



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 박 사 학 위 논 문

양식산 시베리아 철갑상어(*Acipenser baerii*)와
러시아 철갑상어(*A. gueldenstaedtii*)의
인공 종묘 및 캐비아 생산

2018년 2월

부경대학교 대학원

수산생물학과

박 철 홍

수 산 학 박 사 학 위 논 문

양식산 시베리아 철갑상어(*Acipenser baerii*)와
러시아 철갑상어(*A. gueldenstaedtii*)의
인공 종묘 및 캐비아 생산

지도교수 김 동 수

이 논문을 수산학박사 학위논문으로 제출함.

2018년 2월

부경대학교 대학원

수산생물학과

박 철 홍

박철홍의 수산학박사 학위논문을 인준함.

2018년 2월

주 심 수산학박사 방 인 철 (인)

위 원 수산학박사 노 충 환 (인)

위 원 수산학박사 남 윤 권 (인)

위 원 수산학박사 박 정 환 (인)

위 원 이학박사 김 동 수 (인)

목 차

목 차	i
그림 목차(List of Figures)	v
영문요약(Abstract)	ix
Chapter-I	
양식산 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어의 발생생물학적 특징 및 인공종묘 생산	1
I. 서 론	1
II. 재료 및 방법	6
2.1. 실험 어류	6
2.2. 인공산란 유도 및 발생	6
1) 성숙 친어의 선발	6
2) 호르몬에 의한 산란 유도 및 배우자 확보	8
3) 인공수정 및 배 발생 단계의 특징 조사	10
4) 온도가 배 발생에 미치는 영향 조사	13
5) 대량 부화를 위한 점액질 제거 조건 및 부화조 설계	13
6) 부화 동기화 조건 개발	14
2.3. 자·치어의 발달 특징 조사 및 관리 조건	15

1) 형태분화 및 발달	15
2) 유영 및 행동 발달	15
3) 초기 생존율 및 성장	17
4) Pigment plug 배출 동기화 조건 조사	17
2.4. 대량 종묘 생산	18
2.5. 통계 분석	19
III. 결 과	20
3.1. 인공산란 유도에 의한 배우자 생산	20
1) 성숙도 평가	20
2) 호르몬 주사에 의한 배우자 생산 및 수정률 평가	22
3.2. 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어의 발생 단계별 형태학적 특징	26
1) 수정란 및 초기 난할 특징	26
2) 포배기 및 낭배기 특징	27
3) 신경관, 전신(pronephros) 원기 및 두부 형성기 특징	30
4) 심장 형성기 및 부화 직전 배아 발달의 특징	32
5) 부화 및 부화 자어의 특징	35
6) 서로 다른 온도에서의 부화 특징	36
3.3. 대량 부화조건 검토	41
1) 점액질 제거 조건	41
2) 부화용기 및 수용 수정란 수에 따른 생존율	44
3) 부화 동기화 조건	44
3.4. 자·치어의 초기 발달 특징	48
1) 자어의 형태 발달	48

2) 난황자어의 길이 성장	63
3) 난황자어의 주광성 변화 비교	63
4) 난황자어의 군집형성 및 주류성 변화 비교	66
5) Pigment plug 배출 양상 비교	69
3.5. 자·치어의 초기 생존율 및 성장	72
1) 독립 사육에서의 초기 생존율	72
2) 초기 생존율 및 성장	74
3.6. 대량 종묘 생산	77
IV. 고 찰	84
 Chapter-II	
양식산 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어로부터의 캐비아 생산 및 평가	99
I. 서 론	99
II. 재료 및 방법	103
2.1. 실험 어류	103
1) 시베리아 철갑상어 대상 암컷 집단	103
2) 러시아 철갑상어 조사 대상 암컷 집단	103
2.2. 난소 성숙도 조사	105
1) 사육 환경	105
2) 성숙도 조사용 암컷 선발 및 GSI 검사	105
3) 변동 요인의 설정	106

2.3. 캐비아 제조 및 평가	106
1) 제조를 위한 일반적 과정 및 방법	106
2) 난소로부터 캐비아 제조 수율 조사	107
3) 품질에 대한 심미도 평가	108
III. 결 과	110
3.1. 계절에 따른 난소 성숙	110
1) 시베리아 철갑상어	110
2) 러시아 철갑상어	110
3.2. 어체중 및 연령에 따른 생식소숙도지수	113
1) 시베리아 철갑상어	113
2) 러시아 철갑상어	120
3.3. 성숙 난소로부터 캐비아 회수 수율	121
1) 중간 회수율 비교	121
2) 어종 별 GSI가 캐비아 회수율에 미치는 영향	126
3.4. 제조 캐비아의 심미 평가	126
IV. 고 찰	131
국문요약	137
감사의 글	140
참고 문헌(References)	142

그림 목차(List of Figures)

Fig. 1. Photographs of Siberian sturgeon and Russian sturgeon	7
Fig. 2. Gonad biopsy to examine the maturation status of gametes from broodfish for hormonal induced breeding	9
Fig. 3. Gamete collection for artificial insemination	12
Fig. 4. Representative images to show the polarization of eggs collected from Siberian sturgeon females subjected to artificial hormonal spawning trials	21
Fig. 5. Time (hours) to the first ovulation (egg release) after second LHRH-analogue injection in Siberian and Russian sturgeons	23
Fig. 6. Numbers of ovulated eggs produced from Siberian sturgeon and Russian sturgeon females	24
Fig. 7. Average fertilization rates in the insemination trials between artificially spawned eggs and collected sperm	25
Fig. 8. Early cleavages of Siberian sturgeon and Russian sturgeon embryos	28
Fig. 9. Embryonic development from blastula to complete gastrulation in Siberian sturgeon and Russian sturgeon	31
Fig. 10. Embryonic development of Siberian sturgeon and Russian sturgeon from neurulation to the formation of excretory rudiment and anterior head	33
Fig. 11. Development of Siberian sturgeon and Russian sturgeon embryos from heart formation to pre-hatching stage	34
Fig. 12. Hatch-out of Siberian sturgeon and Russian sturgeon embryo	37
Fig. 13. Effects of incubation temperature on development speed of	

Siberian and Russian sturgeon embryos	39
Fig. 14. Effects of incubation temperature on the survival rates of Siberian and Russian sturgeon embryos	42
Fig. 15. Treatment conditions of anti-adhesive reagent (Fuller's Earth) for Siberian and Russian sturgeon fertilized eggs	43
Fig. 16. Recommended hatching incubator for Siberian sturgeon fertilized eggs	45
Fig. 17. Recommended hatching incubator for Russian sturgeon fertilized eggs	45
Fig. 18. Effects of incubation temperature on the lag time to hatching of Siberian and Russian sturgeon embryos	49
Fig. 19a. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (0 DPH; just hatched)	51
Fig. 19b. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (1 DPH)	51
Fig. 19c. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (2 DPH)	54
Fig. 19d. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (3 DPH)	54
Fig. 19e. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (4 DPH)	58
Fig. 19f. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (5 DPH)	58
Fig. 19g. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (6 DPH)	60
Fig. 19h. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (7 DPH)	60
Fig. 19i. Larval development and morphology of Siberian sturgeon	

and Russian sturgeon	62
Fig. 20. Daily change of total length for Siberian sturgeon and Russian sturgeon prolarvae (up to 9 days post hatch)	64
Fig. 21. Time course patterns for phototactic responses of Siberian sturgeon and Russian sturgeon fry	67
Fig. 22a. Rheotaxis and clumping behavior of Siberian and Russian sturgeon fry during the period from 0 DPH to 5 DPH	70
Fig. 22b. Rheotaxis and clumping behavior of Siberian and Russian sturgeon fry during the period from 5 DPH to 10 DPH	71
Fig. 23. Effects of incubation temperature on the lag time to pigment plug evacuation of Siberian and Russian sturgeon prolarvae	73
Fig. 24. Early mortality patterns of Siberian and Russian sturgeon larvae and fry raised in independent tanks	75
Fig. 25. Survival rates of Siberian and Russian sturgeons larvae and fry up to 30 days after hatching under separate, independent rearing conditions	76
Fig. 26. Early growth of Siberian and Russian sturgeon fry	78
Fig. 27. Effects of rearing density on viability and growth of Siberian and Russian sturgeon fingerlings	80
Fig. 28. Scale-up fingerling production of Siberian sturgeon with an optimized protocol	81
Fig. 29. Scale-up fingerling production of Russian sturgeon with a semi-optimized protocol	82
Fig. 30. Seed production of farmed Siberian and Russian sturgeons in a pilot scale	83
Fig. 30. Experimental facilities used for the comparative examination of GSIs from Siberian and Russian sturgeon females	104
Fig. 32. Seasonal variations of gonadosomatic index (GSI) in Siberian	

sturgeon females for caviar production	111
Fig. 33. Representative photograph to show a typical Siberian sturgeon female with high GSI value (> over 15%)	112
Fig. 34. Seasonal variations of gonadosomatic index (GSI) in Russian sturgeon females for caviar production	114
Fig. 35. Representative photograph to show a typical Russian sturgeon female with high GSI value (> over 16%)	115
Fig. 36. Gonadosomatic index (GSI) scores in different size or age groups of Siberian sturgeon females	117
Fig. 37. Gonadosomatic index (GSI) scores of differently sized Siberian sturgeon females within a given age group	118
Fig. 38. Gonadosomatic index (GSI) scores of differently aged Siberian sturgeon females within a given size group	119
Fig. 39. Gonadosomatic index (GSI) scores in different size or age groups of Russian sturgeon females	122
Fig. 40. Gonadosomatic index (GSI) scores of differently sized Russian sturgeon females within a given age group	123
Fig. 41. Gonadosomatic index (GSI) scores of differently aged Russian sturgeon females within a given size group	124
Fig. 42. Overall recovery efficiency (%) from ovary to caviar in Siberian and Russian sturgeons	125
Fig. 43. Effects of GSI levels on the recovery efficiency (%) from ovary to caviar in Siberian and Russian sturgeons	127
Fig. 44. Relationship of fish size (body weight) with the recovery efficiency (%) from ovary to caviar in Siberian and Russian sturgeons	128
Fig. 45. Blind tasting of caviar prepared from Siberian sturgeon and Russian sturgeon	130

