



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

수 산 학 석 사 학 위 논 문

시베리아 철갑상어(*Acipenser baerii*)와
러시아 철갑상어(*A. gueldenstaedtii*) 간
상반교배 잡종의 유도 및 초기
생물학적 특징 평가

2018년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 물 학 과

김 은 정

수 산 학 석 사 학 위 논 문

시베리아 철갑상어(*Acipenser baerii*)와
러시아 철갑상어(*A. gueldenstaedtii*) 간
상반교배 잡종의 유도 및 초기
생물학적 특징 평가

지도교수 남 윤 권

이 논문을 수산학석사 학위논문으로 제출함

2018년 2월

부 경 대 학 교 대 학 원

수 산 생 물 학 과

김 은 정

김은정의 수산학석사 학위논문을 인준함.

2018년 2월 23일

위 원 장 이 학 박 사 김 동 수 (인)

위 원 농 학 박 사 공 승 표 (인)

위 원 수 산 학 박 사 남 윤 권 (인)



목 차

| | |
|----------------------------------|------|
| 목 차 | i |
| 표 목차 (List of Tables) | iv |
| 그림 목차 (List of Figures) | v |
| 영문 요약 (Abstract) | viii |
| I. 서 론 | 1 |
| II. 재료 및 방법 | 5 |
| 1. 친어 선발 및 잡종 그룹 유도 | 5 |
| 가. 성숙친어 선발 | 5 |
| 나. 호르몬에 의한 인공산란 유도 및 인공수정 | 5 |
| 다. 상반 교배 잡종 실험군의 유도 | 6 |
| 2. 수정률, 배 발생 및 부화율 평가 | 7 |
| 가. 수정률, 발생 배의 생존율 및 부화율 평가 | 7 |
| 나. 발생 관찰 및 기록 | 8 |
| 3. 초기 난황 자어의 발달 | 8 |

| | |
|---|-----------|
| 가. 난황 자어의 생존 및 성장 조사 | 10 |
| 나. 형태 분화 조사 | 10 |
| 다. 주광성 특성 조사 | 11 |
| 4. 유전학적 동정 | 12 |
| 가. 미토콘드리아 DNA를 이용한 유전자 마커 조건 | 12 |
| 나. 핵 DNA를 이용한 유전자 마커 조건 | 13 |
| 5. 잡종 치어의 골격 분석 | 14 |
| 6. 초기 생존율 및 성장 조사 | 16 |
| 가. 유어기 생존율 및 성장 평가 | 16 |
| III. 결과 | 18 |
| 1. 잡종 교배군의 수정률, 배 발생률 및 부화율 | 18 |
| 2. 잡종 교배군의 초기 자어(prolarvae) 발달 특징 | 21 |
| 가. 난황 자어의 성장 | 21 |
| 나. 자어의 형태학적 특징 | 21 |
| 다. 주광성 특징 | 28 |
| 3. 잡종의 유전학적 동정 | 31 |
| 가. 핵 DNA 마커를 이용한 잡종 유전형 검증 | 31 |
| 나. 미토콘드리아 DNA 마커를 이용한 모계유전의 검증 | 31 |
| 4. 잡종 치어의 형태학적 특징 | 34 |
| 가. 외관상 특징 | 34 |
| 나. 골격 형질의 특징 | 34 |

| | |
|----------------------------------|----|
| 6. 유어기의 잡종 교배군의 생존 및 초기 성장 | 36 |
| IV. 고찰 | 45 |
| 국문요약 | 54 |
| 감사의 글 | 56 |
| 참고문헌 | 58 |



표 목차(List of Tables)

| | |
|--|----|
| Table 1. Staging of embryo development used in this study | 9 |
| Table 2. Oligonucleotide primers and thermal cycling conditions used in this study | 15 |

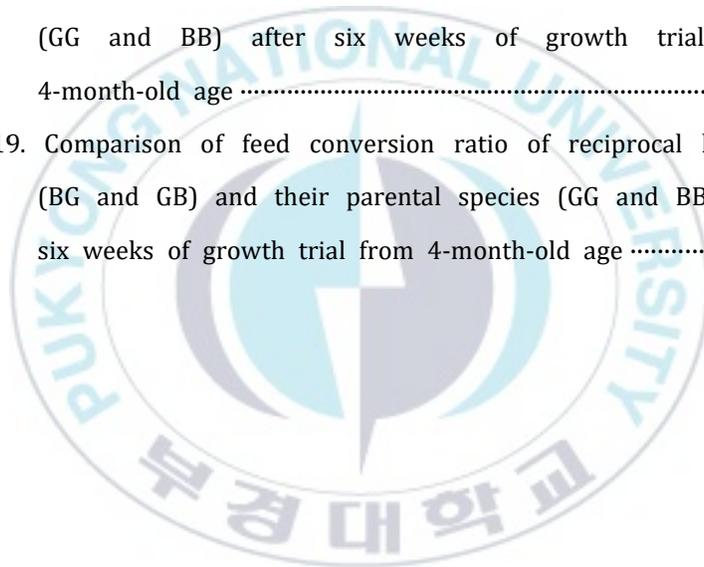


그림 목차(List of Figures)

| | |
|--|----|
| Fig. 1. Fertilization rate and embryonic viability of reciprocal hybrids (BG and GB) as relative to those of parental species (BB and GG) | 19 |
| Fig. 2. Embryos at pre-hatching stage from reciprocal hybrids (BG and GG) and their parental species (BB and GG) | 20 |
| Fig. 3. Hatching success (%) of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (BB and GG) | 22 |
| Fig. 4. Length and body weight development of reciprocal hybrids and (BG and GB) their parental species (BB and GG) up to yolk plug evacuation (9 DPH) | 23 |
| Fig. 5. Larval development and ontogeny of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) at just hatching (0 day post hatching; 0 DPH) | 24 |
| Fig. 6. Larval developments of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) at 2 DPH | 26 |
| Fig. 7. Larval development (upper: lateral view, lower: ventral view) of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) at 4 DPH | 27 |
| Fig. 8. Larval development (upper: dorsal view of anterior part of | |

| | |
|---|----|
| body, lower: pelvic region showing the concentrated pigment plug, PP) of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) at 6 DPH | 29 |
| Fig. 9. Larval development of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) at 14 DPH | 30 |
| Fig. 10. Phototaxis responses of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) | 32 |
| Fig. 11. Nuclear DNA-based genetic verification of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) | 33 |
| Fig. 12. Maternal inheritance of mtDNA marker in reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) | 35 |
| Fig. 13. Ventral view of reciprocal hybrid fry (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after cartilage and bone staining | 37 |
| Fig. 14. Lateral view of reciprocal hybrid fry (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after cartilage and bone staining | 38 |
| Fig. 15. Dorsal view of reciprocal hybrid fry (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after cartilage and bone staining | 39 |
| Fig. 16. Caudal view of reciprocal hybrid fry (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after cartilage and bone staining | |

| | |
|---|----|
| staining | 40 |
| Fig. 17. Comparison of body weight of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after six weeks of growth trial from 4-month-old age | 42 |
| Fig. 18. Comparison of length growth and condition factor of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after six weeks of growth trial from 4-month-old age | 43 |
| Fig. 19. Comparison of feed conversion ratio of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after six weeks of growth trial from 4-month-old age | 44 |



**Evaluation of early performances of induced reciprocal hybrids
between Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) and Russian
sturgeon (*A. gueldenstaedtii*)**

Eun Jeong Kim

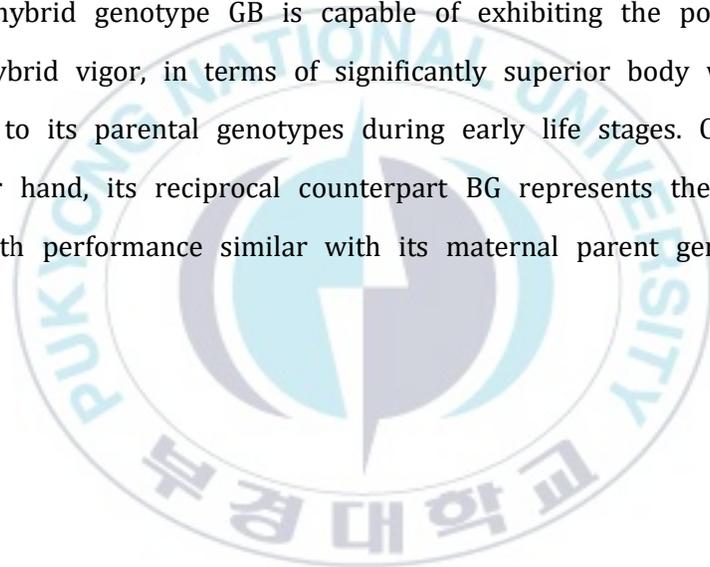
Department of Fisheries Biology, The Graduate School
Pukyong National University

Abstract

Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) exhibits fast growth and high survival rates during early life stages under artificial seedling production conditions. On the other hand, Russian sturgeon (*A. gueldenstaedtii*) represents higher market preference compared to Siberian sturgeon, which is mainly attributed by more valued caviar and external morphology. However, practical conditions for artificial seedling production of Russian sturgeon have been less established as relative to those of Siberian sturgeon, particularly in Korean aquaculture domain. In this study, artificial hybridization between two

species was carried out in a reciprocal manner [genotype abbreviations: *A. baerii* parent (BB), *A. baerii* female x *A. gueldenstaedtii* male (BG), *A. gueldenstaedtii* female x *A. baerii* male (GB), and *A. gueldenstaedtii* parent (GG)], and examined the effects of hybridization on the embryonic development, hatchability and larval performances. Fertilization rates were not significantly affected by reciprocal hybridization itself, while embryonic viability and hatchability of hybrid genotypes were similar with those of maternal species. Prolarvae of four genotypes showed a similar degree of early survival rate, although patterns of ontogenic development and pigment plug evacuation were genotype-dependent. Genotypes BB and BG showed more active swimming behavior than did GB and GG. Phototactic responses of BG and GB hybrids were more similar with their maternal parents BB and GG, respectively. Reciprocal hybrid genotypes could be successfully identified by using PCR typing of both nuclear and mitochondrial DNA markers. After six-week growth trial from age of about 4 months after hatching (initial average body: 38.5±4.6 g), hybrid group GB showed the highest average body weight gain, while the group

GG revealed the lowest score. Hybrid group BG displayed the average body weight similar with that of Siberian sturgeon group BB. For the pattern of total length growth from the same growth trial, total length was the longest in GB and this highest score was followed by BB, BG and GG. Taken together, the hybrid genotype GB is capable of exhibiting the potential of hybrid vigor, in terms of significantly superior body weight gain to its parental genotypes during early life stages. On the other hand, its reciprocal counterpart BG represents the early growth performance similar with its maternal parent genotype (BB).



I. 서론

철갑상어(sturgeons)는 조기어강(Actinopterygii; superclass), 철갑상어목(Acipenseriformes)에 속하며 진화적 측면에서 현존하는 가장 오래된 원시 경골어류로 분류된다. 철갑상어들은 연골어류 그룹(Chondrostei; 연골성 경린류)에 속하며, 그 진화적 위치의 중요성 때문에 현존하는 경골어류(Teleostei)의 발생 및 진화연구에 중요한 모델로 여겨진다(Cho et al., 2007; Kim et al., 2009; Akbarzadeh et al., 2011). 또한 철갑상어는 캐비아 생산을 위한 원재료이며 고부가가치 수산 품종이다. 하지만 철갑상어는 그간의 남획 및 서식지 파괴 등으로 인해 자연 집단의 크기가 급속도로 줄어들었고, 현재 철갑상어목 전 어종이 멸종위기종으로 등록되어 있으며, 철갑상어 및 그 부산물의 상업적 이용을 위해서는 양식 생산에 의한 철갑상어의 인공 생산이 절대 대안이 되었다(Karpinsky, 2010; Webb and Doroshov, 2011). 따라서 상업적으로 유용한 대상 철갑상어 종에 관한 고효율 생물생산 기술 개발과 생산성 증대 기술 개발은 점점 더 중요시되고 있다.

