear phototaxis) 알려져 있다(Dettlaff et al., 1993; Chebanov and Galich, 2011; Kim et al., 2019). 철갑상어 자어의 주광성 특징은 산란장 환경에 적응하기 위해 선천적으로 획득된 형질로서(Dettlaff et al., 1993), 인공종자생산 시 종자 사육장 내 광원의 위치, 광 세기(조도), 광 파장, 광주기 등과 관련한 적절한 자어사육 환경을 조성하는데 매우 중요시된다(Loew and Sillman, 1998; Zaheh et al., 2013). 따라서, 유도된 철갑상어 잡종 자어들의 유영 발달 패턴 및 주광성 특징에 관한 정보는 해당 잡종 계통의 인공종자생산 조건을 최적화하기 위한 기초 자료로서 실측 평가되어야 하는 중요한 항목이다(Chebanov and Galich, 2011; Kim et al., 2019).

시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어간 종간 잡종의 경우 생식 능력을 갖는다고 알려져 있어 캐비아 생산을 위한 교배 품종으로서 일부 총설 문헌 등에서 언급된 바 있으나(Bronzi and Rosenthal, 2014; Shen et al., 2014), 잡종의 유도 효율 및 초기 자어의 형질에 관한 양친과의 비교에 관한 연구 결과는 보고된 바 없다. 이에 본 연구에서는 시베리아 철갑상어 암컷과 러시아 철갑상어 수컷간 잡종 철갑상어 품종 개발의 일환으로 두 종간 유도된 잡종의 초기 자어의 행동 발달 및 주광성 특성을 양친 철갑상어 종들과 비교 및 평가하고자 하였다.

재료 및 방법

실험어류 및 잡종 유도

실험에 사용한 철갑상어 암·수 친어는 부화 후 10-11년 연령의 개체들로서 평균 어체중은 암컷은 19.5 ± 4.3 kg, 그리고 수

컷은 15.2 ± 3.5 kg이었다. 시베리아 철갑상어 및 러시아 철갑상어로부터 배우자를 확보하기 위해서 산란유도호르몬 luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRH-a; Sigma-Aldrich, USA)를 암컷의 경우 어체중 kg 당 $80 \mu\text{g}$, 수컷의 경우 $20 \mu\text{g}$ 을 근육 주사한 후 수온 $15-16^\circ\text{C}$ 수조에 수용하였다. 암컷으로부터 최초 배란이 확인되는 시점(주사 후 약 30시간)에 수컷들로부터 정액을 채취 후 희석보관 용액(Park and Chapman, 2005)에 1:1 희석하여 냉장보관 하였다. 이어 각 암컷 개체로부터 배란 확인 1시간째 복부 압박법을 통해 배란된 난을 얻었다. 시베리아 철갑상어 및 러시아 철갑상어 종 당 암수 각각 2마리씩으로부터 정액 또는 난을 확보하여 실험에 이용하였다. 인공수정은 습식법을 이용 1:1 mating이 이루어지도록 실시하였다. 인공수정을 통해 시베리아 철갑상어(*Acipenser baerii*, AB), 러시아 철갑상어(*A. gueldenstaedtii*, AG), 시베리아 철갑상어 \times 러시아 철갑상어 \uparrow 잡종 (AB \times AG) 유전형(총 3개 유전형 그룹) 당 각 4개 수정 그룹들을 형성하였다(총 12개 수정 그룹). 수정 후 Fuller's earth (Sigma-Aldrich) 처리를 통해 수정란의 점액질을 제거한 후 $19-20^\circ\text{C}$ 수조에서 발생을 유도하였다.

수정률 및 배 발생 특징 조사

인공 수정 처리 2-3시간 경과 후 현미경 검경을 통해 초기 난할이 정상적으로 개시되는 배(embryo)의 백분율(%)을 수정률로 평가하였다. 각 수정 그룹 당 110-120개 배를 3반복으로 무작위 선택하여 조사하였다. 잡종 그룹의 배 발생을 조사하기 위해서 철갑상어의 주요 발생 단계들에 도달하는 시간 및 발생 배의 형태를 조사하였다. 선행 문헌을 기준으로 본 연구에서 조사 시점으로 선정한 발생 단계는 수정 직후(just fertilized, JF), 8-cell stage (8C), 포배기(blastula, BL), 낭배기 시작(onset of gastrulation, on-GA), 피포가 배의 70%를 덮는 시기(70% epiboly cover, 70-EP), 신경배 시작(onset of neurulation, on-NE), 신경배 단계 종료(neural tube closed, NT-cl), 전신관 형성(pronephric duct collected, PD-co), S-형태의 심장 박동 시작(heart beating with S-shaped, HB-s), 꼬리가 심장에 도달 가능할 만큼 발달(tail reaching heart, TRHt), 꼬리가 머리에 도달할 만큼 발달(tail reaching head, TRHd), 그리고 최초 부화(the first advanced hatch, 1st-H) 시기이다(Park et al., 2013a, Kim et al., 2018). 각 교배 그룹으로부터 24개의 배를 무작위로 선발하여 조사를 실시하였고, 각 그룹에서 최초 부화가 관찰되는 시점에서 정상 형태를 가진 생존 배를 최초 수정시킨 난의 수에 대한 백분율로 계산하여 발생 배의 생존율(embryonic viability)을 구하였다.

최초 부화 후 부화 종료시점까지의 소요 시간 조사

최초 부화가 일어난 후 부화가 종료되는 시점까지의 소요 시간(부화 시점의 동기화 정도)을 평가하기 위해서 최초 부화가 관찰된 시점에 각 교배 그룹으로부터 부화 직전에 도달하였고 판단되는 배(TRHd 단계 이후 난막내 움직임은 배)를 각 교

배 그룹별로 120개씩 3반복 취하여 부화 패턴을 조사하였다. 항온 부화조($20 \pm 0.5^\circ\text{C}$)에서 배양하면서 매일 각 그룹에서 부화한 자어의 수를 측정하였으며 부화한 자어들을 관찰되는 즉시 곧바로 제거하였다. 마지막 부화 관찰 이후 36시간 동안 더 이상 부화가 일어나지 않을 경우 부화 진행이 종료된 것으로 간주하였다. 부화 종료 후 각 그룹에서 부화 자어의 누적 마리 수를 측정하여 꼬리 신장기(TRHd)에 도달한 배의 최종 부화 성공율을 계산하였다.