Artificial seedling propagation and caviar production in farmed Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) and Russian sturgeon (*A. gueldenstaedtii*)

Chulhong Park

Department of Fisheries Biology, The Graduate School,
Pukyong National University

Among the sturgeon introduced in Korea in the late 90s and early 2000, two types of sturgeon, which are emerging as new fish farming resources in present, Siberian sturgeon *Acipenser baerii* and Russian sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* were studied to compare their biological characteristics with particular interests in development, growth and maturation and caviar production. The experiment were carried out with the brood stocks of 14-year-old Siberian sturgeons and 15-year-old Russian sturgeons in Dinoville Aquafarm Inc. located in Hamyang, Korea. Gamete characteristics (*e.g.*, size, external shape, color, and maturation degree etc.) were evaluated based on abdominal micro-incision technique. Eggs and semen were collected from both sturgeon species for artificial propagations.

Conditions for induced hormonal breeding (*i.e.*, ovulation and spermiation) were established for both species by using the intramuscular injection of luteinizing hormone-releasing hormone analogue (LHRH-a). Artificial fertilization was carried out by modified wet method, and early embryonic characters such as fertilization, development and hatching events were scrutinized. Custom-designed incubator for each species was developed for optimal nursery of embryos in a large scale. After hatch-out, early ontogeny and larval performances including, survival, growth, feeding behavior, swimming ability, swimming pattern and phototactic responses were compared between the two sturgeon species. In the seedling propagation experiment of two species, the removal of the mucosubstances from the fertilized eggs, which had a great influence on the survival rate in the spawning event, took a considerable amount of time due to the strong adhesive property of the Russian sturgeon egg compared to the Siberian sturgeon's. The initial swimming ability and survival rate of Russian sturgeon prolarvae was also lower than those of Siberian sturgeon. Therefore, it was confirmed that there is a specific period of occurrence and rearing period in which technical method improvement is required when attempting to produce seedlings in a large scale.

Production characteristics of caviar from both Siberian sturgeon and Russian sturgeon were evaluated based on the

comparative evaluation of factors affecting gonadosomatic index (GSI) and the caviar yield. Under the same culture conditions (Dinoville aquafarm), the interrelationship between ovarian GSI and related parameters (season, fish age, and body weight) were examined for 6 years (in Siberian sturgeon) and 4 years (in Russian sturgeon). As a result, there was no significant differences in the GSI between the two species. However, the Russian sturgeon displayed the caviar production weighted double amount of the absolute weight on each individual than that of the Siberian sturgeon. Absolute caviar production of Russian sturgeon was also more than twice as much as that of Siberian sturgeon on each individual. GSI scores of both species were highly related with season, in which the seasonal variation of GSI was species-specific. Overall, age factor influenced GSI and caviar yield than body weight did in both species. In addition, the recovery of actual caviar from gonadal tissues was significantly better in Russian sturgeon (about 4%) than was in Siberian sturgeon. The gap between the two species seems to be more signified in the commercial production of caviar, considering the price of caviar in Russian sturgeon is about 30% higher than that of Siberian sturgeon in both domestic and overseas caviar markets. A survey on the preference of the four types of caviar product (two of Siberian sturgeon and two of Russian sturgeon) was conducted through questionnaires on the appearance, flavor and general

preference to the expert group, which could be useful baseline data to approach Korean market for farmed caviar.

Taken together, data from this study could provide not only fundamental information to get deeper understanding on reproductive biology of the two candidate surgeon species but also useful guideline to improve the practice and efficiency of caviar production with high market competitiveness in Korean aquaculture domain.



Chapter-I

양식산 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어의 발생생물학적 특징 및 인공종묘 생산

I. 서론

자연 생태계에 존재하는 가장 큰 담수 어종중 하나로 백악기 시대부터 현존하는 고대 원시 어류인 철갑상어는 북반구의 중위도 이북(유럽, 아시아, 북미 등) 하천과 기수지역, 또는 바다에 분포하며 1목 2과 26종으로 알려져 있다(Cho et al., 2007; Kim et al., 2009; Akbarzadeh et al., 2011). 골격의 70% 이상이 연골로 이루어져 있으나 분류학상 경골어류로 분류되어 있으며, Acipenseridae 과(科)에 속하는 어류로 *Acipenser*, *Huso* 속(屬)이 있으며, Scaphirhynchidae 과(科)의 *Scaphirhynchus* 속(屬)도 철갑상어로 칭한다(Blacklidge and Bidwell, 1993; Bemis et al., 1997; Webb and Doroshov, 2011).

종간의 차이가 있으나 일반적으로 1 m 내외에서 3 m 이상 자라며 체중은 성어의 경우에 5kg 내외에서 200kg 이상이며 대형종인 벨루가 철갑상어(*Huso huso*)나 칼루가 철갑상어(*Huso*

dauricus)의 경우 1톤이 넘는 개체가 보고되기도 하였다. 수명은 대형종의 경우 150년 이상 된 개체가 보고되기도 하지만 일반적으로 100년 내외라고 알려져 있다. 성질이 온순하고 이빨이 없으며 하천이나 바다의 바닥에서 실린더 형태의 좁고 긴 주둥이 주위 4개의 수염으로 조개와 같은 어패류나 새우 등의 갑각류, 작은 물고기 등을 감지하여 먹이로 한다. 자연 생태계에서 성숙을 위해 최소 10년 이상의 기간을 필요로 하며 이 후 번식기에 담수로 돌아와 산란을 하는 회귀성 어류(anadromous fish)이다(Billard and Lecointre, 2001). 연어와는 달리 산란 후 다시 회귀하여 평생 동안 수차례 산란 회귀를 반복하는데 바다 혹은 기수지역에서 성장 성숙하여 담수로 회귀 산란하는 종과 일생을 담수에서 서식하는 종이 있다(LeBreton et al., 2010). 실린더형의 몸체로 비늘은 꼬리지느러미 부분에 약간의 경린(ganoid scale)만이 존재하고, 딱딱한 굳비늘(scute)이 5열로 등과 옆구리, 배 부분에 배치되어 있다(Birstein et al., 1997; Karpinsky, 2010).

우수한 육질, 가죽, 지느러미 등 기타 여러 부위의 효용가치와 함께 가장 비싼 식재료로 거래가 되어온 철갑상어 알(캐비아)을 획득할 수 있다는 이유로 지난 세기 철갑상어는 무분별한 포획의 희생물이 되어 1998년 4월 이후 현재까지 전 종이 국제

적 멸종 위기종 동식물 거래 협약(the Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora; CITES)에 의해 관리되고 있다(Karpinsky, 2010). 이에 새로운 고부가가치 양식 어종의 개발과 멸종 되어 가는 수산 자원 보호를 위한 목적으로 지난 30년 가까이 유럽, 미주, 아시아 약 35개국에서 지속적으로 여러 종의 철갑상어가 육성 관리 되어왔으며 현재 철갑상어 및 철갑상어의 부산물의 지속적인 상업적 이용을 위해서는 양식을 통한 생물생산이 절대 대안으로서 특히 중요시된다(Hochleithner and Gessner, 1999; Kim et al., 2005; Vasil'ev, 2009).