우리나라의 경우 1990년대 외국으로부터 스틸렛 철갑상

어(*Acipenser ruthenus*) 치어가 도입되는 것을 기점으로 철갑상어 양식이 시작되었으며, 이후 뒤이어 여러 품종들이 도입되어 새로운 수산양식 자원으로서 그 가능성 타진 및 생물생산 기술 개발이 진행되고 있는 중이다(Seong and Baik, 1999). 이 중 시베리아 철갑상어(*A. baerii*)는 담수 철갑상어 종으로서 인공산란 유도 등 배우자 및 수정란 생산 기술이 비교적 잘 정립되어 있고, 상대적으로 여타 철갑상어 종들에 비해 초기 생존율과 초기 치어기 성장이 우수한 장점을 갖고 있다(Gisbert and Williot, 2002). 우리나라에서도 본 철갑상어 종에 대한 인공 산란유도 및 초기 생물 특징에 관한 연구들이 수행된 바 있고 성공적인 인공종묘생산 역시 보고된 바 있다(Park et al., 2013a,b). 반면 러시아 철갑상어(*A. gueldenstaedtii*)는 2000대 초 난황자어를 외국으로부터 도입하여 우리나라에 처음 소개되었으나 국내의 경우 아직 생식생물학적 연구 및 인공종묘생산 기술 개발이 거의 미비한 실정이며 최근에 들어 국내 양식산 친어로부터 시험적인 인공종묘 생산이 이루어짐에 따라 양식 대상 종으로서 본격적인 관심을 받기 시작하고 있는 어종이다(Park et al., 2013a). 본 철갑상어 어종은 일반적으로 초기 생존율과 성장률이 낮고 자·치어 관리가 어려운 어종으로 알려져 있다. 하지만 시베리아 철갑상어에 비해서 높은 시장 선호도(고가의 캐비아 및 시장에

서 더 선호하는 외형)를 갖고 있으며, 염분도 적응력이 뛰어나 담수뿐만 아니라 기수 조건에서의 생물생산이 가능한 장점을 가지고 있다(Natochin et al., 1985).

양식 어류를 대상으로 한 잡종 유도 기법(induced hybridization)은 서로 다른 두 종이 갖고 있는 각각의 장점들(유용 경제 형질 등)을 하나의 개체가 보유하도록 하기 위한 육종 기법으로서, 다양한 목적을 위해 여러 양식 어종들에서 시도된 바 있다(Bronzi et al., 2011). 종 간 잡종 유도의 성패는 유도된 잡종 자손의 초기 생존 능력(수정률, 부화율 및 자치어의 생존율)에 크게 좌우된다(McKay et al., 1992). 일반적으로 유도된 잡종 어류의 경우 형태 및 생리적인 특성 전반에 걸쳐 잡종 유도에 사용한 양친의 중간 형질을 나타내지만, 잡종 품종에 따라서 특정 형질이 모계 또는 부계 쪽을 특히 닮는 사례들 역시 보고된 바 있다(김 등, 1995). 특히 일부 잡종 어류의 경우, 모계와 부계의 양친 어종에서는 관찰되지 않은 신규 형질을 나타내거나 상업적으로 중요한 형질들에서(성장 및 생존 등) 양친보다 월등히 우수한 형질을 나타내는 잡종강세(hybrid vigor; heterosis)를 표현할 수 있음이 역시 보고된 바 있다(Rahman et al., 1995).

철갑상어는 *Acipenser* 속(genus) 또는 *Acipenseriformes*

과(family)내에서 생존력 있는 중간 잡종들이 비교적 쉽게 형성될 수 있는 것으로 알려져 있으며, 특히 동일한 배수성(ploidy level)을 갖는 철갑상어 종 간 교배 시 생식능력이 있는 잡종 생산이 가능함이 보고된 바 있다(Ginsburg and Dettlaff, 1991). 따라서 잡종 유도 기법은 철갑상어의 신품종 생산, 생물 생산성 개선 및 캐비아 생산 효율 개선을 위한 주요 육종 기법 중 하나로 활용되고 있다(Boscari et al., 2014). 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어 간 중간 잡종의 경우 일부 비 논문 형태의 기록물 또는 웹 문서 등에서 단편적으로 관찰할 수 있지만, 잡종 유도와 관련한 유도 효율, 발생특성, 생존율 등에 관한 정량적인 분석 자료(양친 유전형과의 형질 비교 등)에 대해서는 전무한 상태며, 특히 상반 교배 잡종들의 형질 비교에 관한 연구 자료는 아직 전무한 상태이다. 따라서 본 연구에서는 우리나라 주요 철갑상어 양식 후보종인 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어를 대상으로 두 종의 장점을 보유한 중간 잡종 품종의 생산 가능성을 타진하기 위해서 두 종간의 상반 교배 잡종(reciprocal hybrids)을 유도하고 초기 생물학적 특징을 조사하고자 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 친어 선발 및 잡종 그룹 유도

가. 성숙친어 선발

실험에 사용한 어류는 경상남도 함양군 소재의 디노빌 영어조합 법인에서 사육하고 있던 친어를 사용하였다. 철갑상어 잡종 교배군 생산을 위해 시베리아 철갑상어(*Acipenser baerii*)와 러시아 철갑상어(*A. gueldenstaettii*)의 성숙한 암컷과 수컷을 선발하기 위해서 암수 친어들을 대상으로 복부 미세절개를 통해 생식소 조직의 일부를 샘플링하여 polarization index (PI) 및 육안 성숙도 검사를 실시하였다(Park et al., 2013a).

나. 호르몬에 의한 인공산란 유도 및 인공수정

선발된 친어의 인공산란 유도는 Park et al. (2013)의 방법에 따라 산란유도 호르몬인 LHRH-a를 근육에 주사하여 수행하였다. 산란 유도에 사용한 친어들은 시베리아 철갑상어 암컷 1마리(어체중 17.0 kg) 와 수컷 2마리(어체중 4.7 및 5.5 kg), 러시아 철갑상어 암컷 1마리(어체중 12.2 kg)와 수컷 2마리(어체

중 6.0 및 7.0 kg)이었으며, 암컷의 경우 어체중 kg 당 10-15 μg 의 LHRH-a 농도로 1차 주사를 실시한 후 12 시간 경과 후 2차 주사(90-135 $\mu\text{g}/\text{kg}$)를 실시하였다. 반면 수컷의 경우 암컷의 2차 주사 시점에서 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 의 농도로 1회 주사를 수행하였다. 호르몬 주사한 암수 친어들은 12.5 °C의 산란 수조(300 x 100 x 45 cm)에 개별 수용하여 방란 및 방정 여부를 지속하여 관찰하였다. 수컷 친어들을 대상으로 주사 38시간째 제작한 catheter를 이용하여 채정 후 보관 희석액과 1:1로 혼합하여 수정에 사용되기 전까지 4 °C에 보관하였다(Park and Chapman, 2005). 배란이 확인된 암컷을 대상으로 미세절개 및 복부압박을 통해 난을 수거하였고 Park et al. (2013a)에서 기술한 습식 인공수정 방법을 통해 수정(insemination trial)을 유도하였다. 이후 Fuller's earth (Sigma-Aldrich)현탁액을 이용하여 수정란의 점성을 제거 후 18±1 °C의 수온에서 배 발생 및 부화를 유도하였다.

다. 상반 교배 잡종 실험군의 유도

상반 교배잡종 유전형과 양친 대조군 유전형 그룹을 생산하기 위해서 시베리아 철갑상어의 알과 시베리아 철갑상어의 정자 및 러시아 철갑상어의 정자 그리고 러시아 철갑상어의 알과 시베리아 철갑상어의 정자 및 러시아 철갑상어의 정자를 각

각 수정 시켰다. 교배 실험에 의해 본 실험에서 유도한 실험군들의 축약형은 다음과 같이 표기 하였다

BB: 시베리아 철갑상어(*A. baerii*) 암컷 x 시베리아 철갑상어 수컷

GG: 러시아 철갑상어(*A. gueldenstaedtii*) 암컷 x 러시아 철갑상어 수컷

BG: 시베리아 철갑상어 암컷과 러시아 철갑상어 수컷 간 교배 잡종

GB: 러시아 철갑상어 암컷과 시베리아 철갑상어 수컷 간 교배 잡종

2. 수정률, 배 발생 및 부화율 평가

가. 수정률, 발생 배의 생존율 및 부화율 평가

양친 및 상반교배 잡종 그룹의 수정률 및 발생 배의 생존율을 평가하기 위해서 수정률은 수정 후 약 2시간 후 전체 수정란 중 정확한 난할 개시를 시작하는 알의 비율을 백분율로 측정하였다. 반면 발생 배(embryo)의 생존율은 수정 9시간 후 (blastula), 19시간 후(gastrula), 55시간 후(체절 형성기) 및 101시간 후(꼬리 신장기)에 정상 발달을 하는 생존 배의 수를 측정

하여 역시 백분율로 평가, 잡종 그룹과 양친 그룹간의 차이 여부를 조사하였다. 부화율은 전체 수정란 중 부화 자어의 수를 백분율로 나타내어 조사하였다. 수정률, 발생 배의 생존율 및 부화율은 40개 이상의 발생 배를 대상으로 3반복 측정하여 각 유전형 그룹들 간 평균값을 구한 후 비교하였다.

나. 발생 관찰 및 기록

수정란은 부화까지 300 L의 수조(200 x 100 x 25 cm)에 지름 20 cm의 채반을 이용해 수용하였고 수온은 18 ± 0.5 °C로 유지하였다. 실험군의 배 발생 단계별 특징을 기록하기 위해 철갑상어 발생에서 대표적인 발생단계를 대상으로 4% paraformaldehyde에 고정하였고 관찰 직전까지 4 °C에 보관하였다. 관찰을 위한 발생 단계는 시베리아 철갑상어의 발생 단계를 기준으로 선정하였다(Park et al., 2013a; Table. 1). 고정한 배(embryo)는 해부 현미경(AZ100, Nikon, Japan)을 사용하여 관찰하였고 NIS-Elements BR image analysis software (Nikon)을 사용하여 촬영 및 분석을 실시하였다.

3. 초기 난황 자어의 발달

Table 1. Staging of embryo development used in this study

| Stages | Description | Time at 18°C (h) |
|---------------|--|-------------------------|
| 1 | Fertilization | 0 |
| 2 | The first cleavage | 2 |
| 3 | The second cleavage | 3 |
| 4 | Eight-cell stage at animal hemisphere | 4 |
| 5 | Sixteen-cell stage; irregular shapes of blastomeres | 5 |
| 6 | Irregular shapes of blastomeres also at vegetal hemisphere | 6 |
| 7 | Continued cleavages; blastomeres smaller with irregular shapes | 7 |
| 8 | Early blastula | 9 |
| 9 | Late blastula | 11 |
| 10 | Onset gastrulation | 19 |
| 11 | Typical dorsal lip formation | 20 |
| 12 | Epiboly covers two-third of embryo | 25 |
| 13 | Formation of large yolk plug | 28 |
| 14 | Formation of small yolk plug | 30 |
| 15 | Completion of gastrulation | 32 |
| 16 | Onset neurulation | 33 |
| 17 | Wide neural plate formed | 34 |
| 18 | Folded structure in head region | 35 |
| 19 | Rudimentary excretory system visible | 37 |
| 20 | Pronephros structured | 40 |
| 21 | Tail thickened; pronephroi perpendicular to neural tube | 46 |
| 22 | Round shape head and rudimentary eyes visible; somites formed | 55 |
| 23 | Rod-shaped tail and rudimentary heart visible | 59 |
| 24 | Straightened heart tube; somites evident. | 70 |
| 25 | S-heart formed and onset heart beating | 73 |
| 26 | Tail straightened and rudimentary fin bud in caudal region | 86 |
| 27 | Tail approached the heart and eyes became pigmented | 94 |
| 28 | Straightened tail reached head and embryo capable of moving | 101 |
| 29 | First occurrence of advanced hatch | 119 |
| 30 | Mass hatch | 130 |

가. 난황 자어의 생존 및 성장 조사

대량 부화가 일어난 후 동일 일자에서 부화한 자어들을 향한 수조(200 x 120 x 25 cm)에 1,200미 썩 수용하고 난황 자어들의 생존을 및 일일 성장을 조사하였다. 수조는 독립 순환여과식 방식의 여과조가 장착된 수조였으며 수조별로 매일 10-20% 환수하였다. 조사 기간 동안 사육 수온은 $20\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 를 유지하였고 용존 산소는 8 ± 1 ppm을 유지하였다. 광 조건은 명기 16시간 및 암기 8시간으로 하였으며, 조사 기간 동안 동일 시간에 각 유전형 그룹으로부터 10-20미씩을 무작위로 샘플링하여 길이 및 무게를 측정하였다. 길이는 버니어캘리퍼스(MDCW-200, monos)를 이용하여 0.01 mm까지의 단위로 측정하였고, 무게는 전자저울(ML204, Mettler Toledo)을 이용하여 소수점 4자리까지 측정하였다. 조사 전 기간 동안 각 수조로부터 폐사 개체가 발생 즉시 그 수를 기록하고 고정처리 하였다.