난황자어기의 생존율 및 유영 패턴 조사

대량 부화 시점에서 각 교배 그룹으로부터 부화한 자어들을 수거하여 길이 2 m × 폭 1.2 m × 수심 0.25 m의 수조에 교배군별로 수조 당 2,400미씩 3반복 수용하였다(총 9개 수조). 각 수조는 자체 제작한 200 L 용량의 모래-스펀지 여과조가 장착되도록 하여 수중 순환 펌프를 이용하여 8 L/min의 순환율이 되도록 조절하였다. 최초 수용 6시간 후 유영을 하지 못하는 형태적 기형 개체들을 수거하여 마리 수를 측정 후 제거하였으며, 이때 수조 별로 제거한 기형 마리수 만큼씩 정상 자어들을 보충하였다. 모든 수조의 수온은 $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 용존 산소는 7-8 ppm이 되도록 조정하여 관리하였고 매일 10%의 사육수를 환수하였다. 광 조건의 경우 명기에서는 수조 위 평균 조도를 450 lx, 암기에서의 평균 조도는 10 lx가 되도록하였으며 명기: 암기의 시간은 16시간 : 8시간으로 설정하였다. 폐사 개체가 관찰될 때마다 수시로 제거하였고 이때 폐사 개체 수를 측정하였다. 난황자어시기가 종료되는 부화 9일째까지 상기 조건을 이용하여 사육관리 하면서 각 교배 그룹의 누적 폐사 개체 수를 측정하여 최종 자어기의 생존율을 백분율로 계산하였다. 부화 자어기에 특징적으로 관찰되는 유영 패턴의 변화의 조사를 위해 “부화자어의 전형적인 표류행동(swimming-up and drifting behavior)의 유무”, “주류성(rheotaxis)”, “군집성(schooling)”, “군집성 이후의 산개(post-schooling dispersed stay)” 및 “색소포 배출(pigment plug evacuation)”을 주 관찰 대상으로 설정하였다. 난황자어기 동안 12시간 간격으로 동영상 및 사진 촬영을 실시하였으며 특정 유영 패턴의 판정은 시베리아 철갑상어 및 러시아 철갑상어 선행 연구 자료의 기준에 따라 수행하였다(Gisbert and Solovyev, 2018; Kim et al., 2019).

자어의 주광성 특징 조사

빛 선호도 조사(illumination preference test)를 위해서 관찰용 수조(폭 0.9 m × 길이 1.8 m × 수심 0.25 m)의 수조 바닥면을 3등분($0.9 \text{ m} \times 0.6 \text{ m}$)으로 구획하여 각 구획 별로 서로 다른 조도를 제공하였다. 밝은 조명 구역(bright section; BR)의 경우 수조 30 cm 위에 23 W LED (백색) 등을 설치하여 수표면 위의 평균 조도를 900-1,000 lx가 되도록 하였다. 반면 BR 구역 반대쪽에 암 구역(dark section, DK)을 설정하기 위해서 암막 커버를 수조위에 놓아 수표면의 평균 조도가 10-20 lx가 되도록 하였다. 아울러 BR구역의 조명이 DK 구역의 광 조건에 영향을 미치

지 않도록 BR 구역과 DK 구역 사이의 중앙 구역(central zone, CZ)의 양 측면에 칸막이를 설치하였다. CZ 구역의 평균 조도는 90-100 lx가 되도록 실내 조도를 조절하였다. BR 조명을 끈 상태에서 자어 300미를 CZ 중앙에 풀어 놓고 곧이어 BR 구역의 조명을 점등하였다. 점등 10분 후 500 μm 메쉬 크기를 갖는 차단 망을 각 구역의 경계면에 설치하여 각 구역에 있는 자어의 마리 수를 측정하였다. 상기 빛 선호도 조사는 교배 그룹별로 3회 반복 측정하였으며, 각 반복 측정시 마다 신규 300미 자어를 이용하였다. 상기 빛 선호도 실험은 부화 1일째(Day 1) 및 부화 3일째(Day 3)에 실시하였다(Gisbert et al., 1999).

통계 처리

수정률, 배 발생 속도 및 생존율, 부화 소요 기간 및 주광성 형질 조사 자료에 대한 그룹들간 통계적 유의차 검증은 ANOVA 및 Duncan's multiple range tests를 이용하여 실시하였고 P=0.05 수준에서 유의성을 판정하였다.

결과 및 고찰

잡종의 수정률 및 배발생

조사한 세 종류 교배 그룹(시베리아 철갑상어, 러시아 철갑상어 및 잡종 그룹) 모두에서 수정 그룹들간(암수 개체간 1:1 수정 처리) 유의적인 수정률의 차이가 관찰되어, 시베리아 철갑상어 및 러시아 철갑상어의 수정 그룹들에서 각각 95.7-100% 및 85.1-90.1%의 수정률을 나타내었고, 잡종 그룹의 경우 모계 종과 유사한 수정률(94.3-100%)을 나타내었다(Fig. 1A). 해당 수정률 자료를 교배 유전형 그룹간 평균 값으로 계산할 경우 잡종 그룹($98.0 \pm 2.5\%$)은 시베리아 철갑상어($97.9 \pm 2.1\%$)와 통계적으로 차이가 없는 수정률을 보였으며($P > 0.05$), 반면 러시아 철갑상어($88.5 \pm 2.4\%$)는 이들 두 그룹들에 비해 유의적으로 낮은 수정률을 나타내었다($P < 0.05$). 따라서 본 결과는 인공수정 처리 과정에서 시베리아 철갑상어 난과 러시아 철갑상어 정자간 수정에 의한 차단 기작(fertilization barrier)이 없음을 의미하며, 동일 배수체 수준을 가진 *Acipenser* 속 종들간 높은 생존율을 가지는 잡종 형성 가능하고 또한 자연계에서도 종종 잡종 유전형이 관찰된다는 종래의 보고들과 상통한다(Ludwig, 2006; Teskov et al., 2008; Schrey et al., 2011). *Acipenser* 속 어류의 정자 형태에 관한 기존의 연구들에서 러시아 철갑상어의 정자가 시베리아 철갑상어 정자에 비해 상대적으로 큰 머리 지름(diameter of sperm head)을 갖는다고 보고되어 있지만(Psenicka et al., 2007; Hatef et al., 2012), 본 연구 결과 두 종간 정자 크기의 차이가 수정 장벽으로 작용하지는 않은 것으로 판단된다. 반면 본 연구에서 동일한 러시아 철갑상어 정액을 이용하여 생산한 잡종 및 러시아 철갑상어 그룹간 비교에서 오히려 잡종 그룹에서 더 높은 수정률이 관찰되었는데, 이는 본 연구의 수정 실험의 경우 정자의 질 보다는 난질이 수정율에 더 많은 영