우리나라는 1997년 3월, 양양 내수면 연구소를 통해 러시아로부터 들여온 시베리안 철갑상어(*Acipenser baerii*) 치어를 시험 사육한 것이 공식적인 첫 입식 기록으로 보고되어 있다(Seong and Baik, 1999). 이 후 빠르진 않지만 지속적으로 성장한 국내 철갑상어 양식은 현재 각 도의 내수면 연구소와 수심 군데 민간 양식장에서 대략 7종, 25만 마리 이상의 다양한 연령대 개체들을 양식하고 있다. 7종 모두 러시아, 중국, 이탈리아, 일본, 캐나다 등에서 치어 혹은 수정란이 입식되어 확보된 것이며 10여년이 지난 현재 국내 자체 종묘생산이 가능한 종 중 사육의 용이성과 시장의 경제적 가치 등을 고려하여 앞으로 가장 보편적

으로 양식과 판매가 이루어지리라 예상되는 철갑상어 종은 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어 두 종이라 할 수 있다. 국내 뿐 아니라 전 세계 철갑상어 어육 및 캐비아 시장에서도 이 두 종에 대한 선호도가 높은 것을 알 수 있는데 이는 국내와 마찬가지로 철갑상어 양식을 통해 생산되는 최종 상품(캐비아)의 경제적 가치를 고려한 결과라고 보여진다. 시베리아 철갑상어(*Acipenser baerii*)는 전 세계적으로 가장 널리 양식되어지는 철갑상어 중 하나로 북반구 전역의 강과 하천, 호수 및 일부 기수지역에 분포하고 있는 담수 어종이다. 1982년 프랑스에서 양식어종으로 채택된 이래 양식산 캐비아와 어육을 가장 많이 생산하는 품종으로 현재 한국, 일본, 중국, 남미 그리고 유럽 전역과 미주 지역에서도 양식하고 있으며 철갑상어 초기 양식어종으로 현재 양식산 캐비아 생산의 절반을 차지하고 있다(Ruban, 2005). 타 철갑상어보다 종묘 및 사육이 용이하고 비교적 짧은 시간에 성 성숙이 이루어지는 종으로 현재 우리나라에서도 가장 많은 수의 개체가 양식되고 있다. 러시아 철갑상어(*Acipenser gueldenstaedtii*)는 카스피 해 3대 어종중 하나로 알려져 있으며 ‘오세트라(Oscietra, Osetra)’라고 불린다. 러시아의 주 종으로 과거 자연산 캐비아의 80% 이상을 러시아 철갑상어에서 생산한 적이 있을 정도로 캐비아를 위한 주 종이라 할 수 있다. 양

식은 시베리아 철갑상어보다 다소 늦은 1997년에 유럽의 여러 나라 등지에서 시작되어 현재 전 세계적으로 양식산 캐비아를 생산하는 주 종으로 부상하고 있다. 시베리아 철갑상어에 비해 성 성숙이 오래 걸리며 양식 환경에서 크기는 시베리아 철갑상어의 두 배 가까이 성장한다. 캐비아의 가치도 시베리아 철갑상어의 그것에 비해 높게 취급되나 양식 역사가 짧아 초기 치어 관리와 종묘 등이 시베리아 철갑상어에 비해 보편적이지 못하며 초기 치어시기의 돌연적인 폐사가 발생하기도 한다.

이에 본 연구는 최근 들어 새로운 어류 양식 자원으로 부상하고 있는 두 종의 철갑상어인 시베리아 철갑상어 *Acipenser baerii*와 러시아 철갑상어 *Acipenser gueldenstaedtii*의 인공 종묘 생산 시도를 위한 좀 더 명확한 의사 결정의 근거를 마련하고 초기 발생과정, 부화조건 및 자치어의 분화 발달과 초기 인공먹이 공급 시점에 있어 발생하는 명확하지 않은 폐사나 성장률 저하의 원인 규명, 그리고 각 종의 특이적인 발생, 성장 및 초기 발달에 미치는 환경요인의 차이점을 찾아 비교 분석하여 각각의 종에 적합한 대량 종묘생산 시스템 구축과 최적의 초기사육 조건을 알아보고자 수행하였다.

II. 재료 및 방법

2.1. 실험 어류

본 실험에 사용된 시베리아 철갑상어는 2003년 이탈리아의 양식회사(Azienda Agricola V.I.P)에서 디노빌영어조합법인(경남 함양, 대한민국)으로 수정란 상태로 입식하여 생산한 개체군중 선발하였으며 2009년에 처음 종묘 생산에 이용 가능한 친어 그룹들이 확보되기 시작하였다. 러시아 철갑상어 역시 2002년 동 이탈리아의 양식회사인 Azienda Agricola V.I.P로부터 수정란을 입식하여 디노빌영어조합법인에서 사육 관리한 친어 그룹으로서 2015년에 국내에서 처음 종묘 생산에 이용 가능한 친어 개체들을 확보하였다(Fig. 1).

2.2. 인공산란 유도 및 발생

1) 성숙 친어의 선발

시베리아 철갑상어 *Acipenser baerii*의 경우 인공종묘를 위해 사용한 친어는 2003년에 부화한 개체군중 선발하였다. 친어는 양식장의 지하수를 이용하여(연중 12°C ~ 20°C)에 사육 관리하였고 부화 후 6년째 되던 2009년 복부 미세 절개를 통해 생식소 검경에 의해 암수를 판별하고 선별 관리 사육하였다. 2011

A. baerii



A. gueldenstaedtii



Fig. 1. Photographs of Siberian sturgeon and Russian sturgeon

년부터 2017년까지 총 6회의 걸친 인공산란유도를 위해 매년 산란 시기 2 개월 전인 1 월말 경에 모든 후보 친어 개체들로부터 난소조직과 정소조직의 육안 검사를 통해 대상 친어들을 선발하였다(Fig. 2). 아울러 필요한 경우 채취한 샘플 난은 polarization index (PI) 조사를 시행하여 종묘를 위한 호르몬 유도 시점을 결정하는데 사용하였다(Van Eenennaam et al., 1996). 매년 대략 2마리에서 3마리의 암컷 친어를 선발하였고 수컷은 4~6마리를 선발하여 종묘에 사용하였다.

러시아 철갑상어 *Acipenser gueldenstaedtii*의 경우 동일 양식 환경에서 2010년부터 암수를 구분하여 관리를 시작하였고 2015년과 2017년에 각각 인공산란 유도 및 인공종묘 실험을 실시하였다. 친어의 선발 방법은 시베리아 철갑상어에 사용한 방법을 준용하여 실시하였다.

2) 호르몬에 의한 산란 유도 및 배우자 확보

선택한 암컷 후보들은 배란 유도를 위해 luteinizing hormone-releasing hormone analogue des-Gly10, [D-Ala6] LH-RH ethylamide (LHRHa; Syndel Laboratories Ltd. Qualicum Beach, BC, Canada)를 어체중당 10-15 µg/kg 농도로 등지느러미(dorsal fin) 근육과 측면 굳비늘(scute)의 중간 부위에 1차 주사

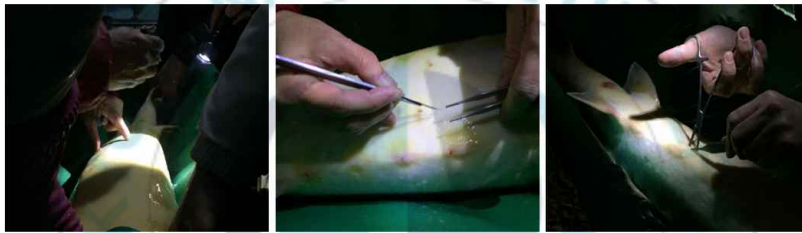


Fig. 2. Gonad biopsy to examine the maturation status of gametes from broodfish for hormonal induced breeding

한 후 12시간 뒤 2차로 어체중당 90-135 $\mu\text{g/kg}$ 을 최종 농도로 주사하였다. 수컷 친어는 LHRHa를 어체중 당 100 $\mu\text{g/kg}$ 으로 1회 주사하였다. 유도 산란 시도 기간 동안 친어 관리 수온은 대략 14°C 내외였다. 주사 후 암컷 친어들은 개별 산란유도 수조에 관리하며 적은 수의 방란이 시작될 때까지 지속적으로 관찰하고 방란 시간을 기록하였다. 초기 방란이 시작되었을 때 완전한 배란이 이루어 질수 있도록 2 ~ 5시간 동안 관찰하면서 지속적으로 방란 된 난의 수가 증가하는 것을 확인한 후 인공 종묘 작업을 수행하였다. 수컷의 경우 복부 압박으로 생식공 (urogenital pore)에서 정액이 분출되는 것을 확인한 후 실리콘 튜브가 연결된 주사기를 생식공에 삽입하여 정액을 추출, 냉장 보관(5°C 내외)하여 사용하였다(Park and Chapman, 2005). 인공 종묘를 위한 산란 유도 호르몬의 농도 및 주사 방법과 방란, 방정시의 처리 방법 등은 두 종간에 크게 차이를 두지 않았다.

3) 인공수정 및 배 발생 단계의 특징 조사

암컷으로부터 복부 압박과 제왕 절개 방식으로 채란하였으며 난의 무게를 측정하여 전체 배란된 난의 수를 기록하였다. 채란 후 암컷 친어는 절개 부위를 수술용 실로 봉합한 후 회복 수조로 옮겨 일주일의 회복 기간을 거쳐 사육 수조로 돌려보냈

다. 정자는 미리 채정하여 5°C 내외에 보관하였으며 준비된 정액을 사용하여 습식법(사육수와 1:200으로 희석)으로 인공 수정하였다(Gisbert and Williot, 2002; Park, 2012). 수정 후 약 150 초 동안 희석 정액과 혼합된 상태로 놔두었다가 새 물로 씻어낸 후 난의 점착성을 제거하기 위한 작업을 실시하였다. 점착성 제거를 위해 교질 제거 재료인 Fuller' earth (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 섞어 점착 물질을 씻어내는 것을 20분에서 1시간 이상 반복하여 난이 점착력을 잃는 시기까지 계속 수행하였다(Fig. 3).