나. 형태 분화 조사

상기 생존 및 성장 조사 수조로부터 샘플링 한 난황자어를 대상으로 형태 분화 및 변태 특징을 조사하였다. 부화 직후부터 난황 흡수 직전 시점인 부화 14일째까지 1일 간격으로 형태 변화 및 분화를 관찰하였다. 각 그룹의 고정 시료들을 대

상으로 앞서 발생 관찰 시에 사용한 현미경 및 분석 프로그램을 이용하여 관찰 기록하였고, 이때 주요 관찰 항목은 선행 연구(Dettlaff et al. 1993; Park et al., 2013b)을 기준으로 실시하였다. 두부(head, craniofacial part)의 경우 눈, 아가미, 수염, 감각기관, cranial structure의 형태 분화를 위주로 관찰·기록하였다. 난황자어의 지느러미 발달은, 가슴지느러미, 배지느러미, 뒷지느러미 및 등지느러미의 분화시점, 위치를 유전형 그룹으로 비교하였고, 아울러 체색(melanin pigmentation)의 형성 부위, 형성 강도 및 형성 시점을 비교하였다. 각 유전형 그룹들 간 난황의 bipartite 구조 형성 및 흡수 속도를 비교하였고 이때 yolk plug (pigment plug)의 농축 및 posterior 방향으로의 이동 정도를 비교 조사하였다.

다. 주광성 특성 조사

잡종 교배군 초기 자어의 주광성 반응(phototactic response) 특징을 조사하기 위해, 선행 예비 연구를 통해 양친 종이 주광성 측면에서 가장 차이를 많이 나타내는 시점으로 확인된 부화 후 3일째 4개 유전자형 그룹(BB, GG, BG 및 GG)의 주광성 반응을 비교하였다. 각 실험 그룹 별로 동일한 크기의 수조(200 cm X 120 X 25 cm)에 1,200미씩 수용하여 20±0.5 °C

의 수온 조건에서 조사하였다. 암실 조건에서 각 수조별로 flash light을 이용(BL-C701, 3 W)하여 광원을 수심 위 12 cm 위치에 설치 한 후 인위적인 광원을 2 분 동안 조사(illumination)하였고, 이때 해당 조사 기간 동안 수조 내에 설치한 정방틀(50 x 50 cm; 광원 바로 아래 설치)로 모여든 개체들의 수를 측정하였다. 군집 개체 수는 수조 전체 및 정방틀 영역을 각각 사진 촬영하여 측정하였다. 3반복 실험을 통해서 각 실험 구의 평균 군집 마리 수를 계산, 주광성의 상대 비교 값으로 이용하였다.

4. 유전학적 동정

가. 미토콘드리아 DNA를 이용한 유전자 마커 조건

잡종의 분자유전학적 동정을 위해서 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어의 미토콘드리아 게놈 서열을 비교 분석하였다. NCBI GenBank 데이터베이스로부터 시베리아 철갑상어 (GenBank accession no. JQ045341)와 러시아 철갑상어의 미토콘드리아 게놈(FJ392605)의 염기서열을 pairwise 배열하여 가장 차이가 나는 영역을 선정하였고, 해당 영역에서 두 철갑상어 양친 종을 PCR 증폭 산물의 길이로 구분할 수 있는 영역으로서 미토콘드리아 D-loop 영역을 이용하였다. 종 특이적인 PCR 산물

길이가 증폭되도록 프라이머를 제작하였고(Table 2), 이때 지느러미 조직에서 추출한 gDNA를 주형으로 PCR 반응을 실시하였다. PCR 증폭산물은 1 % agarose gel에서 130 V로 전기영동을 수행 후, Gel Doc XR (Bio-rad, USA)를 이용하여 두 양친 종간의 PCR 증폭 결과를 확인하였다. 양친을 구분할 수 있는 mtDNA D-loop PCR 조건을 대상으로 상반 교배 잡종 그룹을 대상으로 동일한 조건으로 PCR 증폭을 실시하였으며, 이를 통해 각 상반 교배 잡종이 모계와 일치하는 mtDNA를 갖는지를 확인하였다.

나. 핵 DNA를 이용한 유전자 마커 조건

시베리아 철갑상어 및 러시아 철갑상어 간 잡종 유도에서 두 종의 각 반수체(haploid)간 karyogamy가 정확히 형성되었는지를 확인하기 위해서 핵 DNA에서 두 종간 차이를 나타내는 단일 염기서열 변이(single nucleotide polymorphism; SNP)를 보이는 영역을 선정하였다. 예비 연구를 통해 다양한 유전자들과 후보 영역을 검토하여 두 종의 somatolactin 유전자에 존재하는 SNP 영역을 선정, 잡종의 karyogamy 형성 판정에 이용하였다(미발표 자료). PCR 반응 및 증폭 산물 확인은 앞서의 mtDNA에서 사용한 방법을 준용하여 실시하였고, 증폭 산물을 대상으로 염기서열 분석을 위해 gel purification을 통상의 방법대로 실시

하였다(Table 2). 각 실험군으로부터 증폭한 PCR 산물의 정제 샘플을 대상으로 전기영동을 실시하여 목적 밴드의 정확한 정제 여부를 확인하였으며 시퀀싱 분석은 마크로젠社에 의뢰하였다. 염기서열 chromatogram 자료를 대상으로 Sequencher (Version 4.9, Gene Codes, USA) 분석 프로그램을 이용하여 해당 염기서열 위치에서 양친과 잡종의 chromatogram peak을 분석하였다.

5. 잡종 치어의 골격 분석

부화한 자어는 부화 후 3개월 후에 10% neutral buffered formalin에 고정하였고, 고정된 샘플은 Park and Kim (1984)의 방법에 따라 수행하였다. 0.5% KOH (Junsei, Japan)와 3% H₂O₂ (Junsei, Japan)를 1:0.6 비율로 혼합한 용액에 시료를 12시간 동안 담궈, 표백화 시행 후 1% KOH에 2시간 처리하였다. 연골염색을 위해 이후 2시간 동안 alcian blue 염색을 하였으며 이때 staining solution은 0.01% 농도로 alcian blue 8 GX (Sigma-Aldrich, USA)를 absolute ethanol (Burdick & Jackson, Korea)과 glacial acetic acid (Junsei, Japan)를 6:4로 혼합한 용액에 녹인 것을 사용했다. 이후 ethanol을 사용하여 12시간 동안

Table 2. Oligonucleotide primers and thermal cycling conditions used in this study

| Primer name | Sequence (5' to 3') | Amplification size | Thermal cycling condition |
|---------------|-------------------------------|----------------------------|--|
| AB D-loop FW1 | GACAGGTAGCTTCCACAGTT | 774 (in BB) 605 (in GG) | 28 cycles at 95 °C for 2 min, 95 °C for 20 sec, 64 °C for 20 sec, 72 °C for 45 sec |
| AB D-loop RV1 | GGACCTGAAATAGGAACCAG | | |
| AB D-loop FW2 | TCACCTTAACTCCCAAAGC | 495 (in BB) 326 (in GG) | |
| AB D-loop RV2 | CAGACAAGAATGTTCCGGCTC | | |
| AB SLDM FW1 | GAAGCTGTTTGCACAAGCAGTA TC | 447 | 35 cycles at 95 °C for 2 min, 95 °C for 20 sec, 64 °C for 30 sec, 68 °C for 80 sec |
| AB SLDM RV1 | TACACCAGTTTGGCGGCTCACAC AG | | |
| AB SLDM FW2 | TCAGCGCTTCGTGTTTCAGT | | |
| | | 1301 | |
| AB SLDM RV2 | CGGGGACAAACATTTCTTCCTG | | |

1차 탈수 과정 후, 6시간 동안 2차 탈수 과정을 거쳤다. 5% KOH에 1% alizarin red S (Sigma-Aldrich, USA)가 0.5 %농도가 되도록 staining solution을 만든 후 3시간 동안 염색 하였다. 염색이 완료된 시료는 25%, 50%, 75% 및 100% 농도의 glycerol (Junsei, Japan)에 하루 간격으로 순차적으로 처리 후, thymol 결정을 첨가한 100% glycerol에 보관하였다.

6. 초기 생존율 및 성장 조사

가. 유어기 생존율 및 성장 평가

잡종 교배군의 성장을 평가를 위해 부화 후 약 4개월부터 6주간 성장 실험을 수행하였다. 이때 사용한 수조의 크기는 300 cm X 100 cm X 45 cm (D x W x H)이었다. 해당 수조에 4개 유전자형 그룹으로부터 유사한 크기의 개체들을 선발하여 어체중 기준으로 통계적 유의차가 없는 실험군을 설정하였다. 따라서 수용한 개체의 평균 어체중은 38.5 ± 4.6 g 이었으며 각 유전형 그룹의 평균 전장은 BB 24.3 cm, BG 23.2 cm, GB 23.3 cm, GG 21.8 cm 였다. 이때 실험군은 수조별 각 33미를 수용하였다. 사육은 $20 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 에서 이루어졌으며 반 순환여과방식(일일 약 50 % 환수)으로 사육하였다. 먹이는 1주일간 적응기간을 거

친 후 하루 6회 반복공급을 하였다. 급여한 먹이의 종류는 넙치
치어용 배합사료 해왕 6호 (Marubeni nisshin Feed, Japan) 및
수협 3호 (수협사료, Korea) 였다.



Ⅲ. 결과

1. 잡종 교배군의 수정률, 배 발생률 및 부화율

생산된 교배군의 수정률은 BB와 BG의 경우 약 98%, GG와 GB는 약 90%로 나타나 잡종교배군의 수정률은 모계종의 수정률과 유사하였고, 시베리아 철갑상어의 난을 사용한 교배군에서 보다 높은 수정률을 나타내었다(Fig. 1A). 발생 배의 생존율은 각 측정단계에서 BG는 BB와, GB는 GG와 유사하였으며, 수정 후 120시간을 기준으로 BB, BG의 경우 85%이상, GG와 GB의 경우 약 50%의 생존율을 나타내었다(Fig. 1B). 잡종 교배군에서 발생 속도는 잡종 유도에 사용한 양친의 발생속도와 유사하였으며 주요 단계에 도달하는 소요시간 및 배 발생의 모양이 모계 및 부계와 큰 차이점이 없었다(Fig. 2). 하지만 부화 개시부터 종료시까지 소요되는 시간은 모계와 유사하며 BB와 BG가 보다 신속히 부화하고 GG와 GB가 더 오랜 시간에 걸쳐 부화가 종료되는 경향이 있었다. 또한 부화율의 경우 앞서의 수정율과 같이 BB와 BG는 약 80% 이상의 부화율을, GG와 GB는 45% 이

A. Fertilization rate (%)

B. Embryonic Viability (%)

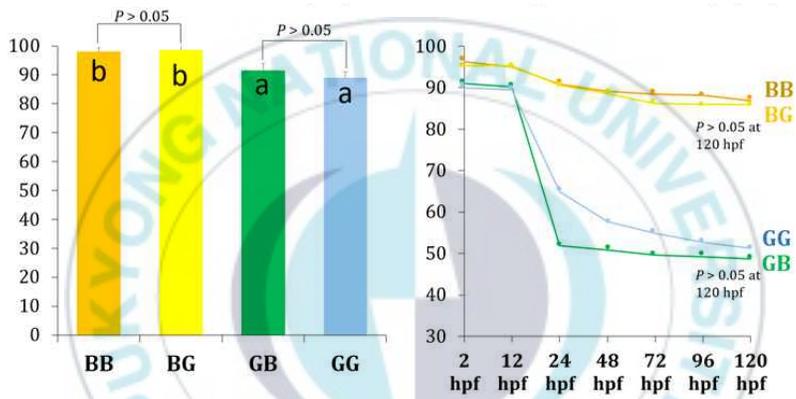


Fig. 1. Fertilization rate and embryonic viability of reciprocal hybrids (BG and GB) as relative to those of parental species (BB and GG). Means with different letters are significantly different based on student's t-test and/or ANOVA at $P = 0.05$

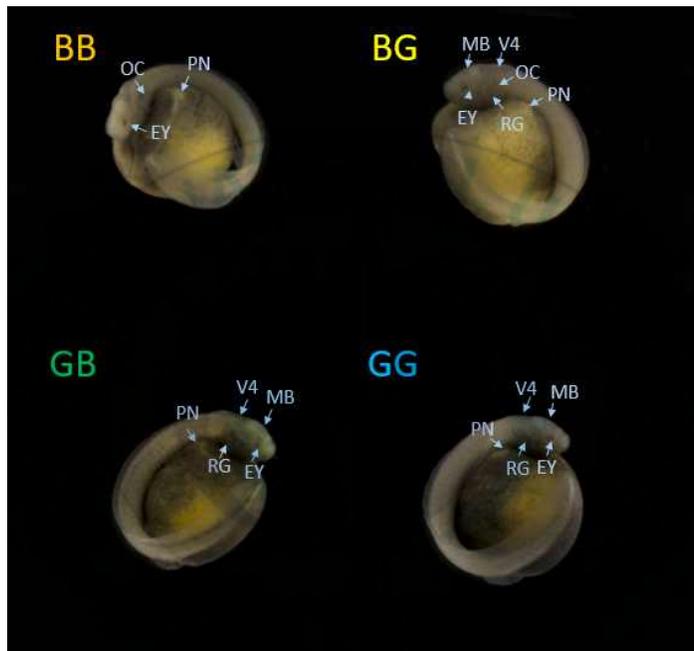


Fig. 2. Embryos at pre-hatching stage from reciprocal hybrids (BG and GG) and their parental species (BB and GG).