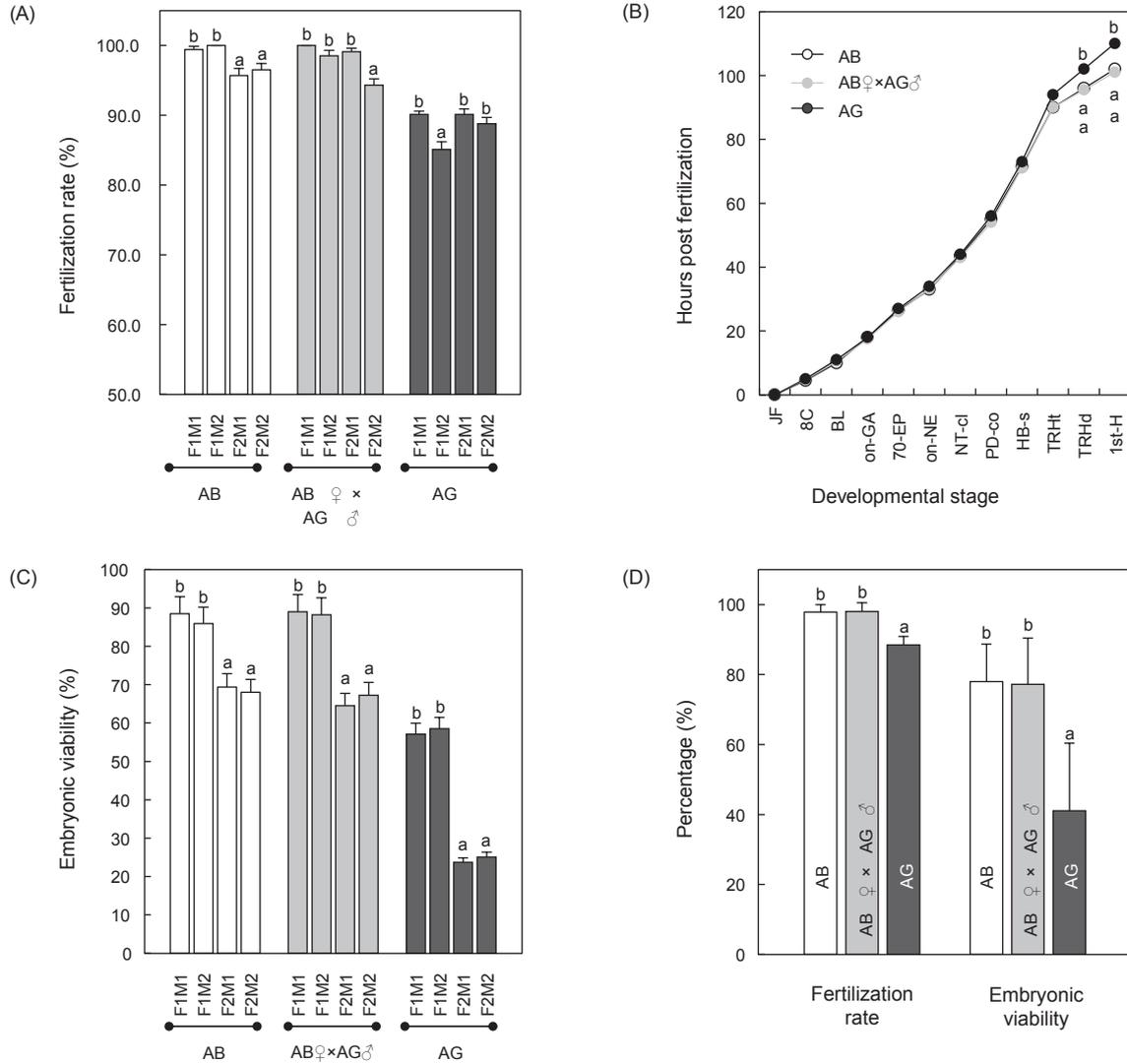


Fig. 1. Fertilization rates (A), developmental speed (B) and embryonic viability (C) of Siberian sturgeon *Acipenser baerii* (AB), Russian sturgeon *A. gueldenstaedtii* (AG) and their hybrid offspring (AB ♀ x AG ♂). For each genotype, four fertilization groups were produced by 1:1 individual mating using two females and two males. Abbreviations of developmental stages are just fertilization (JF), eight-cell stage (8C), blastula (BL), onset of gastrulation (on-GA), 70% epiboly cover (70-EP), onset of neurulation (on-NE), neural tube closed (NT-cl), pronephric duct collected (PD-co), heat beating with s-shaped heart (HB-s), tail reaching heart (TRHt), tail reaching head (TRHd), and the first advanced hatching (1st-H). Data from fertilization batches (A and C) were averaged within a genotype (D). Mean±SDs with different letters are significantly different ($P < 0.05$) based on ANOVA followed by Duncan's multiple range tests.

향을 끼쳤기 때문에 판단된다.