점착성이 제거된 수정란은 자체 제작한 부화기에 옮겨 부화시 까지 관리하였다. 수정이 확인된 난은 랜덤 샘플링을 통해 각각의 암컷과 수컷 친어간의 수정률을 기록하였다. 죽은 배아는 6시간 간격으로 제거하였다. 수정 직후부터 부화까지 약 30 단계로 나누어 두 종의 철갑상어 배아의 발달 단계를 배정하였다. 인공 수정 후 배아는 주기적인 현미경 관찰을 통해서 낭배기(gastrula stage) 초기까지 매시간 채집하였고 심장 박동시작 시기까지는 매 2시간 그리고 부화가 시작되는 시점까지는 매 4시간에서 6시간 마다 배아를 채집하였다. 각각의 배우체 그룹에서 매회 20개의 배아를 채집하여 4% paraformaldehyde에 고정하였다. 배아는 각 단계별로 입체 현미경(AZ100; Nikon, Tokyo,



Fig. 3. Gamete collection for artificial insemination

Japan)으로 관찰 기록하였으며 각각의 단계에서 배아 발달의 형태적 특성은 AZ100 현미경에 장착된 NIS-Elements BR image analysis software (Nikon)를 이용하여 분석하였다.

4) 온도가 배 발생에 미치는 영향 조사

난 발생과 부화에 온도가 미치는 영향에 관한 조사를 실시하였다. 4가지 온도 조건(11°C, 15°C, 19°C, 및 23°C)아래 각각의 난 그룹에 최소 330개의 수정란을 채취, 배아 발생 속도와 상태를 조사하였다. 실험 온도는 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 이내로 전자식 자동온도 조절기를 사용하여 유지하였다. 정상 발생 가능 온도 구간 및 온도에 따른 발생 속도를 조사하기 위해서 포배기(blastula), 낭배기(gastrula) 시작, 낭배기 종료, 신경절 형성기(neurulation), 심장 형성기(heart formation) 및 최초 부화에 도달하는 시간을 설정한 각 온도 그룹에서 비교하였다. 아울러 각 발생 단계에 도달한 시점에서 각 온도 배양 그룹에서의 배아의 생존율을 백분율로 조사함으로써 배양 온도가 발생 배의 생존율에 미치는 영향을 평가하고자 하였다.

5) 대량 부화를 위한 점액질 제거 조건 및 부화조 설계

대량 부화를 위한 조건 개발을 위해 배란 후 수정 시 난의 점착성을 제거하여 박테리아나 곰팡이에 의한 폐사를 최소화할

수 있는 작업조건을 평가하였다. 점액질 제거에 필요한 교질 제거제의 사용량과 제거 시간을 조사하고 시베리아 철갑상어 및 러시아 철갑상어 종에 최적 제거 시간 및 사용량을 알아보고 난이 서로 붙거나 부화기에 점착되지 않도록 용기의 선택과 크기 그리고 난을 세척하는데 필요한 용기들을 선택 결정하였다. 부화기의 선택과 사용에 있어 각각의 종별 난의 특성에 따라 변형 개선하여 부화 최적화를 유도하였다. 수질의 유지는 작은 수중 펌프(75W)를 사육수 400리터를 수용한 각각의 수조에 설치 순환율을 올려 용존산소를 8 ppm 이상을 유지할 수 있는 조건을 구축하였고 아울러 미세거름망 필터를 이용하여 고형물을 제거하였다.

6) 부화 동기화 조건 개발

서로 다른 배양 온도가 부화 개시부터 부화 종료까지 소요되는 기간에 미치는 영향을 조사함으로써 부화 동기화가 개선될 수 있는지 여부를 조사하였다. 앞서의 4가지 다른 배양 온도 (11°C, 15°C, 19°C 및 23°C) 조건에서 정상적으로 꼬리를 움직이는 단계의 부화 직전 배아 200개를 선발하여 부화가 종료되는데 소요되는 기간 내에서 24시간 간격으로 조사하였다. 선발한 배아(embryo)를 부화조에 수용하고 4시간 간격으로 부화 자어

마리수를 측정하여 매일의 부화 마리수를 기록하면서 부화가 종료되는 시점까지 관찰을 지속하였다. 본 조사는 2반복 그룹을 설정하여 수행하였다.

2.3. 자·치어의 발달 특징 조사 및 관리 조건

1) 형태분화 및 발달

난황 자어 시기와 pigment plug (yolk plug)가 이탈 하고 외부 먹이 섭취가 가능한 자어로 전환된 후 두 종의 자어의 외형적 변화를 비교하였다. 외형적 형태의 변화는 두개안면 (craniofacial; cranial structure, 눈, 아가미, 감각기관 등), 지느러미 발달, 등지느러미 부위의 굳비늘(scute)의 발달(성어에 가까운 완전한 굳비늘의 형성이 이루어지는 시기와 형태의 차이를 비교), 수염의 생성과 성장의 변화, 부등형(heterocercal) 꼬리지느러미 형성을 조사하였다. 아울러 자어의 형태 발달이 진행되면서 관찰되는 이빨의 생성 및 퇴화 시점과 그에 따른 행동 양상을 종별로 비교하였다. 이빨의 뿌리부분이 처음 관찰 된 시점과 가장 성숙한 형태로 이루어지는 시점, 그리고 개체간의 이빨 수 등을 비교 관찰하였다.

2) 유영 및 행동 발달

일자별로 유영 및 행동발달을 관찰하기 위해 표층과 저층의

유영에 관한 기록을 하였고 pigment plug 배출 전까지 명기 와 암기 별로 행동의 변화를 관찰 기록하였다. 군집형성(clumping) 및 주류성(rheotaxis) 변화 관찰 조건 기술을 위해 수조를 설치 하고 사육수가 유입되는 부분의 물 흐름에 대상 자어들의 반응을 관찰 기록하였다.

시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어의 주광성 평가를 위해서 2 m x 1.2 m x 0.2 m 직사각 PP 수조를 순환여과식 시스템으로 설계한 후 각 수조에 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어 부화 자어 각 1,200미씩을 수용하였다. 주광성 반응을 정량화하기 위해서 수면으로부터 30 cm 위에 500 루멘 밝기의 광원을 동일하게 설치하고 광원의 바로 아래에는 50 cm x 50 cm x 15 cm의 정사각형 틀을 수조 내에 장착하였다. 실내의 모든 조명을 소등한 상태에서 광원을 점등한 후 2분 내에 정사각형 틀 안으로 모이는 개체들의 수를 촬영하여 주광성 정도의 임의(arbitrary) 값으로 측정한 후 최대 주광성을 보이는 일자의 개체 수를 calibrator로서 100으로 설정, 각 일자별 포집 개체 수를 상대 주광성 강도 값으로 환산하여 비교하였다. 반면 음성 주광성의 경우 사각 틀에서 회피하여 광원이 없는 쪽으로 이동하는 마리 수, 빛에 대한 스트레스 반응, 광원 반대쪽에서 모이는 개체 수 등을 평가하여 역시 가장 역주광성 특징이 높은 수

치를 100으로 설정 후 일자별 상대 값을 계산하여 광반응 패턴을 분석하였다. 각 조사 마다 3반복 측정을 한 후 평균값을 계산하였으며 정사각형 틀 안쪽 및 바깥쪽을 모두 촬영하여 개체수를 측정하였다. 주광성 측정은 부화자어(0 DPH)부터 부화 후 10 일까지 매일 동일 시간에 측정하였다.

유영속도 및 활동성 측정 조건을 알아보기 위해 러시아 철갑상어와 시베리아 철갑상어 자어를 동일한 조건의 유속에 놓고 행동의 변화를 관찰 기록하였다.

3) 초기 생존율 및 성장

독립사육 조건에서 부화 후 1개월까지 두 종간의 초기 생존율 및 성장을 비교 평가하기 위하여 동일한 밀도와 동일한 수조 형태에 각각의 치어를 수용하여 폐사율과 최종 생존율 및 성장 차를 비교 관찰하였으며 동일한 수의 두 종을 혼합 사육하여 유영 능력 및 먹이 경쟁 능력을 비교 관찰하고 종간 생존율과 성장률을 비교하였으며 또한 독립 사육 조건에서의 생존율과 성장률, 혼합 사육 조건에서의 생존율 및 성장률도 비교 관찰하였다.