V4: 4th ventricle, **MB:** mid brain, **EY:** eye rudiment, **RG:** rudimentary gills; **PN:** pronephros, **OC:** otocyst

상의 부화율을 보여 이 또한 모계종과 유사하였다(Fig. 3).

2. 잡종 교배군의 초기 자어(prolarvae) 발달 특징

가. 난황 자어의 성장

자어의 성장에 있어서 난황흡수 완료시점(부화 후 9일)까지 잡종 및 양친어의 평균 전장과 무게는 BB (22.52 mm, 41.1 mg), BG (20.93 mm, 40.2 mg), GB (21.50 mm, 41.6 mg), GG (19.83 mm, 41.4 mg)으로 4개의 유전자형 모두 유사한 전장과 무게성장을 나타내었다. 생존율 역시 난황흡수 완료시점까지는 4개의 유전형 그룹 간 유의적인 차이가 없고 모두 95% 이상의 생존율을 보였다(Fig. 4).

나. 자어의 형태학적 특징

부화 직후의 자어는 유전형 그룹에 따라 형태 및 크기에서 차이가 없고 외형적인 구분이 어려웠으며 그 형태와 크기는 기존에 보고되어 있는 것과 유사하였다. 부화자어는 큰 난황을 가지며 한 쌍의 전신(pronephros)를 가졌다(Fig. 5). 이러한 결과는 부화 1일째에서도 동일한 양상을 보였으며, 부화 후 2일째에서는 모든 유전형 그룹에서 난황이 다소 흡수되어, 난황에

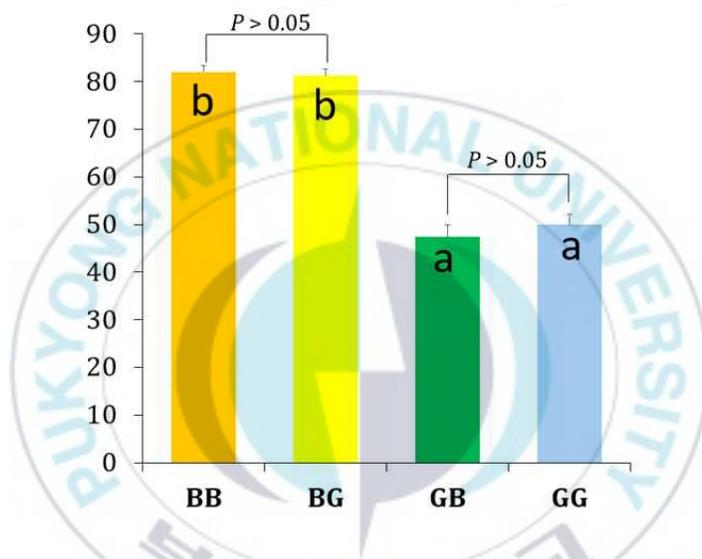


Fig. 3. Hatching success (%) of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (BB and GG). Means with different letters are significantly different based on student's t-test and/or ANOVA at $P = 0.05$.

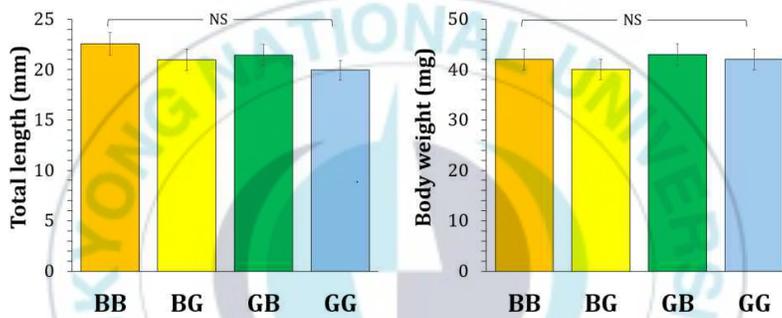


Fig. 4. Length and body weight development of reciprocal hybrids and (BG and GB) their parental species (BB and GG) up to yolk plug evacuation (9 DPH). Significant differences were observed neither in length nor weight growth among the four experimental genotypes ($P > 0.05$).

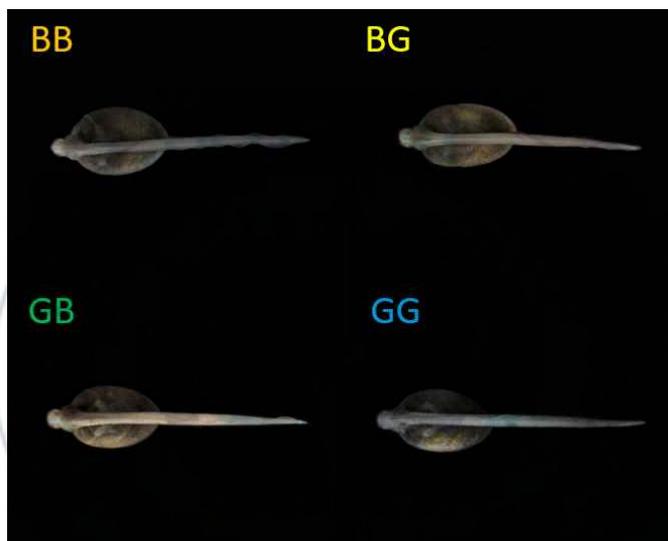


Fig. 5. Larval development and ontogeny of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) at just hatching (0 day post hatching; 0 DPH).

서 함입이 일어났다. 가슴지느러미가 흔적적으로 생기기 시작하며 두개골의 모양이 보다 뚜렷이 나타났다. Pigment plug의 농축 속도가 유전형 그룹에 따라 다소 차이가 있으며 GG그룹의 경우 다른 유전형 그룹에 비해서 pigment plug의 농축시작이 지연되는 것으로 관찰되었다(Fig. 6) 부화 후 4일에 도달하면 다양한 기관들이 형태적으로 잘 발달함을 관찰 할 수 있었다. 우선, 가슴지느러미와 눈이 더욱 발달하여 눈에 생긴 렌즈와 함께 명확히 관찰되었다. 아가미는 아가미 뚜껑으로 닫히지 않는 모습이 관찰되며 두 개의 외부 콧구멍 또한 쉽게 관찰되었다. 수염은 신장되었으며 난황의 함입은 보다 깊게 나타났고, 복강 내 장기의 관찰이 가능하였다(Fig. 7). 잡종 및 양친어의 난황흡수 정도는 자어의 활동성이 가장 높은 BB가 가장 빠르며, 활동성이 가장 낮은 GG의 경우 상대적으로 난황흡수 정도가 느리다. 잡종그룹은 양친의 중간정도를 나타냈다. 또한 체표(특히 머리 부분)의 pigment 발달은 GG가 가장 많은 pigment를 보였으며 BB는 가장 적은 pigmentation을 나타내었다. 잡종의 경우 양친의 pigmentation범위 내에 속하지만 BG보다는 GB가 더 많은 pigment를 보였다. 부화 후 6일에 도달하면 pigmentation이 더욱 진전되어 두부뿐만 아니라 몸통 측면에서도 pigmentation이 확연하게 관찰되며 GG, GB, BG, BB순으로 전체적인

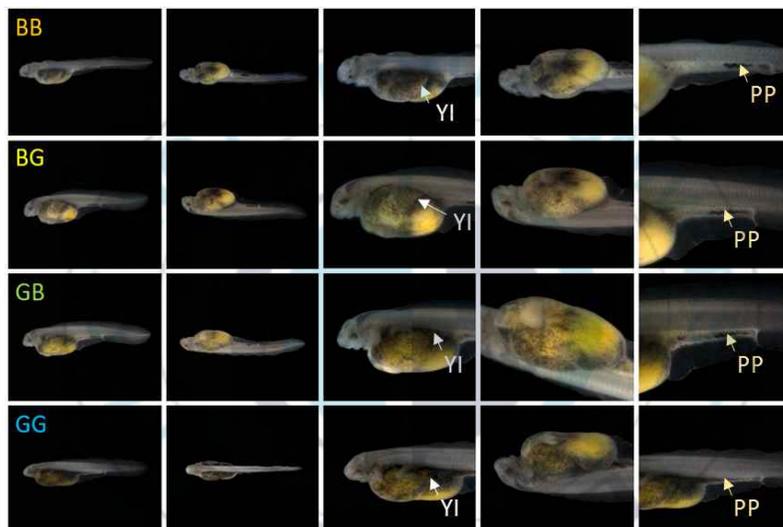


Fig. 6. Larval developments of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) at 2 DPH.

YI: yolk invagination, **PP:** pigment plug.

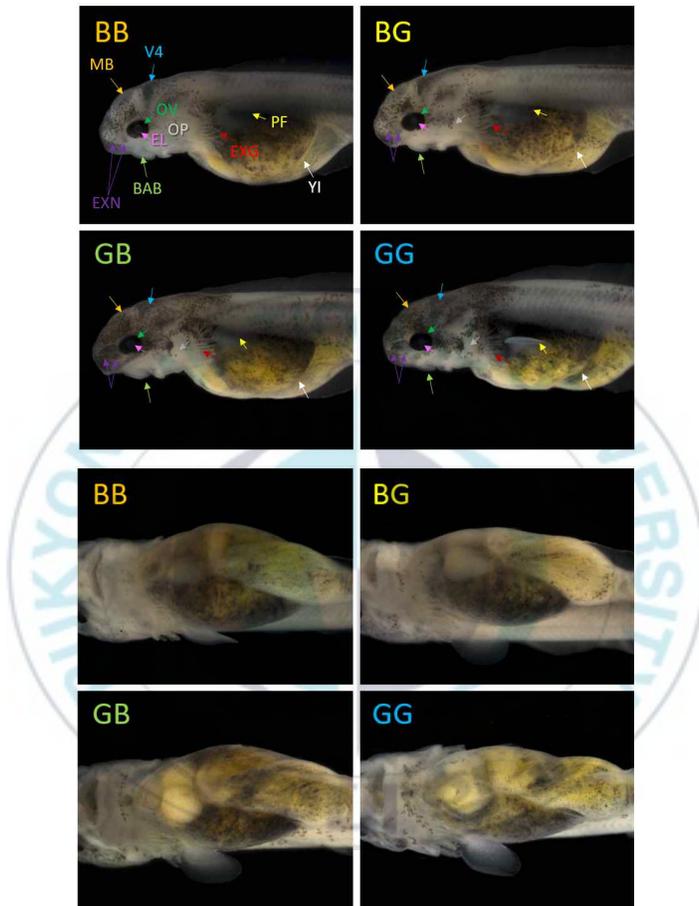


Fig. 7. Larval development (upper: lateral view, lower: ventral view) of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) at 4 DPH.

V4: 4th ventricle, **MB:** mid brain, **OV:** optic vesicle, **OP:** operculum, **EL:** eye lens, **BAB:** barbel, **EXG:** external gills, **EXN:** external nares; **PF:** pectoral fin, **YI:** yolk invagination

pigmentation의 정도가 많았다. 또한 배지느러미가 보다 분명히 발달됨을 확인 할 수 있었으며, pigment plug는 보다 항문 쪽으로 이동하였다(Fig. 8). 부화 후 14일 정도가 경과하면 GG는 채색 및 형태의 외형적인 차이로 다른 유전형 그룹과 손쉽게 구분이 가능하였으며 등 쪽 scute의 발달은 모든 유전형 그룹에서 관찰 가능하였다. 이때 BB와 GB의 scute개수는 15개 전후 이며 보다 촘촘한 분포 패턴을 보였다. GG와 BG의 경우 scute의 개수는 12개 전후이며 BB보다 넓은 간격으로 분포하였다(Fig. 9).