배 발생 속도의 경우, 꼬리 신장기(TRHt 단계)까지의 발생 구간에서는 시베리아 철갑상어 및 러시아 철갑상어 양친의 배 발생 속도 자체가 큰 차이가 없었으며, 유도된 잡종 배 역시 양친과 유사한 발생 속도를 나타내었다($P > 0.05$). 하지만 꼬리 신장기 이후 최초 부화가 일어나는 시점까지의 기간은 시베리아 철갑상어가 러시아 철갑상어보다 유의적으로 짧았고($P < 0.05$), 잡종의 경우 모계인 시베리아 철갑상어와 유사하였다($P > 0.05$)

(Fig. 1B). 꼬리 신장기 이후 최초 부화시점이 러시아 철갑상어에서 시베리아 철갑상어 및 잡종 그룹에 비해 지연되는 정확률 요인에 대해서는 추후 연구가 필요한 상태이며 부화 샘(hatching gland)의 발달 및 부화 효소(hatching enzyme)의 활성 차이 등에 관한 생화학적 조사들이 필요할 것이다(Nagasawa et al., 2015, 2016). 한편, 러시아 철갑상어 배의 외부 젤리 층(outer jelly coat)이 시베리아 철갑상어에 비해 더 두껍고 점성이 보다 높다는 최근의 보고되었는데(Park, 2018), 이 역시 러시아 철갑

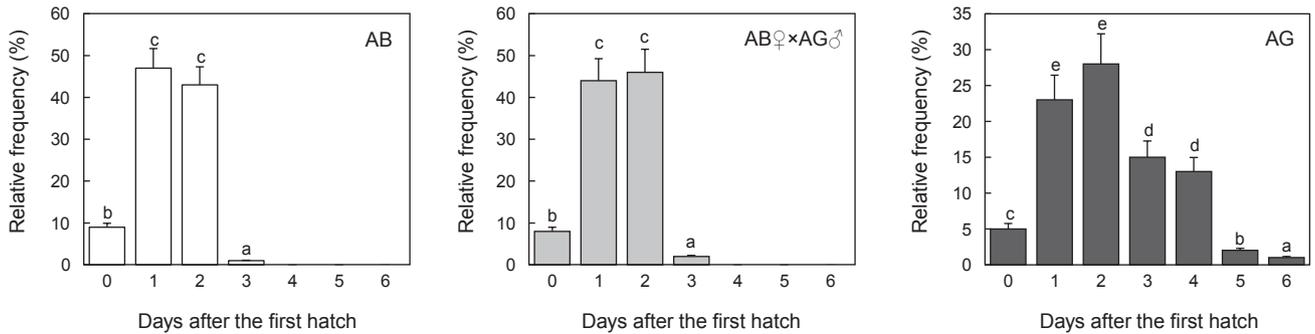


Fig. 2. Temporal patterns of hatching event in Siberian sturgeon *Acipenser baerii* (AB), Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* (AG) and their hybrid offspring (AB ♀×AG ♂). Mean±SDs with different letters are significantly different ($P<0.05$) based on ANOVA followed by Duncan's multiple range tests.

상어에서의 최초 부화가 상대적으로 지연되는 본 연구의 관찰 결과와 일맥 상통한다고 생각된다.

발생 배의 형태학적 특징의 경우, 본 연구에서 조사한 3개 교배 그룹 모두에서 전 발생 구간에 걸쳐 큰 차이가 없었다. 종래 선행 문헌에서 철갑상어의 난의 색, 형태, 크기 등이 종에 따라 육안 관찰 시 다르다고 기술된 바 있으나(Dettlaff et al., 1993), 본 연구의 경우 시베리아 철갑상어 및 러시아 철갑상어 모두에서 개체간 편차가 있어 두 양친 종 및 잡종을 형태적으로 선명히 구분할 수 있는 육안적 관찰 기준의 설정은 불가능하였다. 부화 자어의 외형적 형태 역시 잡종 및 양친 모두 유사하였다(Park et al., 2013b, Kim et al., 2018).

발생 배의 생존율(embryonic viability)을 부화 직전 시점에서 측정된 결과, 시베리아 철갑상어의 수정 그룹들은 68.0-88.5%의 생존율을, 러시아 철갑상어의 수정 그룹들은 23.7-58.5%를, 그리고 잡종의 수정 그룹들은 64.5-89.0%의 생존율을 나타내었다(Fig. 1C). 각 교배군 내에서 수정 그룹별 유의적인 편차가 있었지만 교배군별 평균 값들간 비교 시 시베리아 철갑상어($78.0\pm 10.7\%$)와 잡종($77.2\pm 13.2\%$)이 서로 유사한 수준의 생존율을 나타내었고($P>0.05$) 러시아 철갑상어($41.1\pm 19.3\%$)가 상대적으로 낮은 생존율을 보였다($P<0.05$) (Fig. 1D). 따라서 본 연구 결과는 수정률 결과에서와 마찬가지로 배 생존율의 경우 사용한 암컷의 난질에 보다 직접적인 영향을 받음을 시사하고 있으며, 본 연구에서 유도한 잡종의 유전형 자체가 배의 생존율에 부정적인 영향을 끼치지 않음을 알 수 있다.

부화 종료 시점까지의 소요 시간

최초 부화가 관찰된 직후부터 부화(hatching event)가 종료되는 시점까지의 시간(time window)의 경우 시베리아 철갑상어가 러시아 철갑상어에 비해 훨씬 짧게 나타나 기존의 보고와 잘 일치하였으며(Park et al., 2013b, Kim et al., 2018), 잡종 그룹의 경우 모계인 시베리아 철갑상어 그룹과 유사하였다(Fig. 2). 시베리아 철갑상어와 잡종 그룹의 경우 첫 부화가 관찰된 시점