4) Pigment plug 배출 동기화 조건 조사

난황자어에서 먹이섭취를 시작하는 자어로 전이하는데 있어

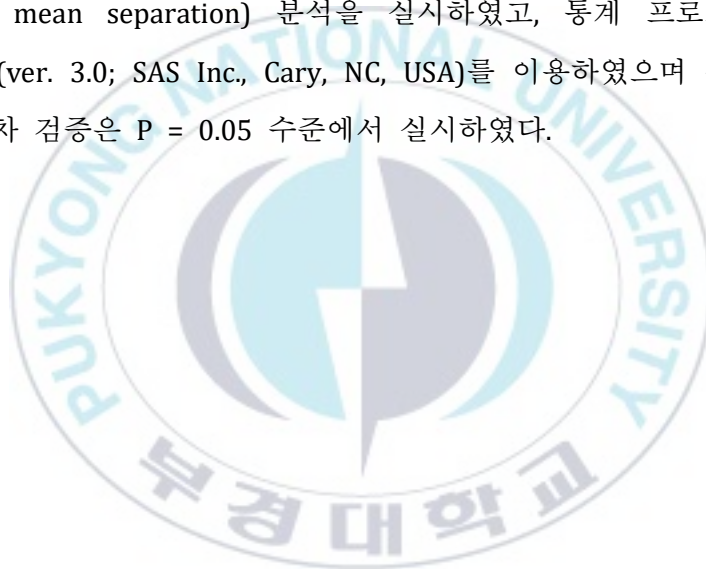
온도의 영향을 평가하기 위해 pigment plug가 이탈하는 양상을 세 가지 온도 조건(11°C, 15°C, and 19°C)에서 조사하였다. 부화 직후 난황자어는 각각의 온도 조건의 그룹으로 선발 이동하였고 pigment plug가 이탈하는 백분율을 조사하기 위해 매일 각각의 그룹에서 36마리를 무작위 선별하여 조사하였다. 누적 폐사율과 생존율 또한 부화 시기부터 pigment plug가 이탈하는 시점까지 매일 지속적으로 기록하였다. 이 또한 각 온도 그룹에서 2개의 반복 그룹이 사용되었다.

2.4. 대량 종묘 생산

2013년 시베리아 철갑상어의 종묘생산 실험 이후 시베리아 철갑상어는 4회, 그리고 러시아 철갑상어는 2회에 걸쳐 최적 치어 사육조건을 대량 생산에 적용하여 각 종의 성장률을 알아보고자 부화 후 일개월간 실내 사육을 실험에서 나타난 최적 밀도 조건에 따라 순차적으로 밀도를 조정하면서 수행하였고 이후 옥외의 대형 순환여과식 수조로 이동하여 순차적 밀도 조정을 수행하면서 약 2주 이상 추가 사육하였다. 이후 각 종간의 길이와 무게 성장치를 비교하였다. 대량 생산 조건에서 부화 3개월까지 밀도와 마리수의 조건을 달리한 후 생산 성적을 비교 분석하여 최적 인공종묘 생산 조건을 구축하였다.

2.5. 통계 분석

수정률, 부화율, 생존율, 성장(길이 및 무게) 등 두 종간의 형질 평가에서 도출된 평균의 유의적 차이를 검증하기 위해서 student t-test 및 ANOVA 분석(Duncan's multiple ranged tests에 의한 mean separation) 분석을 실시하였고, 통계 프로그램은 SAS (ver. 3.0; SAS Inc., Cary, NC, USA)를 이용하였으며 평균간 유의차 검증은 $P = 0.05$ 수준에서 실시하였다.



III. 결 과

3.1. 인공산란 유도에 의한 배우자 생산

1) 성숙도 평가

배란 가능한 난을 가진 암컷을 선발하기 위한 성숙도 평가는 복부의 미세절개를 통해 복강 내 생식소 조직에서 추출해낸 난을 먼저 육안으로 그 크기와 색깔 그리고 난의 형태로 일차 판단하였다. 이후 육안 판별로 선발된 암컷 개체의 난 샘플을 철갑상어 등장액(0.7% 식염수)에 담겨진 앰플병 상태로 물에 넣어 1분 이하로 중탕 가열하여 찬물에 식힌 후 neutral formalin에 저장하여 상온에서 약 24시간 탈수(dehydration) 하였다. 이 후 반으로 절단하여 단면에 나타나는 난핵의 형태와 위치를 보고 배란 가능 여부를 판단하였다. 객관적 판단을 위해 난의 지름과 난핵의 위치부터 동물극까지의 거리를 나누어 백분율로 환산(polarization index; PI 측정)한 후 PI가 0.1이하인 경우 종묘에 사용 가능한 조건을 갖춘 것으로 판단하였다(Fig. 4). 4년간 시베리아 철갑상어 15마리, 러시아 철갑상어 4마리를 위와 같은 과정으로 선발하여 호르몬을 통한 배란을 유도한 결과 시베리아 철갑상어 13마리, 러시아 3마리로부터 배란에 성공하여 수정란을 확보하였다.

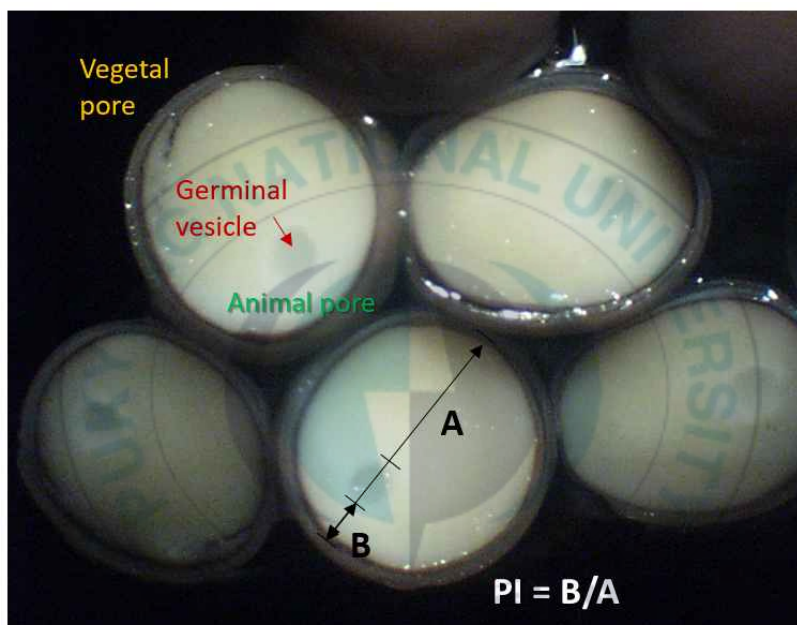


Fig. 4. Representative images to show the polarization of eggs collected from Siberian sturgeon females subjected to artificial hormonal spawning trials

2) 호르몬 주사에 의한 배우자 생산 및 수정률 평가

시베리아, 러시아 철갑상어 암컷으로부터 배란을 유도해내는 데 걸리는 시간은 이차 호르몬 주사 후 대략 32시간에서 50시간 이내였으며 52시간 이후 배란이 이루어지는 경우는 관찰할 수 없었다. 두 종의 철갑상어의 호르몬 유도 배란에 걸리는 시간은 유의적 차이를 보이지 않았다(Fig. 5). 배란된 난의 양은 개체 간 차이가 있었으며 개체 당 대략 40,000에서 90,000개의 난을 확보하여 수정에 사용하였다. 배란한 암컷의 체중은 9kg에서 22kg이었으며 획득된 난의 양은 무게에 비례하는 경향을 다소 보이긴 하나 암컷의 연령에 따른 포란 반복 횟수에 영향을 받는 것으로 보이며 성숙이 갖 이루어진 러시아 철갑상어의 경우 시베리아 철갑상어에 비해 20%이상 체중이 더 나가는 경우에도 한 개체로부터 60,000개 이상의 난을 획득하지 못하였고 종묘를 수년에 걸쳐 최소 3회 이상 시도한 시베리아 철갑상어로부터는(2017년 시도, 어체중 20kg) 100,000에 가까운 난을 획득할 수 있었다(Fig. 6).

배란된 시베리아 철갑상어의 난의 수정률을 지난 5년간 총 12마리로부터 조사한 결과 대략 90 - 95%를 보였으며 2년간 3마리로부터 조사된 러시아 철갑상어 난의 수정률은 85% - 92%로 확인되었다(Fig. 7).