다. 주광성 특징

BB는 부화 후 강한 양성 주광성(positive phototaxis)을 보였으며 특히, 부화 후 3~5일째에 가장 높은 양성 주광성을 나타내었다. 반면에 GG는 부화 직후 양성 주광성을 관찰하기 어려우며, 이후 오히려 음성 주광성(negative phototaxis)에 가까운 반응을 보였다. 잡종교배군의 경우 주광성 반응은 양친 중 모계와 유사한 패턴을 보이며 BG의 경우 BB와 유사하게 부화 후부터 약 8일 까지 양성 주광성 반응을 나타내었고, GB의 경우 양성 주광성이 매우 약한 시점을 거쳐 빛에 대한 반응이 없거나 오히려 음성 주광성을 나타내었다. 부화 후 4일 기준에서 전체 수용 마리수 중 광원쪽으로 군집한(정방틀 안쪽으로

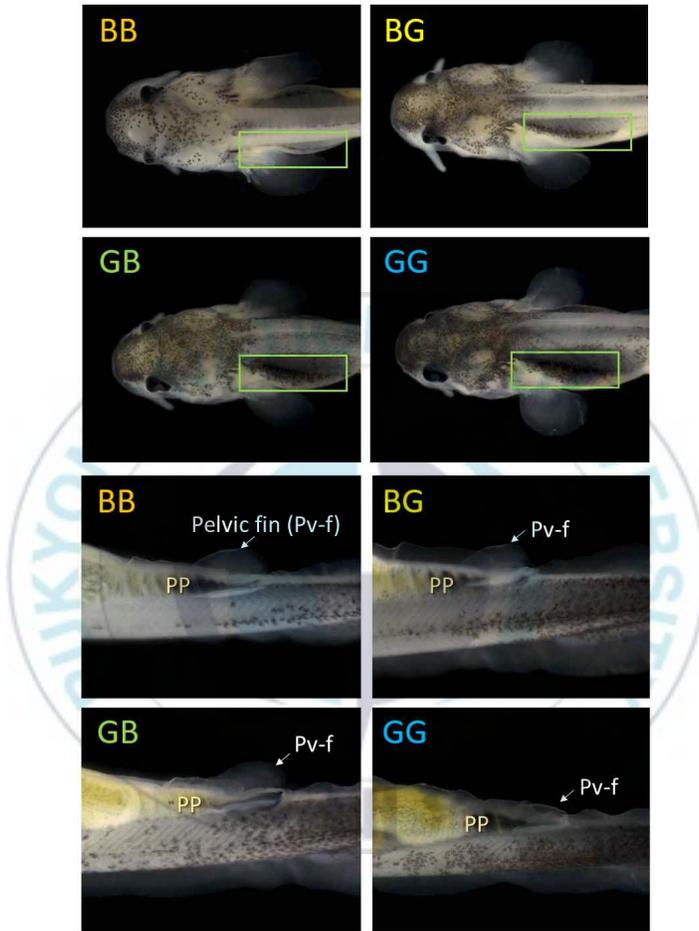


Fig. 8. Larval development (upper: dorsal view of anterior part of body, lower: pelvic region showing the concentrated pigment plug, PP) of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) at 6 DPH. Differential degrees of melanin pigmentations among four genotypes are indicated by rectangular boxes.

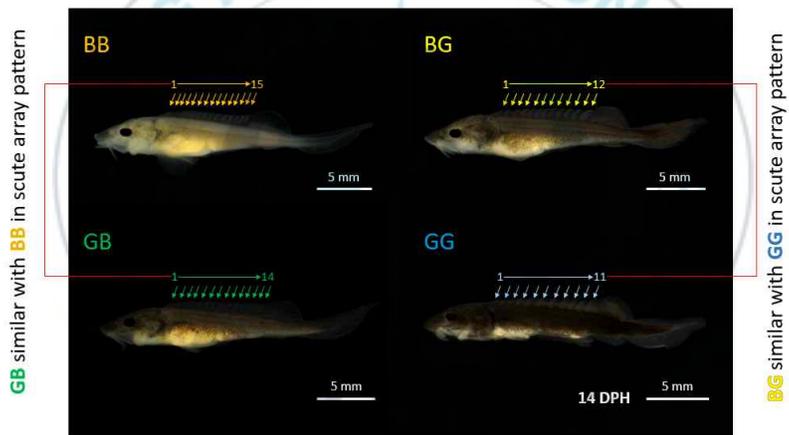


Fig. 9. Larval development of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) at 14 DPH. Array of dorsal scutes in fish belonging to each genotype is indicated by arrows.

모인 개체) 마리수의 비율은 BB의 경우 약 90%, BG가 약 80%, GB는 약 27% 그리고 GG가 약 17% 로 관찰되었다(Fig. 10).

3. 잡종의 유전학적 동정

가. 핵 DNA 마커를 이용한 잡종 유전형 검증

다양한 분석 위치 중 두 개의 유전좌위(loci)를 대상으로 BB와 GG의 중간 특이점이 구분 될 수 있는 영역의 염기서열변이가 확인되었다. Locus-1의 경우 BB는 adenine (A)을, 반면 GG는 guanine (G)를 나타내는 단일염기 변이 위치를 포함하고 있었고, locus-2의 경우 BB는 thymine (T)을, 반면 GG는 adenine 또는 cytosine (A/C)을 나타내는 변이를 포함하고 있었다. BG와 GB 잡종은 locus-1의 해당영역에서 A/G double peaks를 나타내었으며, 반면 locus-2의 해당영역에서 T/A double peaks를 나타내었다(Fig. 11).

나. 미토콘드리아 DNA 마커를 이용한 모계유전의 검증

Primer set-L을 이용한 미토콘드리아 DNA의 PCR 증폭 결과 BG잡종은 모계인 BB와 동일하게 774 bp의 증폭산물을

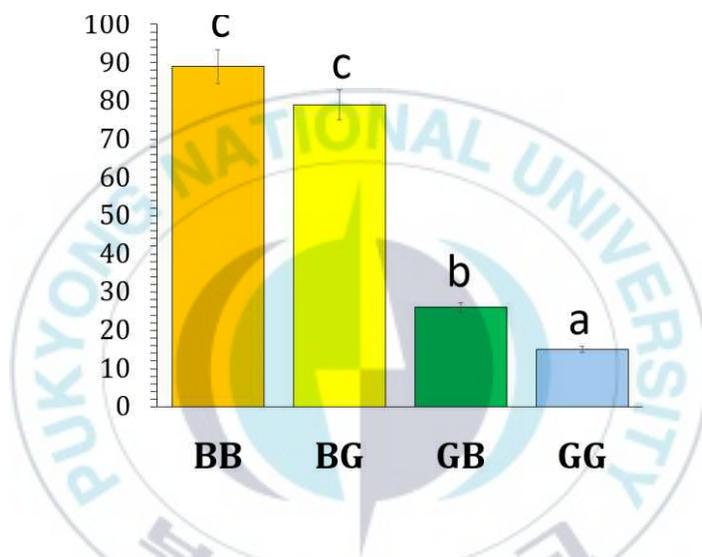


Fig. 10. Phototaxis responses of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB). Means with different letters are significantly different based on student's t-test and/or ANOVA at $P = 0.05$.

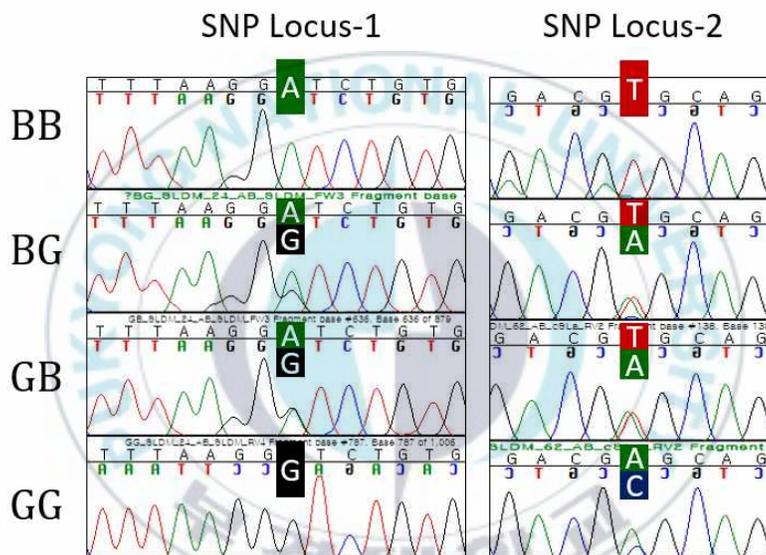


Fig. 11. Nuclear DNA-based genetic verification of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB).

나타내었다. 반면 GB잡종은 모계인 GG와 동일하게 605 bp의 증폭산물을 표현하였다. Primer ser-S를 이용한 미토콘드리아 DNA의 증폭실험 결과 역시 BG는 BB와 동일한 크기의 PCR증폭 산물(495 bp)을, 반면 GB는 GG와 동일한 증폭산물(326 bp)을 나타내었다(Fig. 12).

4. 잡종 치어의 형태학적 특징

가. 외관상 특징

BB와 GG는 해당 종에 특징적으로 나타나는 주둥이 모양, 체색, scute의 발달 등의 차이로 인해 육안으로 손쉽게 구분이 가능하였다. BB는 GG와 비교하여 주둥이의 길이가 길고 체색이 보다 옅으며 scute의 개수가 작고 그 크기가 작은 특징을 보였다. 하지만 BB와 두 잡종 교배군(BG 및 GB)은 육안으로 구분이 어려웠다.

나. 골격 형질의 특징

각 유전형의 배 쪽 scute모양을 관찰시, BB와 GG는 scute의 모양 및 배열에 큰 차이가 있었다. BB는 상대적으로

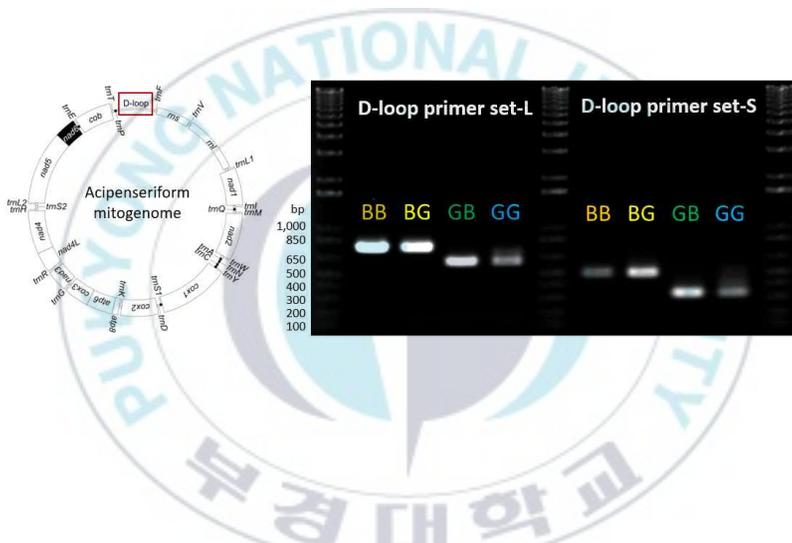


Fig. 12. Maternal inheritance of mtDNA marker in reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB).

작은 scute들의 촘촘한 배열을 가지며 GG는 큰 scute들의 한산한 배열을 가졌다. 잡종그룹은 양친의 중간 형태를 보이지만, 모계보다는 부계와 좀 더 유사한 방식을 나타냈다(Fig. 13). BB는 측면 배열에 세로로 길고 촘촘히 배열된 큰 scute이 관찰되었으며 이 외에 작은 scute들이 어체 측면 전반에 다량 산포되어있는 형태를 보였다. 반면 GG는 BB보다 둥근모양의 큰 scute이 어체 측면에 한산하게 분포되어있었고 측면에 분포하고 있는 작은 scute은 그 개수가 제한적이였다. 이와 같은 측면의 scute배열 또한 GB는 BB의 모양을, BG는 GG의 모양과 유사하였다(Fig. 14).

잡종의 등 쪽 scute의 배열 방식 또한 부계와 유사한 패턴을 나타내었다. BB와 GB는 dosal부분에 많은 수의, 작은 scute이 산포되어 존재하였으며 GG와 BG는 측면의 작은 scute의 산포가 제한적이였다(Fig. 15). 꼬리지느러미의 굳비늘 배열방식 또한 잡종은 부계와 유사하여 GB는 BB처럼 조밀하게 분포된 굳비늘을 가지고 있었으며, BG는 비늘의 수가 적고 조밀하지 않은 GG의 굳비늘 배열방식과 유사하였다(Fig. 16).