에서 3일 이내 조사 대상의 모든 배가 부화에 성공하였고(최종 부화율=100%) 대부분의 배는 1일째 및 2일째 대량 부화(mass hatching)가 일어나는 것으로 관찰되었다. 하지만 러시아 철갑상어의 경우 비록 관찰 개시 후 1일째와 2일째 가장 높은 빈도로 부화가 유발되었지만 앞서 두 유전형 그룹들과 달리 3일째 이후에도 상당 비율의 배들에서 부화가 진행되었으며 궁극적으로 6일째 이후에도 일부 부화하지 않는 배가 잔존하였다(최종 부화율= $87.5\pm 3.9\%$). *Acipenser* 종들은 동일 시점에 수정된 배 집단(embryonic batch)일지라도 부화가 일어나는 시점이 배아 별로 큰 편차가 있어, 실제 첫 부화부터 최종 부화 종료시점까지 수 일 이상의 장시간이 소요되는 것으로 알려져 있다(Dettlaff et al., 1993; Chebanov and Galich, 2011). 때문에 부화된 난황자어와 아직 부화하지 않은 배가 동일 수조에서 비교적 장시간 혼재하므로 인공종자생산 측면에서 해당 수조의 수질 관리 및 부화 자어의 관리에 불편함을 초래하며, 또한 부화 종료 시점에서 서로 상이한 발달 단계를 갖는 부화 자어 집단이 형성될 수 있음이 보고된 바 있다(Park et al., 2013b). 이러한 문제점은 추후 pigment 배출에 따른 첫 인공 먹이 공급 시점을 정확하게 판정하기 어려워 자어의 생존 및 성장의 저하를 야기할 수 있는 부정적인 결과를 야기시킬 수 있다고 역시 보고된 바 있다(Gisbert and Williot, 1997; Gisbert et al., 2003). 때문에 최근 연구에 의해 부화 직전 배아의 배양 온도를 조절함으로써 해당 그룹의 부화 동기화(synchronized hatching event)를 유도하기 위한 연구들이 수행된 바 있으나, 러시아 철갑상어의 경우 시베리아 철갑상어에 비해 그 효과가 상대적으로 낮다고 보고된 바 있어 본 연구의 결과와 일치하였다(Park et al., 2013b; Kim et al., 2018). 본 연구에서, 잡종의 부화 동기화 패턴은 모계인 시베리아 철갑상어와 유사하게 나타났는데, 이는 앞서 최초 부화 시점에 관한 결과와 마찬가지로 철갑상어 배의 부화 패턴이 난의 특성과 밀접하게 연관되어 있음을 보여준다. 따라서 추후 본 연구에서는 생산하지 않은 상반교배(reciprocal) 잡종(즉, 러시아 철갑상어 암컷과 시베리아 철갑상어 수컷간 잡종)을 유도하여 상반교배

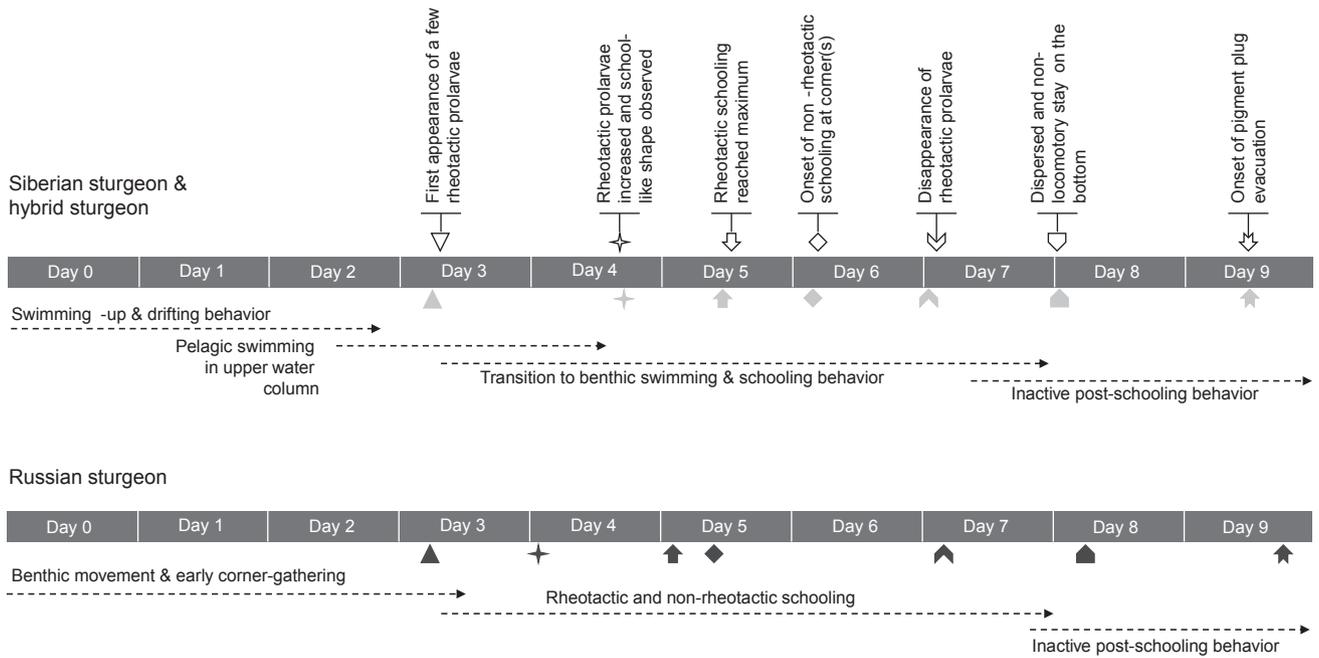


Fig. 3. Schematic summary of the behavioral modifications of Siberian sturgeon *Acipenser baerii*, Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* and their hybrid offspring during prolarval period (Day 0 to Day 9). Time points of characteristic behavioral appearances of Siberian sturgeon, hybrid and Russian sturgeon are indicated by open, grey and black markers, respectively. Behavioral criteria assessed in this study can be referred to Gisbert and Solovyev (2018) and Kim et al. (2019).

잡종과 양친의 부화 패턴을 함께 비교한다면 보다 직접적인 설명이 가능할 것이다.

잡종 자어의 생존율 및 유영 패턴의 변화

최초 수송 시점부터 부화 9일째까지 시베리아 철갑상어와 잡종 그룹에서는 모든 반복구 수조에서 94% 이상의 높은 자어 생존율을 보였으며(시베리아 철갑상어=96.8±2.1% 및 잡종=97.3±1.9%) 두 그룹간 차이는 없었다(P>0.05). 반면 러시아 철갑상어의 경우 91.3±2.8%의 평균 자어 생존율을 보여 다른 두 그룹들에 비해 낮은 생존율을 보였다(P<0.05).