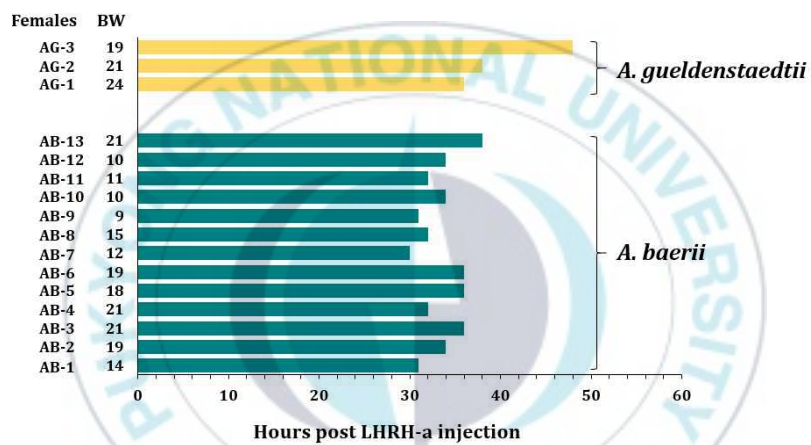


Fig. 5. Time (hours) to the first ovulation (egg release) after second LHRH-analogue injection in Siberian and Russian sturgeons

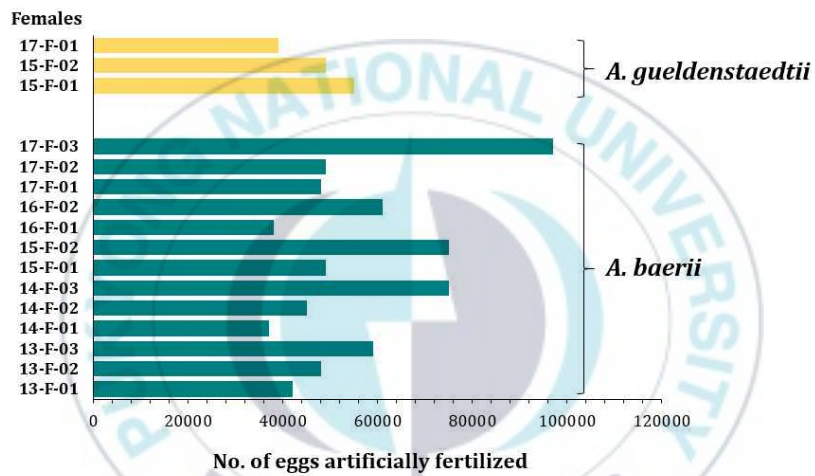


Fig. 6. Numbers of ovulated eggs produced from Siberian sturgeon and Russian sturgeon females

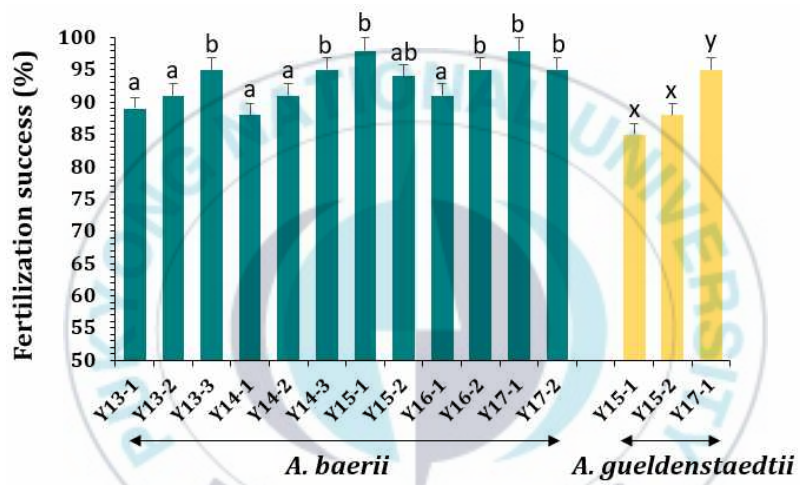


Fig. 7. Average fertilization rates in the insemination trials between artificially spawned eggs and collected sperm

3.2. 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어의 발생 단계별 형태학적 특징

1) 수정란 및 초기 난할 특징

수정 후 부화 직전까지 두 종의 발생 속도는 유의한 차이를 보이지 않았으며 난 발생에 있어 특이한 차이점은 관찰되지 않았으며 그 주요 단계별 형태학적 특징 또한 유사하였다. 수정이 된 직후 검은 점과 흰 띠(crescent)가 동물극(animal pole) 쪽에서 발달하고 첫 번째 분할(cleavage)이 수정 후 2시간에 동물극 쪽에서 관찰되었다. 이 분할 주름은 동물반구(animal hemisphere)부위로 제한되었다. 1차 분할 1시간 후 2차 분할이 전형적인 4세포 형태의 세포 배아가 형성되었다. 비록 2차 분할의 주름이 완전하게 식물극(vegetal pole)쪽까지 나누어지진 않았지만 일부 식물 반구(vegetal hemisphere) 쪽까지로 진출한 것을 관찰할 수 있었다. 수정 후 4시간째, 동물반구 쪽에서 3번째 분할을 통해 8세포기가 형성되었다. 같은 시점에 식물반구 쪽으로는 식물반구 전체가 완전히 4개의 동일한 부분으로 나누어지는 분할 진입(cleavage infiltration)이 이루어졌다. 동물 반구 쪽에 16개의 세포가 형성될 때(수정 5시간 후, 4번째 분할), 16세포기의 동물반구 중심에 있는 절반의 세포들은 기존의 세포들보다 훨씬 작은 사이즈였다. 뒤이어 분할하여 생긴 상실기 세

포(blastomere)의 크기와 형태는 확연히 다른 모습이었다. 그리고 식물반구에서 형성되는 주름 역시 불규칙한 모습을 보였다. 불규칙한 패턴의 분할은 동물, 식물반구 모두에서 관찰되었다 (Fig. 8).

2) 포배기 및 낭배기 특징

분할이 계속되면서 작은 분할세포들이 동물반구에서 증가하고 식물반구에서의 불규칙한 분할이 진행되었다. 비록 커다란 크기의 난할구가 식물 반구에서 아직까지 형성되었지만 동물반구의 분할된 할구(blastomere) 수는 더 이상 셀 수 없을 정도가 되었다. 세포 분열은 동물반구에서 지배율 현미경으로는 각각의 분할 세포들을 구분할 수 없을 정도로 점차 발전하였고 동물극 끝에 분할강(cleavage cavity; blastocoel)이 형성되기 시작하였다 (수정 9시간째). 반면에 식물반구에서는 적도(equator) 부근에 비교적 작은 할구가 위치하고 식물극 지점 가까이에는 큰 할구가 위치해 있는 것이 관찰되었다. 수정 11시간째 원시적인 분할강이 점차 커지고 동물반구에서는 더욱 분명해졌고 반면 식물반구에서는 작은 할구들이 계속해서 세포분열을 통해 진행되었다. 포배기(blastula)가 끝나는 거의 끝나는 시점 수정 18 ~ 19시간에 동물반구의 표면은 우유 빛 탁한 흰색의 포배기 덮개로 바

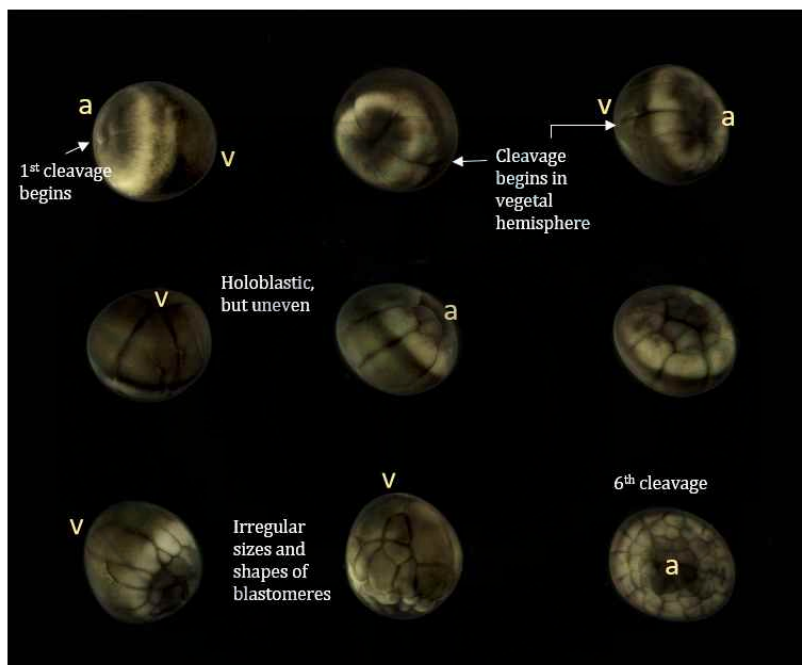


Fig. 8. Early cleavages of Siberian sturgeon and Russian sturgeon embryos

뛰었다.

낭배기(gastrulation)의 시작 시점에(수정 19 - 20시간)에 적도 부근에 띠가 형성되었고, 동물, 식물 반구 사이에 원구 배순(dorsal blastopore lip)이 형성 되었다. 이 시점에서 식물반구는 여러 가지 크기의 많은 할구들을 갖고 있었는데 식물극 쪽에서는 크고 수를 셀 수 있을 정도로 구분되는 커다란 할구가 있는 반면에 동물반구와 경계부분에서는 더 작은 크기의 할구가 위치하였다. 포배 지붕(blastula roof)은 동물반구에서 점차 식물반구로 진행하며 덮어나갔다. 수정 25시간에 배아의 약 2/3 가 포배엽(blastoderm)으로 덮였으며 비록 전체는 아니지만 동물극의 배아 거의 전부가 표면에 둥근 형태의 검은 점이 형성되었다. 낭배기가 계속되면서 피포(epiboly)는 배아의 2/3이상을 덮으면서 식물 반구 물질이 남아있는 부위가 점차적으로 감소하였다. 수정 28시간에, 커다란 yolk plug가 형성되었고 동물극 부위에 어둡게 착색된 구멍 부분이 감소하였다. 이로부터 대략 2시간 후 yolk plug의 사이즈는 점차 감소하여 배아전체 직경의 1/5 수준으로 감소하였고(*i.e.*, small yolk plug formation) 동물극 구멍의 착색된 표면 또한 그 크기와 착색정도가 눈에 띄게 감소하였다. yolk plug의 크기는 점차 감소하여 식물극 꼭대기의 구멍에서 작은 원정도로 보일 때까지 작아졌다. 낭배기가 거

의 끝나가면서(수정 32시간), 포배공(blastopore)은 실금모양으로 나타나고 신경배형성기(neurulation)의 시작을 관찰할 수 있었다(Fig. 9).