6. 유어기의 잡종 교배군의 생존 및 초기 성장

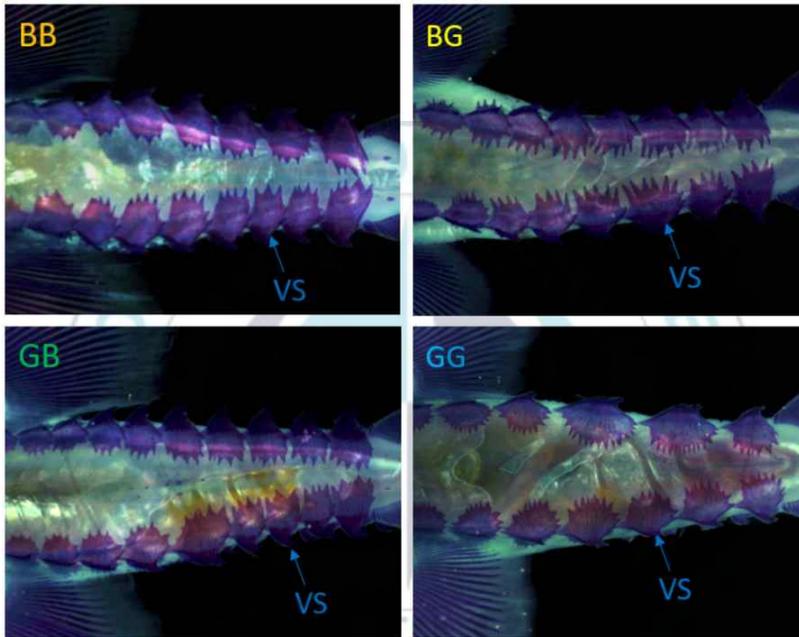


Fig. 13. Ventral view of reciprocal hybrid fry (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after cartilage and bone staining.

Total lengths of specimens are 9 - 10 cm.

VS: ventral scute

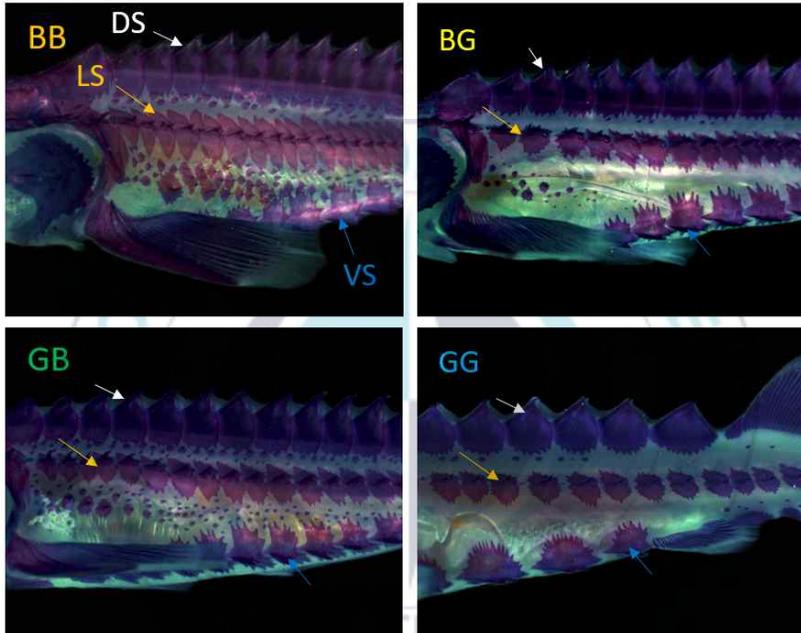


Fig. 14. Lateral view of reciprocal hybrid fry (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after cartilage and bone staining.

Total lengths of specimens are 9 - 10 cm.

DS: dorsal scute, **LS:** lateral scute, **VS:** ventral scute

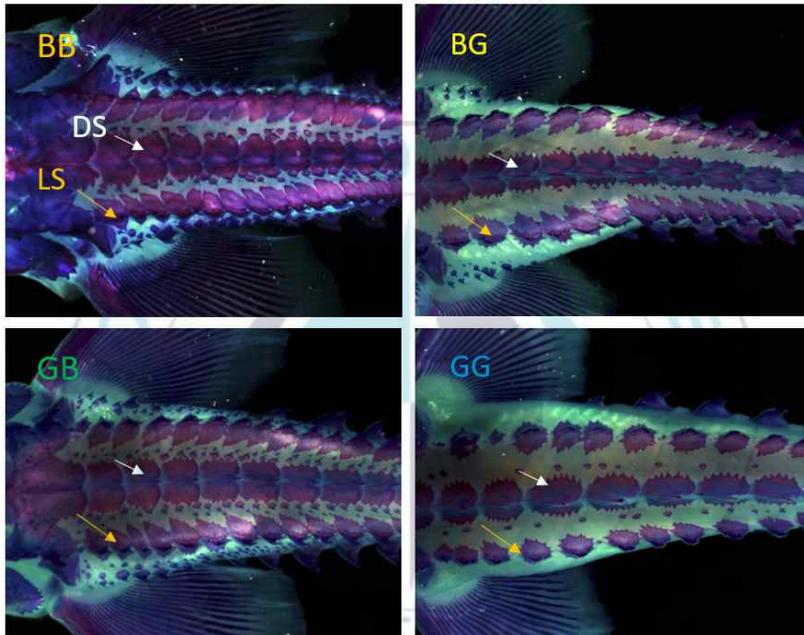


Fig. 15. Dorsal view of reciprocal hybrid fry (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after cartilage and bone staining.

Total lengths of specimens are 9 - 10 cm.

DS: dorsal scute, **LS:** lateral scute

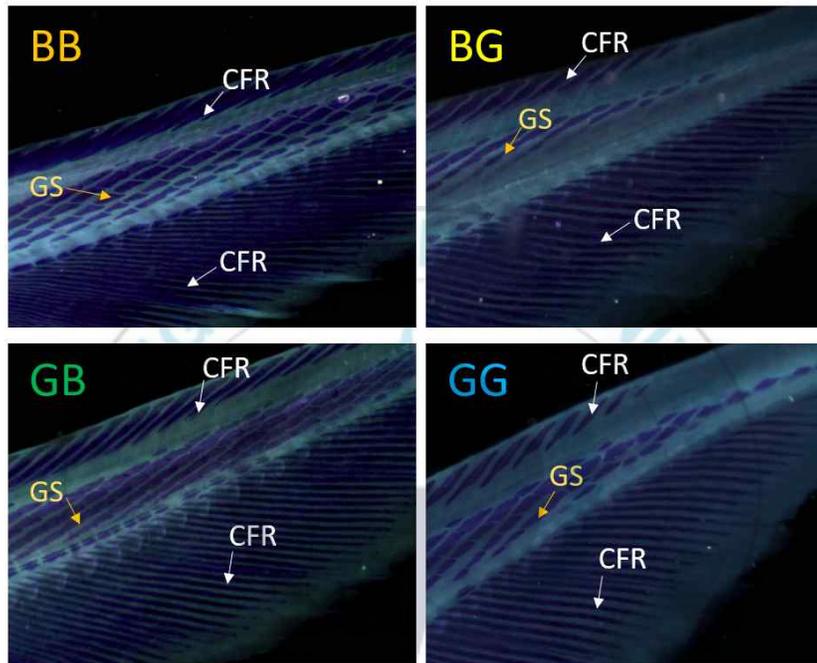


Fig. 16. Caudal view of reciprocal hybrid fry (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after cartilage and bone staining. Total lengths of specimens are 9 - 10 cm.

GS: ganoid scale, **CFR:** caudal fin ray

부화 후 4 월부터 6주간 성장실험 중 폐사 개체는 발생하지 않았다. 실험군의 어체중 성장에서 GB는 평균 233.5 ± 23.7 g으로 가장 우수한 성장 형질을 나타내었다. 반면, BG는 평균 182.9 ± 27.6 g이었으며, GG는 150.2 ± 30.4 g의 평균 어체중을 나타냈고 BB는 189.8 ± 36.3 g이었다(Fig. 17). 평균 전장은 GB, BB, BG, GG 순으로 33.0 cm, 32.9 cm, 31.4 cm, 28.3 cm였다(Fig. 18). 비만도 평가에서 GG가 가장 높은 비만도를 보였고, 잡종은 양친의 중간 형질을 나타내었다. 사료 전환효율을 확인하기 위해 총 급여사료량을 어체중 증가량으로 나누었을 때, GB, BG, BB, GG 순으로 사료 전환효율이 높았다(Fig 19).

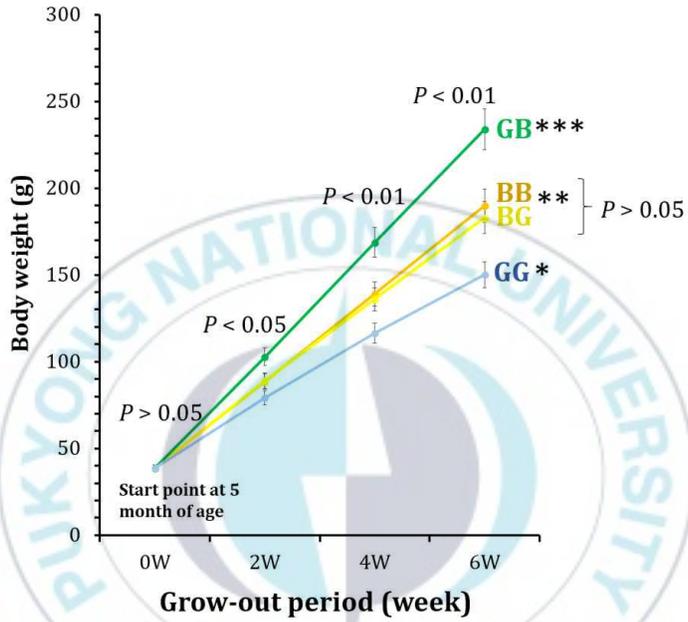


Fig. 17. Comparison of body weight of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after six weeks of growth trial from 4-month-old age. Means with different letters are significantly different based on ANOVA at $P = 0.05$.

Feed conversion ratio = total amount of feed consumed (g)/total body weight gain (g)

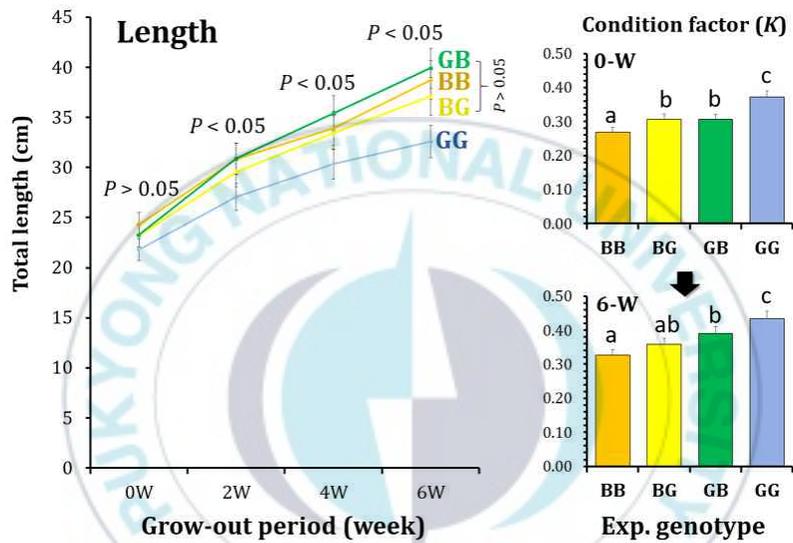


Fig. 18. Comparison of length growth and condition factor of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after six weeks of growth trial from 4-month-old age. Means with different letters are significantly different based on ANOVA at $P = 0.05$.

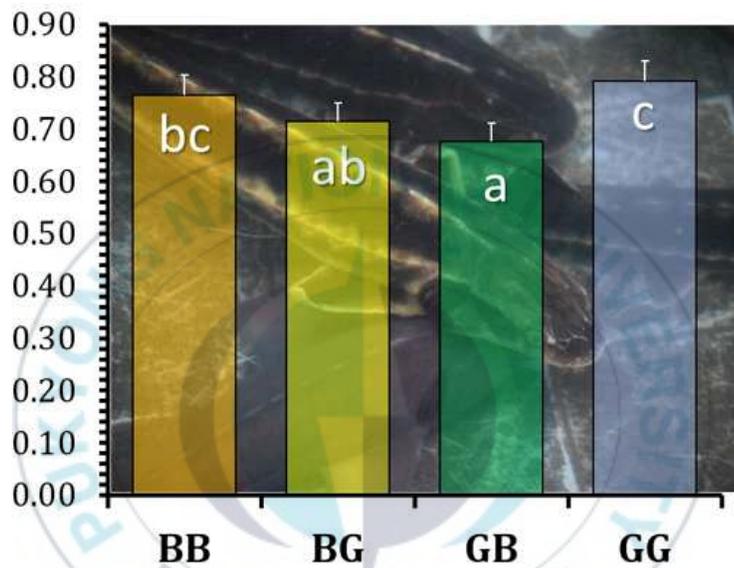


Fig. 19. Comparison of feed conversion ratio of reciprocal hybrids (BG and GB) and their parental species (GG and BB) after six weeks of growth trial from 4-month-old age. Means with different letters are significantly different based on ANOVA at P = 0.05.