부화 직후 잡종 자어는 모계인 시베리아 철갑상어 자어와 유사한 유영 특성을 나타내었다. 시베리아 철갑상어 부화 자어와 마찬가지로 수조 전반에 걸쳐 흩어진 상태로 '표류 행동(drifting behavior)'으로 알려진 유영 행동[수층 표면(water surface)을 향한 능동적인 유영(swimming-up) 후 자유 낙하(passive sinking/drift)]을 보였다(Gisbert et al., 1999). 반면 러시아 철갑상어는 선행 연구결과와 마찬가지로 전형적인 표류 움직임을 거의 보이지 않았으며 주로 바닥면 또는 수조 코너에 모이는 행동을 나타내었다(Kim et al., 2019). 이후 자어의 발달이 진행되면서 잡종 그룹의 자어들은 상층부 원거리 유영(pelagic swimming in upper water column), 바닥 유영으로의 전환(transition to benthic swimming), 주류성(rheotaxis), 군집성(schooling)

및 군집 후 비활성기(non-locomotory post-schooling behavior)를 순차적으로 나타내었으며(Gisbert and Solovyev, 2018), 전체적인 행동 개시 시점과 지속 기간은 모계인 시베리아 철갑상어와 매우 유사하였다(Fig. 3). 반면 부계의 러시아 철갑상어는 전 자어 기간 중 표층/상층 유영은 거의 보이지 않았고 부화 후 코너에서 서로 모이는 행동(early corner-gathering behavior)을 보이며 주류성 및 비주류성 군집기간이 시베리아 철갑상어와 잡종 그룹들보다 긴 기간동안에 걸쳐 관찰되는 차이를 보였다(Kim et al., 2019). 부화 9일째 모든 교배 그룹에서 pigment plug의 배출이 관찰되기 시작하였는데, 본 연구에서 정량적 평가는 없었으나 시베리아 철갑상어 및 잡종 그룹이 러시아 철갑상어에 비해 보다 신속하고 활발한 pigment plug 배출을 개시하는 경향을 관찰할 수 있었다.

본 연구의 관찰 실험 결과, 시베리아 철갑상어 암컷과 러시아 철갑상어 수컷간 유도된 잡종은 부화 후 자어 발달시기에도 부계 보다는 모계를 더 닮은 유영행동 발달 패턴(ontogenetic behavioral pattern)을 보임을 알 수 있었다. 그러나 본 조사는 실제 철갑상어 종자 생산 조건을 준용하여 설계된 시험조건에서 육안 관찰에 의해 특징적인 행동의 출현 및 소멸 시기를 위주로 수행된 조사이므로 향후 정확한 마리 수의 객관적인 정량 측정에 의한 양적 변화 경향을 연속적으로 표현할 수 있는 보다 자세한 후속 연구가 뒤따라야 할 것이다. 또한 본 연구를 통해서 잡

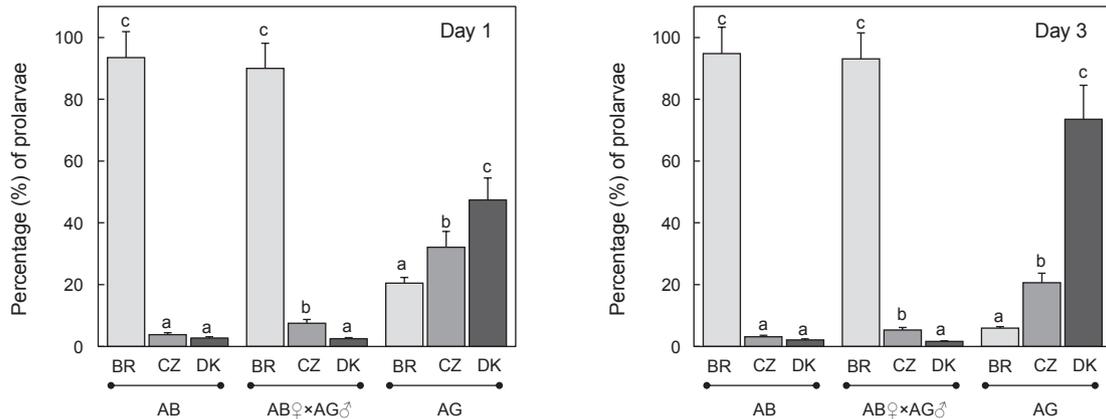


Fig. 4. Phototactic characteristics of Siberian sturgeon *Acipenser baerii* (AB), Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* (AG) and their hybrid offspring (AB ♀×AG ♂), based on illumination preference tests on Day 1 and Day 3. BR, bright section (900-1000 lx); DK, dark section (10-20 lx); CZ, central zone (90-100 lx) intervening BR and DK sections. Mean±SDs with different letters (a-c) within a genotype are significantly different ($P<0.05$) based on ANOVA followed by Duncan's multiple range tests.

종의 전반적인 유영 행동 발달 패턴이 부계보다는 모계를 더 닮는다는 점을 제시할 수 있으나, 본 연구에서 이용한 관찰 조건과 다른 다양한 시험조건 변수들(자어의 밀도, 수류의 세기, 광조건, 온도 등)을 고려한 추가적인 조사 역시 본 연구 결과를 뒷받침하기 위해 필요할 것이다.

잡종의 주광성 특징

빛 선호도 조사 결과, 부화 1일째의 시베리아 철갑상어 자어는 투입 직후 신속하게 보다 밝은 빛이 비추어지는 영역으로 이동하기 시작하였고, 10분 경과 후 대부분 개체(3반복 조사 평균 $93.5 \pm 8.0\%$)들이 BR 구역에서 머물러 있었다. BR 구역 외에는 오직 소수의 개체만이 CZ 구역(평균 $3.8 \pm 0.4\%$) 또는 DK 구역(평균 $2.7 \pm 0.4\%$)에서 관찰되었다. 특히 BR 구역으로 이동한 개체들 대부분은 수층 표면으로 올라와 광원 쪽에 더 근접하기 위한 행동(scooting behavior)을 보이는 등 전형적인 양성 주광성 특징을 잘 반영하였으며 종래 시베리아 철갑상어의 주광성 특징에 관한 연구 보고와 잘 일치하였다(Gisbert et al., 1999; Kim and Nam, 2018). 반면 부화 1일째의 러시아 철갑상어들은 세 구역 모두에서 관찰되었지만 DK 구역에서(평균 $47.4 \pm 6.1\%$) 가장 높은 빈도로 관찰되었고 그 다음 CZ 구역에서(평균 $32.1 \pm 3.6\%$), 그리고 BR 구역에서는 상대적으로 가장 적은 마리 수만이 관찰되어(평균 $20.5 \pm 1.9\%$) 시베리아 철갑상어와는 반대의 양상을 나타내었다($P<0.05$). 잡종의 경우 부계보다는 모계의 결과치와 훨씬 더 유사한 빈도를 나타내어 BR, CZ 및 DK 구역에서 각각 $90.0 \pm 9.4\%$, $7.5 \pm 0.8\%$ 및 $2.5 \pm 0.4\%$ 의 빈도를 나타내었다(Fig. 4).