3) 신경관, 전신(pronephros) 원기 및 두부 형성기 특징

신경배 형성기는 실금 모양 slit)의 신경고랑이 포배공(blastopore)에서 나타나면서 시작되었고, 이후 신경관이 머리 부분에 접혀진 구조와 함께 등 표면에 형성되었다(수정 후 33 시간). 배아 발달이 계속 진행하면서 머리 부위의 신경관은 넓어지고 접혀진 신경(neural folds)은 볼록 올라와 두꺼워 졌다. 등 부위에 신경고랑(neural groove)은 더욱 명확해지고 배설기관(원조 신장의 흔적)은 신경고랑으로부터 희미하게 평행하게 나타났다(수정 후 37시간). 같은 시기, 꼬리부분에 접혀진 형태가 관찰되고 신경배형성기가 계속되면서 머리 부분의 접힘 현상은 살짝 재배치되고 한 쌍의 원조 신장 흔적(pronephros rudiment)은 좀 더 선명한 형태로 발달하여 신경 고랑에서 평행하게 뻗어간 선형의 형태를 보였다(수정 후 40시간). 신경절은 두드러지게 올라오고 전신(pronephros)의 앞쪽은 뚜렷한 형태로 관찰되었다. 그 뒤, 전신은 신경절이 올라옴과 함께 더 두꺼워지고 길어졌다. 비록 아직 난황막으로부터 분리되지는 않았

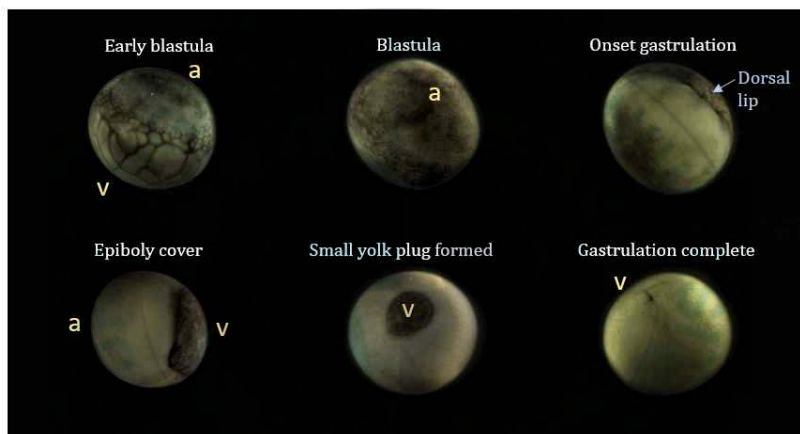


Fig. 9. Embryonic development from blastula to complete gastrulation in Siberian sturgeon and Russian sturgeon

지만 꼬리 부분은 배 발달이 진행되면서 계속해서 두드러지게 두꺼워 졌다. 이 단계에서 신장은 거의 신경관과 수직으로 위치하였고 신경관은 거의 폐쇄되었다(수정 후 46시간) (Fig. 10).

4) 심장 형성기 및 부화 직전 배아 발달의 특징

수정 후 55시간째, 측면판은 전뇌(prosencephalon)와 융합되었고 머리 부분은 등 쪽에서 보았을 때 원형형태로서 보였는데 눈의 흔적과 아직은 발달하지 않은 입은 쉽게 관찰할 수 있었다. 이 단계에서 등 부위는 발달한 체절과 함께 막대모양의 형태를 보이며 원시 전신의 날개(primary pronephros-wings)가 관찰되었다. 비록 머리는 아직 분리되지 않았지만 배아에서 심장 형성의 흔적이 나타났다(수정 후 59시간), 꼬리 부위에서 납작한 꼬리는 막대 형태구조로 전환되고 난황막으로부터 분리되기 시작했다. 발달이 계속 되면서(수정 후 60-70시간), 머리 부위는 두꺼워지고 난황에서부터 분리되기 시작했다. 꼬리는 계속 길어지면서 뚜렷해진 체절은 배아의 몸 전체에서 관찰되어졌다. 이 시점에서 상당히 분화된 한 쌍의 전신 날개가 관찰되었다. 수정 73시간에 심장은 “s” 자 형태를 이루었고 박동하기 시작하였다. 눈은 이 시기에 더 도드라져 보였다(Fig. 11).

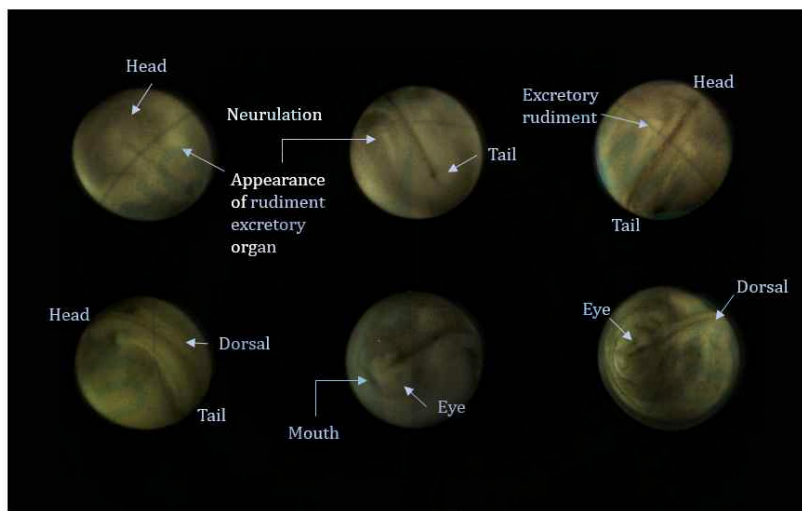


Fig. 10. Embryonic development of Siberian sturgeon and Russian sturgeon from neurulation to the formation of excretory rudiment and anterior head

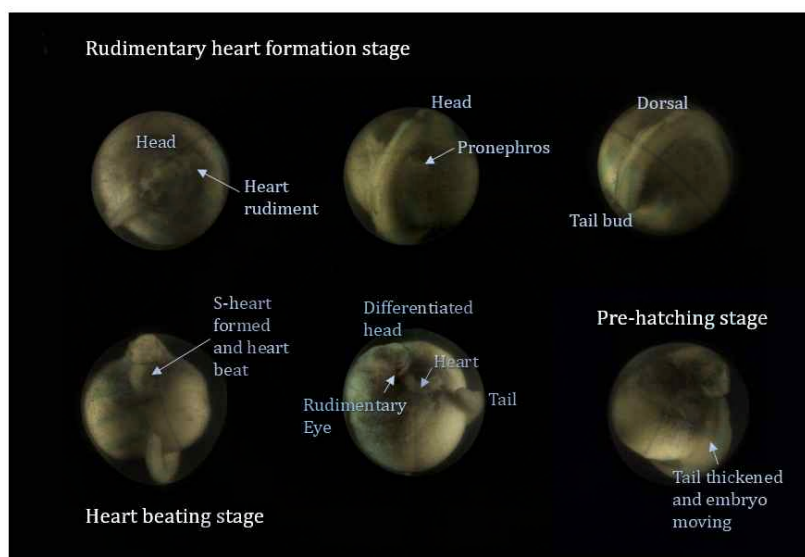


Fig. 11. Development of Siberian sturgeon and Russian sturgeon embryos from heart formation to pre-hatching stage

5) 부화 및 부화 자어의 특징

수정 후 86시간째, 둥글고 막대모양의 꼬리가 펴지고 지느러미 발달 흔적이 꼬리 부위에서 관찰되었다. 이 단계에서 보여지는 다른 형태적 특징은 난황막으로부터 머리 부분의 앞쪽이 분리되는 것과 머리형태가 삼각형으로 발달하는 것, 착색되는 눈, 더 진행되는 S 형태의 심장이었다. 수정 94시간째, 꼬리는 박동하는 S 심장 쪽까지 길어지고 지느러미의 접힘이 꼬리 부위에서 나타났다. 혈액이 순환하는 것이 쉽게 관찰되고 후각기관이 관찰되었다. 꼬리는 계속해서 길어지면서 머리까지 다다른다. 눈의 막이 명확해지고 꼬리지느러미의 주름이 쉽게 구분된다. 이 단계에서의 배아는 움직임이 가능하였다. 수정 119시간 후부터 몇몇 먼저 진행한 배아는 부화하기 시작했으며 대량 부화는 수정 후 130시간 시점부터 관찰되었다. 반복 실험을 기초로 평균 부화율은 80.5%였다. 먼저 부화한 개체들은 종종 구부러진 형태를 보였다. 반면에 대량 부화시기의 대부분의 초기자어(*i.e.*, yolk-bearing)들은 똑바른 모습이었다. 부화시점에서 초기 자어들의 전장은 평균 10.5 mm 였다. 자어들은 철갑상어 초기 자어의 대표적 특징인 pigment plug를 가지고 있었다. 부화시기에 이르러 러시아 철갑상어와 시베리아 철갑상어가 부화 종료까지 걸리는 시간에 두 종에서 다소 차이를 보였다. 시베리아

철갑상어가 초기 부화 시점부터 95%이상 완료까지 약 3일 정도 소요되고 완전 종료에 4일정도 소요되는데 비해 러시아 철갑상어의 경우 95% 부화에 약 5일정도 소요되며 완전히 종료되는 데 7일의 시간이 소요되었다(Fig. 12).