Feed conversion ratio = total amount of feed consumed (g)/total body weight gain (g)

IV. 고찰

본 연구에서 생산된 철갑상어 상반 잡종교배군의 수정률, 발생 배의 생존율 및 부화율은 잡종 유도 시 사용한 모계의 난질에 따라 결정되는 특징을 나타내었다. 수정률의 경우 4개의 유전자형 그룹은 모두 90%이상으로 나타났으나, 수정 후 120시간 쯤 BG 잡종은 BB와 유사한 약 85%의 배 생존율을, 그리고 GB 잡종은 GG와 유사한 약 50%의 생존율을 나타내었다. 부화율 역시 배 생존율과 유사한 경향을 보임으로써, BB와 BG가 유사한 부화율을 나타내었고(80% 이상), GG와 GB가 유사한 부화율을(45% 이상)를 나타내었다. 따라서 이상의 초기 발생 및 부화율에서 사용한 양친어 사이의 (BB와 GG간) 유의적인 차이는 있지만 BB와 BG간 유사하고, GG와 GB간 유사하다는 점에서 잡종화 유도 자체는 본 철갑상어 교배 그룹의 수정률 및 부화율에 유의미한 영향이 없다고 판단된다. 잡종교배군의 부화 개시부터 종료시까지 소요되는 시간 또한 모계와 유사하여 BB와 BG가 상대적으로 GG와 GB보다 신속한 부화 종료를 나타내었는데 이는 잡종 유도시 사용한 양친의 난의 특성(즉, BB에 비해 GG가 훨씬 점착성이 강하고 끈적한 수정막을 갖는 특성)에 기

인하는 것으로 판단된다. 아직 철갑상어 중간 수정막의 물리·생화학적 특성에 관한 자세한 연구결과가 보고된 바 없어 본 연구결과와 직접적인 비교는 불가능하므로, 본 연구의 관찰 내용을 보다 객관적으로 뒷받침하기 위한 추가 연구가 필요하다.

어류의 잡종 유도 성공 여부는 유도된 잡종 유전형의 초기 생존 형질(수정률, 배발생 성공률, 부화율 등)에 크게 좌우되는데 본 연구 결과에서처럼 잡종 유전형의 높은 초기 생존능력은 미꾸라지(*Misgurnus mizolepis*)와 미꾸리(*M. anguillicaudatus*)의 상반교배 잡종(Kim et al., 1995) 등에서 보고된 바 있다. 반면, 동일 양친을 이용한 잡종 유도일지라도 상반 교배 방식에 따라 초기 생존 형질이 크게 차이나는 경우 역시 종종 보고된 바 있어 철갑상어를 대상으로 한 본 연구 결과와는 차이가 있었다. 예컨대, 메기속에 속하는 어종인 *Clarias batrachus* 암컷과 *C. gariepinus* 수컷간 잡종은 높은 부화율(즉, 양친과 유사한 부화율)을 나타내는 반면 이의 상반 교배 유전형 그룹(*C. gariepinus* 암컷과 *C. batrachus* 수컷간 잡종)은 낮은 부화율을 나타냄이 보고된 바 있고(Rahman et al., 1995), 또한 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 암컷과 범가자미(*Verasper variegatus*) 수컷을 이용한 교배는 잡종교배군이 유도가능하나 이것의 상반교배는 잡종유도가 불가능하며(Kim et al., 1996) 바다송사리

(*Oryzias dancena*)와 자바송사리(*O. javanicus*)간 잡종 유도시 자바송사리 암컷과 바다송사리 수컷을 이용한 교배군에서는 이것의 상반교배와 달리 낮은 부화율과 높은 기형률이 나타남이 보고된 바 있다(송 등, 2010).

난황자어의 형태 분화 및 발달에 있어 잡종교배군은 두 양친 종과 유사하거나 양친의 중간 형태를 나타내어, 이는 잡종의 초기 형태 발달 등이 두 양 친어 종의 중간을 띄는 종래의 많은 연구 보고들과 유사하였다(김 등, 2012). 자어의 난황흡수의 속조 또한 양친의 중간 형질을 따랐으며 이때 GG보다는 BB가 난황흡수의 속도가 다소 빨랐는데, 이것은 자어의 행동 특성에 기인한 것으로, BB의 난황자어가 상대적으로 GG보다 활발히 수영하기 때문이라고 판단된다. 이상의 결과에서 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어의 상반 교배 잡종들은 난황 자어의 발달 및 생존율에 있어 양친과 큰 차이 없고, 이들 두 철갑상어 중간 잡종 유도에 따른 부정적인 영향은 없는 것으로 판단된다.

생물체가 빛에 반응하는 특성을 주광성이라 하며 그 반응은 빛을 좇거나(양성 주광성) 회피하는(음성 주광성) 성질로 표현된다. 철갑상어목 어류들을 난황자어 시기에서 종 특이적인 주광성 패턴을 보이는 것으로 알려져 있는데 이와 관련하여 Chinese sturgeon (*A. sinensis*)의 난황자어는 양성 주광성을 보

이며(Zhuang et al., 2002), shortnose sturgeon (*A. brevirostum*)와 white sturgeon (*A. transmontanus*)의 난황자어는 음성 주광성을(Richmond and Kynard, 1995; Kynard et al., 2010)보인다고 알려져 있다. 본 실험에서 친어로 사용한 시베리아 철갑상어(BB)와 러시아 철갑상어(GG)의 주광성에 관한 일부 연구들이 있으나 동일한 난황자어 시기에 직접적인 상대 비교연구는 아직 이루어진 바 없다. 본 연구결과, 두 철갑상어의 부화자어들은 크게 다른 주광성 반응을 보였는데, 시베리아 철갑상어 난황자어의 경우 강한 양성 주광성을 보여 이전의 연구 결과와 유사하였다(Gisbert and Williot, 1997). 반면 본 연구에서 러시아 철갑상어의 경우, 부화 직후 양성 주광성을 관찰하기 어려우며 오히려 음성 주광성에 가까운 반응을 보임으로써 시베리아 철갑상어와는 반대의 주광성 특징을 보였다. 이전 연구결과들은 난황자어를 대상으로 한 관찰이 아니었기 때문에 본 연구결과와의 직접적인 비교는 어렵지만, 러시아 철갑상어의 경우 부화자어 단계이후 및 서식지(계통)등에 따라서 주광성 특성이 차이가 있을 수 있음이 보고된 바 있어(Chebanov and Galich, 2013), 이에 관한 추가 조사 등이 필요할 수 있다. 본 연구 결과, 난황자어 시기에서 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어 간 유도된 상반 잡종 교배군들은 부계 보다는 모계와 유사한 주광성

성질을 갖는 것으로 나타났다. 따라서 앞으로 이들 잡종 그룹들에서 주광성 형질을 결정하는 생물학적 인자들(관련 유전자 발현 등)의 탐색 및 조사들이 필요하다고 판단된다.

잡종의 유전학적 동정을 위해 양친 종간 단일염기 변이를 포함하는 영역(somatolactin 유전자 내)의 염기서열 chromatogram을 분석한 결과, BG 및 GB 잡종은 해당 변이 염기 위치에서 양친에 해당하는 염기의 chromatogram을 모두 표현하는 double peaks (모계 및 부계 기원의 각 대립 유전자에 의한 peak 형성)를 나타내었다. 따라서 본 결과는, 유도된 BG와 GB가 우연한 처녀 생식 등에 의한 개체들이 아니라 모계 반수체와 부계 반수체간 융합에 의해 생성된 karyogamy 형 중간 잡종을 보여주고 있어 RAG SNP를 이용한 줄종개(*Cobitis tetralineata*)와 왕종개(*Iksookimia longicorpa*)간 잡종 분석 결과와 유사하였다(이 등, 2009). 한편, 분자생물학 기법을 이용한 철갑상어 종 동정을 위해 RAG2 유전자 등을 이용한 SNP marker (Li et al., 2015) 그리고 RAPD 방법을 이용한 종 구분 등에 관한 연구들이 보고된 바 있으므로(Havelka et al., 2017), somatolactin 유전자의 SNP를 기반으로 한 본 연구결과와 종래 DNA 마커들의 병행 사용을 통해 *Acipenser* 속 어류의 보다 완성도 높은 유전학적 동정 조건의 정립이 기대된다.

상기 SNP DNA marker를 이용한 karyogamy 잡종 형성 여부는 성공적으로 확인 가능하였지만, SNP marker 만으로는 상반 교배군을 구분할 수 없다. 따라서 본 연구에서는 잡종 그룹들 내 BG와 GB 상반 교배군을 구분할 수 있는 추가적인 DNA marker를 개발하고자 하였고, 이를 위해 모계 기원을 확인할 수 있는 미토콘드리아 DNA 마커를 함께 이용하고자 하였다. 이를 위해 두 양친 종을 구분할 수 있는 미토콘드리아 마커 영역을 우선 확보하고자 하였고, 미토콘드리아 게놈을 탐색 결과 미토콘드리아 D-loop 영역을 대상으로한 PCR 증폭산물의 길이 차이를 통해 두 양친 종의 분자유전학적 동정이 가능하였다. 미토콘드리아 DNA D-loop 영역의 길이에서 두 철갑상어 종간 차이가 나타나는 이유는 D-loop 상에 80 bp 가량의 minisatellite에 해당하는 영역의 반복되는 횟수가 다르기 때문이다. ClustalW 배열시 시베리아 철갑상어는 해양영역이 4.5회 반복되는 반면, 러시아 철갑상어 D-loop은 3번째 및 4번째 반복 서열에 해당 되는 부분이 결손되어 있어, 결과적으로 두 종간 약 170 bp에 해당하는 길이 차이가 유발된다. 해당 변이 영역을 포함한 부위의 PCR 증폭 결과, BG는 BB와 동일하게, 그리고 GB는 GG와 동일한 PCR 산물 길이를 나타내었으며, 이러한 결과는 서로 다른 프라이머 쌍을 이용한 검증 실험에서 일양하게

나타났다. 따라서 BG 및 GB 잡종은 모계에 해당하는 D-loop 길이의 미토콘드리아 DNA를 갖고 있으며, 철갑상어 교배 시 미토콘드리아 DNA의 전형적인 모계 유전 방식을 잘 보여주고 있다 (Liu and Cordes, 2004). 따라서 본 연구에서 생산한 잡종의 유전학적 동정으로 미토콘드리아 마커를 이용하여 모계 기원이 동정 가능하고, somatolactin 유전자 SNP 마커를 이용하여 karyogamy 형성이 확인 가능하므로 두 마커 시스템을 이용할 경우 상반 교배 잡종과 양친 두 종 모두를 분자유전학적으로 동정 가능하였다.

잡종의 골격 및 scute 발달 패턴은 양친의 범위 내 속하지만 각 상반 교배 잡종은 부계에 더 가까운 특징을 보였다. 대부분의 유도된 잡종 어류는 양친어의 중간 형질을 띄거나 모계에 더 가까운 형질을 보이는 것이 일반적이다(김 등, 1995). 본 연구에서 유도된 잡종 역시, 다른 초기 형질들은 모계에 더 가까운 경향을 보인다. 하지만 골격의 경우는 부계에 더 가까운 경향을 보인다. 철갑상어 잡종의 형태학적 분석 등이 거의 자료가 미비하여 직접적인 비교는 현재로서는 불가능하지만, 메기(차넬메기 x 블루메기) 잡종에서 역시 부계에 더 가까운 형태 특징을 보인다고 보고된 바 있어(Dunham et al., 1982) 본 연구의 scute, 발달 패턴 결과와 유사하다. 본 유도된 상반 교배 잡종은

형질별로 모계에 더 가까운 형질과 부계에 더 가까운 형질들이 한 개체에서 표현되며 이에 대한 기작(관련 단백질 미 유전자 발현의 차등 여부)에 관한 연구가 흥미로울 것으로 예상된다.

유어기에 잡종 모두 양친과 유사한(우수한) 생존율을 나타내었다. 잡종 교배군에서 GB가 양친을 뛰어 넘은 초기 성장을 나타냄으로서 잡종강세를 보였다. 잡종 강세란 교잡에 의해 양친 보다 우수한 양적 형질을 나타내는 계통 생성을 뜻한다. GB의 성장 패턴 분석 시 성장실험 2주후 부터 다른 그룹과 유의적인 차이가 나타나기 시작했고, 다른 그룹에 비교하여 보다 선두 위치를 전 조사 기간 중에 유지하였다. BG 잡종은 모계와 더 유사하여 BB와 통계적 차이가 없었고, 반면 상대적으로 부계인 GG 보다는 월등히 우수한 초기 성장을 보였다. 일반적으로 잡종 어류의 성장은 양친의 중간을 따르는 것이 대부분 연구 결과이나, *Clarias batrachus*과 *Clarias gariepinus* 간 잡종 어류에서 잡종 강세가 보고된 바 있어 본 연구 결과와 유사하였다(Rahman et al., 1995). 비만도 평가에서 GG, GB, BG, BB순으로 높은 비만도를 보였고, GG의 경우 낮은 성장률에도 불구하고 높은 비만도를 나타내었다. 이것은 GG의 주둥이가 다른 그룹과 비교해 보다 짧으므로, 주둥이 길이 차이에 기인한 결과라고 생각된다.