부화 3일째의 자어들을 대상으로 반복 조사를 실시한 결과, 시베리아 철갑상어 및 잡종 그룹은 부화 1일째와 유사한 결과를 나타내었고, BR 구역에서의 시베리아 철갑상어($94.8 \pm 8.5\%$)

및 잡종 그룹($93.1 \pm 9.1\%$)간 유의적 차이 역시 관찰되지 않았다($P>0.05$). 하지만 러시아 철갑상어의 경우 부화 1일째 보다 BR, CZ 및 DK 구역간 자어 빈도의 차이가 더 심화되어 부화 3일째 DK 구역에서 자어 빈도($73.5 \pm 6.3\%$)가 부화 1일째($47.4 \pm 6.1\%$)와 비교 시 크게 증가하였다($P<0.05$) (Fig. 4). 따라서 본 연구 결과는 시베리아 철갑상어 암컷과 러시아 철갑상어 수컷간 유도된 잡종은 자어 발달 초기에 모체인 시베리아 철갑상어와 마찬가지로 선명한 양성 주광성 특성을 가짐을 알 수 있었다. 그러나 부화 1일째 및 3일째 모두에서 CZ 구역에 머문 잡종 자어의 빈도가 시베리아 철갑상어에 비해 높게 관찰되었으므로($P<0.05$) 잡종과 모계 그룹이 대등한 주광성 강도를 갖는지 여부를 결론 내기 위해서는 후속 검증 연구(광원의 세기, 광원까지의 이동 거리, 관찰 시간 등의 차등 조건 평가 등)가 추가로 필요할 것이다. 한편 러시아 철갑상어 자어의 경우 부화 3일째 광원을 회피하는 정도가 심화되었는데, 이는 러시아 철갑상어 자어의 유영 능력(지느러미 발달 등) 및 빛 감지 능력(눈의 발달)로 인해 능동적인 광원 회피 능력이 증가하였기 때문으로 생각되며, 러시아 철갑상어 자어의 지느러미 및 시각 발달이 부화 3-4일째 활발히 진행된다는 종래의 연구 보고들과 일맥 상통한다(Dettlaff et al., 1993; Kim et al., 2019).

이상의 결과에서 시베리아 철갑상어 암컷과 러시아 철갑상어 수컷간 인공수정 처리 시 수정 장벽 없이 접합자의 형성이 가능하며, 형성된 잡종 배아의 발생 및 부화 특징은 모계 형질을 더 닮는 것으로 나타났다. 부화 이후 유영행동 발달 패턴 및 주광성 특징 등 자어 시기(prolarval stage)의 잡종의 초기 형질들 역시 부계보다는 모계의 형질과 더 유사하였다. 따라서 본 연구결과는 AB 우×AG ♂ 잡종 유전형을 대상으로 인공종자 생산 시 자어 단계에서 시베리아 철갑상어의 자어 생산 및 관리 조건을 준용할 수 있음을 보여주고 있다. 본 연구를 토대로 자어기 이후

단계에서 양친 형질이 차등 발현 양상이 지속 또는 변화 되는지에 관한 후속 평가가 뒤따라야 할 것이다.

사 사

이 연구는 부경대학교 자율창의학술연구비(2017)의 지원에 의해서 수행되었습니다. 아울러 철갑상어 시료 확보에 도움을 주신 디노빌영어조합법인에 감사드립니다.