따라서, 본 연구를 통해 생존력 높은 상반 교배 잡종 유도가 가능하였다. 잡종 유도를 통해서 GG보다 우수한 초기 성장을 보이며, 동시에 GG의 형태적 특징을 갖는 신품종 생산 가능성을 확인 할 수 있었다. BG의 경우 잡종 강제는 없으나 형태적(골격)으로 GG의 장점을 더 많이 표현하면서 GG의 성장의 약점을 보완할 수 있는 가능성을 보였으며, GB의 경우 초기 성장에 특히 잡종 강제를 나타내나 앞으로 발생 및 부화율 등의 개선을 위한 연구가 필요하다고 생각된다. 또한, 초기 형질의 경우 형질의 종류에 따라서 모계쪽 및 부계쪽과 더 유사한 특징을 보였다. 초반 형질의 특성이 후속 성장 단계에서 유지 또는 변화되는지 조사가 지속되어야 하며, 특히 생식생물학적 평가가 추가적으로 필요할 것으로 판단된다.

국문요약

시베리아 철갑상어 (*Acipenser baerii*)는 인공종묘생산시 초기 치어의 성장이 빠르고 생존율이 높다는 장점을 가지고 있으며 러시아 철갑상어 (*A. gueldenstaedtii*)는 외형적인 특성과 캐비아의 선호성으로 인해 시베리아 철갑상어에 비해 시장 선호도가 높다. 두 철갑상어 종은 현재, 우리나라에서 양식 후보종으로 고려되고 있다. 따라서 두 종의 장점을 보유한 중간 잡종 품종의 생산 가능성을 타진하기 위해서 두 종간에서 유도한 상반 교배 잡종(reciprocal hybrids) [유전자형 약어 : *A. baerii* parent (BB), *A. baerii* female x *A. gueldenstaedtii* male (BG), *A. gueldenstaedtii* female x *A. baerii* male (GB), *A. gueldenstaedtii* parent (GG)]을 대상으로 배 발생, 부화율 및 수정률 그리고 자어의 행동발달 등에 대해 조사 하였다.

본 연구에서 생산된 철갑상어 상반 잡종교배군의 수정률, 발생 배의 생존율 및 부화율은 잡종 유도 시 사용한 모계의 난질에 따라 결정되는 특징을 나타내었다. 수정률의 경우 4개의 유전자형 그룹간에 유의미한 차이가 없었으며, 배 생존율과 부

화율은 모계종과 유사하였다. 초기 발생 및 부화율에서 양친어간 (BB와 GG간) 유의적인 차이를 보였으나 BB와 BG간 유사하고, GG와 GB간 유사하다는 점에서 잡종화 유도 자체는 본 철갑상어 교배 그룹의 수정률 및 부화율에 유의미한 영향이 없다고 판단되었다. 난황자어의 형태분화 및 발달은 양친의 중간 형태를 보였으며, 주광성 반응에 있어 BG의 경우 BB와 유사한 양성의 주광성을, GB의 경우 GG와 유사하게 음성의 주광성을 보였다.

또한 잡종교배군의 유전학적 동정을 통한 잡종형성 여부를 확인하기 위해 SNP DNA marker를 이용하여 karyogamy 잡종형성 여부를 확인하였고 미토콘드리아 DNA marker를 이용하여 모계 유전방식이 잘 이루어 졌음을 확인하였다.

부화 후 약 4 개월 (초기 평균 체형 : 38.5 ± 4.6 g)에서 6 주간 성장 실험 결과, GB가 가장 높은 평균 체중 증가를 보였으며 BG는 모계인 BB와 비슷한 평균 체중을 나타냈다. 전장의 경우 실험종료시점에서 GB, BB, BG 및 GG 순으로 길어 GB가 유어기 단계에서 양 친어에 비해 우수한 체중 증가를 나타냄을 확인하였다.

감사의 글

먼저 부족한 저에게 학문의 길을 열어주고 이끌어주신 남윤권 교수님께 깊은 감사의 마음을 전합니다. 항상 제가 미처 깨닫지 못한 부분을 꾸짖고 깨우치게 해 주셔서 감사합니다. 또한 부족한 제 논문을 세심히 다듬어주시고 바로잡아 주신 김동수 교수님과 공승표 교수님께 진심으로 감사드립니다. 더불어 석사과정 중 늘 관심을 가져주시고 조언해 주신 학과의 모든 교수님들께 감사의 마음을 전합니다.

실험이 힘들 때 마다 철갑상어에 대한 흥미와 재미를 다시금 생각하게 해 주시고 아낌없는 격려와 지원을 해 주신 박철홍 사장님께도 감사의 말씀을 전합니다. 사장님, 박사학위 취득 축하드립니다. 학위과정동안 연구실에서 함께 동고동락하며 도움을 주신 강경림 선생님, 이화정 선생님, Berkay, Tulug에게도 감사합니다. 그리고 연구실에 처음 들어왔을 때부터 많은 것을 가르쳐 주셨던 이상윤 박사님, 그리고 철갑상어 유전자 조사에 큰 도움을 주신 이동관 선배에게도 더불어 감사의 말씀을 드립니다.

오랫동안 보지 못해도 항상 어제 본 것처럼 맞이해 주는 학과

동기들, 연우선배 그리고 어릴 때부터 항상 제 옆에서 힘이 되어준 은정이, 수은이, 현지, 아현이, 성호에게 감사의 말씀을 드립니다.

마지막으로 저의 버팀목이 되어주신 할머니, 할아버지, 외할머니, 고모들, 그리고 하나밖에 없는 동생 한준에게 감사의 마음을 전하며, 이 부족한 논문을 아버지 김병구 님 그리고 어머니 최도명 여사님에게 바칩니다. 감사합니다.



참고문헌

Akbarzadeh A, Farahmand H, Mahjoubi F, Nematollahi MA, Leskinen P, Rytönen K and Nikinmaa M (2011) The transcription of l-gulono-gamma-lactone oxidase, a key enzyme for biosynthesis of ascorbate, during development of Persian sturgeon *Acipenser persicus*. Comp. Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol. 158, 282-288.

Bronzi P, Rosenthal H and Gessner J (2011) Global sturgeon aquaculture production: an overview. J. Appl. Ichthyol. 27, 169-175.

Boscari E, Barmintseva A, Pujolar JM, Doukakis P, Mugue N and Congiu L (2014) Species and hybrid identification of sturgeon caviar: a new molecular approach to detect illegal trade. Mol. Ecol. Resour. 14, 489-498.

Chebanov MS and Galich EV (2013) Sturgeon hatchery manual;

FAO Fisheries and aquaculture technical paper. NO 558,
Ankara, FAO, 115

Cho YS, Douglas SE, Gallant JW, Kim KY, Kim DS and Nam YK
(2007) Isolation and characterization of cDNA sequences of
L-gulono-gamma-lactone oxidase, a key enzyme for biosynthesis
of ascorbic acid, from extant primitive fish groups. *Comp.
Biochem. Physiol. B. Biochem. Mol. Biol.* 147, 178-190.

Dettlaff TA, Ginsburg AS and Schmalhausen OI (1993) Sturgeon
fishes; development biology and aquaculture, Berlin, Springer,
pp. 300

Dunham RA, Smitherman RO, Brooks MJ, Benchakan M and
Chappell JA (1982) Paternal predominance in reciprocal
channel-blue hybrid catfish. *Aquaculture* 29, 389-396.

Gisbert E and Williot P (1997) Larval behaviour and effect of
the timing of initial feeding on growth and survival of Siberian
sturgeon (*Acipenser baeri*) larvae under small scale hatchery

production. *Aquaculture* 156, 63-76

Gisbert E and Williot P (2002) Advances in the larval rearing of Siberian sturgeon, *J. Fish Biol.* 60, 1071-1092.

Ginsburg AS and Dettlaff TA (1991) The Russian sturgeon *Acipenser güldenstädti*. Part I. Gametes and early development up to time of hatching, In *Animal Species for Developmental Studies*. Consultants Bureau, New York, NY. pp. 15-65.

Havelka M, Fujimoto T, Hagihara S, Adachi S and Arai S (2017) Nuclear DNA markers for identification of beluga and sterlet sturgeons and their interspecific bester hybrid. *Sci. Rep.* 7, 1694.

Li J, Liu D, Ma Q, Zhang X, Dai W, Chen Y, Liu Y and Song Z (2015) Discriminating Dabry's sturgeon (*Acipenser dabryanus*) and Chinese sturgeon (*A. sinensis*) based on DNA barcode and six nuclear markers. *Hydrobiol.* 757, 185-196

Liu ZJ and Cordes JF (2004) Review: DNA marker technologies and their applications in aquaculture genetics. *Aquaculture* 238, 1-37

Karpinsky MG (2010) Review: The Caspian Sea benthos: unique fauna and community formed under strong grazing pressure. *Mar Pollut Bull* 61, 156-161.

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.

Kim KK, Bang IC, Kim Y, Nam YK and Kim DS (1996) Early survival and chromosomes of intergeneric hybrids between Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* and spotted halibut *Verasper variegatus*. *Fish. Sci.* 62, 490-491.

Kim KY, Lee SY, Song HY, Park C and Nam YK (2009) Complete mitogenome of the Russian sturgeon *Acipenser*

gueldenstaedtii (Acipenseriformes; Acipenseridae). J. Fish. Sci. Tech. 12, 35-43.

Kynard B, Parker E and Kynard B (2010) Ontogenetic behavior of Kootenai river white sturgeon, *Acipenser transmontanus*, with a note on body color: A laboratory study. Environ. Biol. Fish. 88, 65-77.

McKay LR, Ihssen PE and McMillan I (1992) Early mortality of tiger trout (*Salvelinus fontinalis* × *Salmo trutta*) and the effects of triploidy. Aquaculture 102, 43-54.

Natochin YV, Lukianenko VI, Klrsanov VI, Lavrova EA, Metallov GF and Shakhmatova EI (1985) Features of osmotic and ionic regulations in Russian sturgeon (*Acipenser güldenstädti* brandt). Comp. Biochem. Physiol. A. Physiol. 80, 297-302.

Park C and Chapman FA (2005) An extender solution for the short-term storage of sturgeon semen. North Am. J. Aquacult. 67, 52-57.

Park EH and Kim DS (1984) A procedure for staining cartilage and bone of whole vertebrate larvae while rendering all other tissues transparent. *Stain Technol.* 59, 269-272.

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. *Fish. Aquat. Sci.* 16, 15-23.

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*. *Fish. Aquat. Sci.* 16, 25-34.

Rahman MA, Bhadra A, Begum N, Islam MS and Hussain MG (1995) Production of hybrid vigor through cross breeding between *Clarias batrachus* Lin. and *Clarias gariepinus* Bur. *Aquaculture* 138, 125-130.

Richmond AM and Kynard B (1995) Ontogenetic behaviour of shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum*. Copeia 1, 172-182.

Seong KB and Baik KK (1999) The early growth of Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* in the internal transplantation. Bull. Natl. Fish. Res. Dev. Inst. Kor. 57, 87-93.

Webb MAH and Doroshov SI (2011) Importance of environmental endocrinology in fisheries management and aquaculture of sturgeons. Gen. Comp. Endocrinol. 170, 313-321.

Zhuanga P, Kynard B, Zhang L, Zhang T and Cao W (2002) Ontogenetic behavior and migration of Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*. Environ. Biol. Fish. 65, 83-97.

김경길, 방인철, 김윤, 김동수 (1995) 유도된 넙치와 범가자미간 잡종 자어의 생존 및 성장에 관한 연구. 한국양식학회지 8, 69-76.

김봉석, 강언종, 장 혁, 박인석 (2012) 각시붕어 *Rhodeus*

*uyekii*와 떡납줄갱이 *R. notatus* 간 정교배체, 상반교배체의 계측
형질과 세포유전학적 분석. 한국어류학회지 24, 151-159.

송하연, 남윤권, 방인철, 김동수 (2010) 바다송사리 *Oryzias
dancena*와 자바송사리 *Oryzias javanicus* 간 잡종 유도. 한국수산
과학회지 43, 462-473.

이일로, 양형, 김종환, 김근용, 방인철 (2009) 미토콘드리아 *COI*
와 핵 *RAG1* 유전자 분석에 의한 줄종개(*Cobitis tetralineata*)와
왕종개(*Iksookimia longicorpa*) 간 자연잡종 동정. 한국어류학회
지 21, 287-290.