References

- Bartley DM, Rana K and Immink AJ. 2001. The use of inter-specific hybrids in aquaculture and fisheries. *Rev Fish Biol Fish* 10, 325-337. <https://doi.org/10.1023/A:1016691725361>.
- Bronzi P and Rosenthal H. 2014. Present and future sturgeon and caviar production and marketing: a global market overview. *J Appl Ichthyol* 30, 1536-1546. <https://doi.org/10.1111/jai.12628>.
- Chebanov MS and Galich EV. 2011. Sturgeon hatchery manual. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper 558, Rome, Italy.
- Chevassus B. 1983. Hybridization in fish. *Aquaculture* 33, 245-262. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(83\)90405-2](https://doi.org/10.1016/0044-8486(83)90405-2).
- Dettlaff TA, Ginsburg AS and Schmalhausen OI. 1993. Sturgeon fishes - developmental biology and aquaculture. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, Germany. 1-300.
- Gisbert E and Nam YK. 2018. Early ontogeny in the Siberian sturgeon. In: *The Siberian sturgeon (Acipenser baerii, Brandt, 1869) Vol. 1 - biology*. Williot P, Nonnotte G, Vizziano-Cantonnet D and Chebanov M, eds. Springer International Publishing, Cham, Switzerland, 131-157.
- Gisbert E and Ruban GI. 2003. Ontogenic behavior of Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*: a synthesis between laboratory tests and field data. *Environ Biol Fishes* 67, 311-319. <https://doi.org/10.1023/A:1025851502232>.
- Gisbert E and Solovyev M. 2018. Behaviour of early life stages in the Siberian sturgeon. In: *The Siberian sturgeon (Acipenser baerii, Brandt, 1869) Vol. 1 - biology*. Williot P, Nonnotte G, Vizziano-Cantonnet D and Chebanov M, eds. Springer International Publishing, Cham, Switzerland, 159-172.
- Gisbert E and Williot P. 1997. Larval behaviour and effect of the timing of initial feeding on growth and survival of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) larvae under small scale hatchery production. *Aquaculture* 156, 63-76. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00086-0](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00086-0).
- Gisbert E, Williot P and Castelló-Orvay F. 1999. Behavioural modifications in the early life stages of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*, Brandt). *J Appl Ichthyol* 15, 237-242. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.1999.tb00242.x>.
- Hatef A, Alavi SMH, Rodina M and Linhart O. 2012. Morphology and fine structure of the Russian sturgeon, *Acipenser gueldenstaedtii* (Acipenseridae, Chondrostei) spermatozoa. *J Appl Ichthyol* 28, 978-983. <https://doi.org/10.1111/jai.12056>.
- Kim DS, Nam YK and Park IS. 1995. Survival and karyological analysis of reciprocal diploid and triploid hybrids between mud loach (*Misgurnus mizolepis*) and cyprinid loach (*Misgurnus anguillicaudatus*). *Aquaculture* 135, 257-265. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(95\)01031-9](https://doi.org/10.1016/0044-8486(95)01031-9).
- Kim EJ and Nam YK. 2018. Anesthetic protocol for microinjection-related handling of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*; Acipenseriformes) prolarvae. *PLoS One* 13, e0209928. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209928>.
- Kim EJ, Park CH and Nam YK. 2018. Effects of incubation temperature on the embryonic viability and hatching time in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*). *Fish Aquat Sci* 21, 23. <https://doi.org/10.1186/s41240-018-0101-4>.
- Kim EJ, Park CH and Nam YK. 2019. Ontogenetic behavior of farm-bred Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) prelarvae in a diel photoperiodic cycle: behavioral modifications in response to light intensity. *Fish Aquat Sci* 22, 4. <https://doi.org/10.1186/s41240-019-0118-3>.
- Kim KY, Lee SY, Song HY, Park CH and Nam YK. 2009. Complete mitogenome of the Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* (Acipenseriformes; Acipenseridae). *Korean Fish Aquat Sci* 12, 35-43. <https://doi.org/10.5657/fas.2009.12.1.035>.
- Loew ER and Sillman AJ. 1998. An action spectrum for the light-dependent inhibition of swimming behavior in newly hatched white sturgeon, *Acipenser transmontanus*. *Vis Res* 38, 111-114. [https://doi.org/10.1016/S0042-6989\(97\)00163-6](https://doi.org/10.1016/S0042-6989(97)00163-6).
- Ludwig A. 2006. A sturgeon view on conservation genetics. *Eur J Wildl Res* 52, 3-8. <https://doi.org/10.1007/s10344-005-0006-2>.
- Nagasawa T, Kawaguchi M, Sano K and Yasumasu S. 2015. Sturgeon hatching enzyme and the mechanism of egg envelope digestion: insight into changes in the mechanism of egg envelope digestion during the evolution of ray-finned fish. *J Exp Zool B Mol Dev Evol* 324, 720-732. <https://doi.org/10.1002/jez.b.22660>.
- Nagasawa T, Kawaguchi M, Yano T, Sano K, Okabe M and Yasumasu S. 2016. Evolutionary changes in the developmental origin of hatching gland cells in basal ray finned fishes. *Zool Sci* 33, 272-281. <https://doi.org/10.2108/zs150183>.
- Nam YK, Lee SY and Kim EJ. 2018. Evaluation of candidate housekeeping genes for the normalization of RT-qPCR analysis using developing embryos and prolarvae in Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii*. *Korean J Fish Aquat Sci* 51, 95-106. <https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0095>.
- Park CH and Chapman FA. 2005. An extender solution for the short-term storage of sturgeon semen. *North Am J Aquacult* 67, 52-57. <https://doi.org/10.1577/FA03-068.1>.
- Park CH, Lee SY, Kim DS and Nam YK. 2013a. Embryonic development of Siberian sturgeon *Acipenser baerii* under

- hatchery conditions: an image guide with embryological descriptions. Korean Fish Aquat Sci 16, 15-23. <https://doi.org/10.5657/FAS.2013.0015>.
- Park CH, Lee SY, Kim DS and Nam YK. 2013b. Effects of incubation temperature on egg development, hatching and pigment plug evacuation in farmed Siberian sturgeon *Acipenser baerii*. Korean Fish Aquat Sci 16, 25-34. <https://doi.org/10.5657/FAS.2013.0025>.
- Park CH. 2018. Artificial seedling propagation and caviar production in farmed Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) and Russian sturgeon (*A. gueldenstaedtii*). Ph.D. Dissertation, Pukyong National University, Busan, Korea.
- Psenicka M, Alavi SMH, Rodina M, Gela D, Nebesarova J and Linhart O. 2007. Morphology and ultrastructure of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) spermatozoa using scanning and transmission electron microscopy. Biol Cell 99, 103-115. <https://doi.org/10.1042/BC20060060>.
- Ryu JH, Kim MS, Kang JH, Kim DH, Nam YK and Gong SP. 2018. Derivation of the clonal-cell lines from Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) head-kidney cell lines and its applicability to foreign gene expression and virus culture. J Fish Biol 92, 1273-1289. <https://doi.org/10.1111/jfb.13585>.
- Schrey AW, Boley R and Heist EJ. 2011. Hybridization between pallid sturgeon *Scaphirhynchus albus* and shovelnose sturgeon *Scaphirhynchus platorynchus*. J Fish Biol 79, 1828-1850. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2011.03123.x>.
- Shen L, Shi Y, Zou YC, Zhou XH and Wei QW. 2014. Sturgeon aquaculture in China: status, challenge and proposals based on nation-wide surveys of 2010-2012. J Appl Ichthyol 30, 1547-1551. <https://doi.org/10.1111/jai.12618>.
- Tsekov A, Ivanova P, Angelov M, Atanasova S and Bloesch J. 2008. Natural sturgeon hybrids along Bulgarian Black Sea coast and in Danube River. Acta Zool Bulg 60, 311-316.
- Zadeh HE, Rafiee G, Eagderi S, Kazemi R and Poorbagher H. 2013. Effects of different photoperiods on the survival and growth of beluga sturgeon (*Huso huso*) larvae. Intl J Aquat Biol 1, 36-41.