6) 서로 다른 온도에서의 부화 특징

시베리아 철갑상어의 경우 조사한 4개 온도 조건 중 23°C에서는 발생이 끝까지 진행되지 못하고 낭배기 단계에서 많은 비정상적 발생이 유발되어 신경절 형성 후기 단계 이상으로서는 더 이상의 발생이 진전되지 못하였다. 따라서 시베리아 철갑상어의 경우 발생 가능 온도가 23°C 미만인 것으로 나타났다. 나머지 온도구간에서는 모두 발생이 부화까지 진행되었는데 온도와 발생 속도가 반비례 하는 경향을 보였다. 특히 11°C 배양 조건에서는 전 조사 시점에서 확연히 늦은 배 발생을 보였고 상대적으로 15°C와 19°C에서의 발생 속도 차이보다 11°C와 15°C 간 차이가 더 크게 나타났다. 낭배기 종료 부근 시점인 small yolk plug formation (SYP) 단계까지를 기준으로 평가할 경우 19°C는 25시간, 15°C는 33시간을 나타내었고 11°C에서는 50시간이 최소 요구되는 것으로 관찰되었다. 이후 온도 구간별 발생 속도의 차이는 보다 크게 벌어져서 11°C에서는 매우 늦은 후기



Fig. 12. Hatch-out of Siberian sturgeon and Russian sturgeon embryo

발생을 나타내어 최초 부화가 270시간 이상에서 처음 관찰되었고 15°C에서는 170시간, 반면 19°C에서는 90시간에 최초 부화가 이루어졌다(Fig. 13).

러시아 철갑상어 역시 시베리아 철갑상어의 결과와 유사한 양상을 나타내었고, 전반적으로 최초 부화에까지 도달하는 시간이 시베리아 철갑상어보다 다소 길게 관찰되었다. 러시아 철갑상어도 23°C에서는 발생이 부화까지 진행되지 못하고 발생 중간에 멈추었는데 시베리아 철갑상어보다 보다 이른 시점인 SYP 단계에서 발생이 중단됨으로써 러시아 철갑상어 발생이 고온에 보다 민감한 것으로 판단되었고 23°C에서는 러시아 철갑상어가 낭배기 단계를 완성하지 못하는 것으로 나타났다. 나머지 온도 범위에서는 앞서의 시베리아 철갑상어 결과와 유사하여 온도와 발생 소요기간은 반비례 경향을 보였으며, 역시 신경절 형성 후기 단계 이후에 온도에 따른 발생 속도의 차이가 더욱 벌어지는 양상을 나타내었다. 러시아 철갑상어의 경우 11°C에서 330시간 이상에서 최초 부화가 관찰되었고 19°C에서는 시베리아 철갑상어와 마찬가지로 약 90시간 내외에서 최초 부화가 관찰되었다(Fig. 13).

상기 발생 속도 관찰 그룹으로부터 발생 배의 생존율을 평가한 결과 온도에 따라 차등의 생존율이 관찰되었다. 앞서 결과

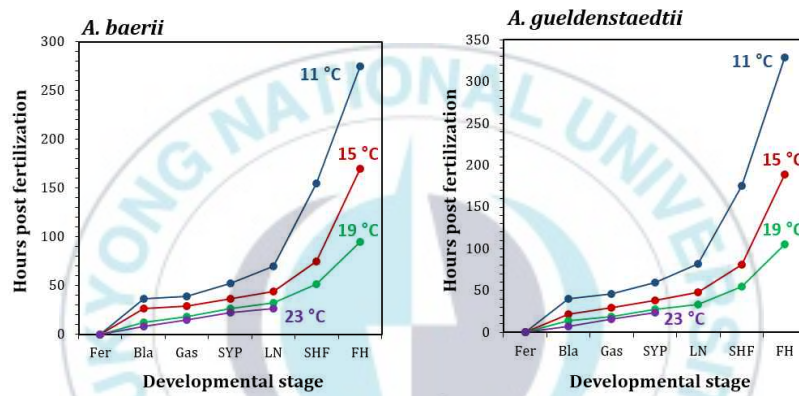


Fig. 13. Effects of incubation temperature on development speed of Siberian and Russian sturgeon embryos

에서처럼 23°C로 배양할 경우 시베리아 철갑상어는 신경절 형성 후기 단계(late neuluration)에서, 그리고 러시아 철갑상어는 SYP 단계에서 발생을 더 진전시키지 못하고 모두 폐사하였다. 나머지 온도 구간에서는 11°C 배양 그룹에서 유의적으로 낮은 생존율을 보였으며 15°C 및 19°C 그룹의 경우 생존율에는 차이가 없었다. 이러한 결과는 시베리아 철갑상어 및 러시아 철갑상어 모두에서 공통적으로 관찰된 결과로서, 15°C 및 19°C 그룹에서는 최초 부화까지 약 80% 내외의 배 생존율을 보인 반면, 11°C 그룹에서는 시베리아 철갑상어의 경우 약 60%, 그리고 러시아 철갑상어의 경우 약 50%의 생존율을 나타내어 나머지 두 온도 그룹에 비해 유의적으로 낮은 수치를 보였다. 발생 속도 및 생존율을 고려한 이상의 결과에서 시베리아 철갑상어 및 러시아 철갑상어 모두 11°C ~ 19°C 온도 범위에서 발생의 진행이 이루어졌으며 온도에 따른 발생 속도의 차이는 신경절 형성 이후 심화되는 것으로 나타났고, 그 생존율은 15°C 및 19°C 그룹이 11°C 그룹보다 월등히 우수한 것으로 나타났다. 따라서, 발생 배의 생존율 및 발생 관리 기간 등을 고려할 때 두 종 모두 인공수정에 의한 배 발생을 실험에 다루기 위해서는 19°C 내외의 발생 온도 설정이 가장 유리한 최적 온도 조건임을 알 수 있었다. 종래 문헌들에서 철갑상어 두 종의 발생 유도는 1

1°C에서 16°C 범위가 대부분인 점을 고려할 때, 본 연구 결과를 통해서 생존율에 부정적인 영향 없이 보다 효과적으로 단기간에 발생을 유도할 수 있는 온도 조건으로서 19°C가 새로이 확보되었다고 판단된다(Fig. 14).

3.3. 대량 부화조건 검토

1) 점액질 제거 조건

수정란의 점액질 제거를 위해 Fuller's earth를 사용하였다. 정액을 배란된 난이 들어있는 그릇에 물에 200;1로 희석하여 부어주고 150초간 기다린 후 새로운 물을 부우면서 교질제거제인 Fuller's earth를 섞어 주었다. 시베리아 철갑상어의 경우 교질제거에 걸리는 시간은 대략 30분미만으로 이후 배양기로 옮겼을 때 분리된 난이 원활히 부상하여 움직이는 것을 확인할 수 있었다. 반면 러시아 철갑상어의 난 경우 교질제거 작업은 최소 50분에서 1시간 이상 지속해야 분리된 난을 배양 시스템으로 옮겨 수용할 수 있었다. 또한 교질제거에 필요한 Fuller's earth의 양 역시 시베리아 철갑상어의 경우 난 10,000개당 대략 300g 정도 소비된 반면 러시아 철갑상어의 경우 동일한 개수의 난의 교질제거를 위해 550g 이상 소비된 것을 확인할 수 있었다(Fig. 15).

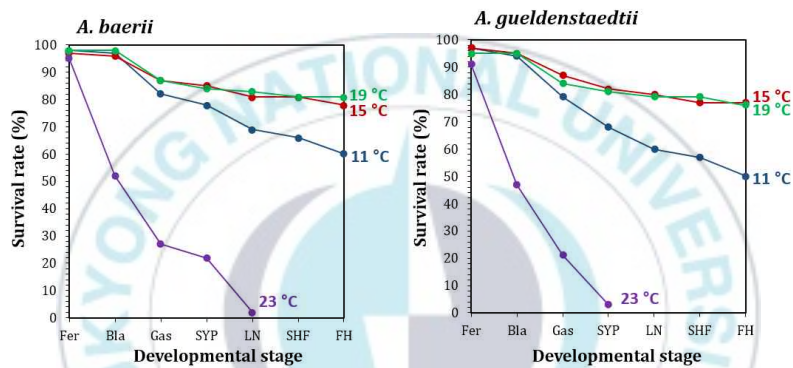


Fig. 14. Effects of incubation temperature on the survival rates of Siberian and Russian sturgeon embryos

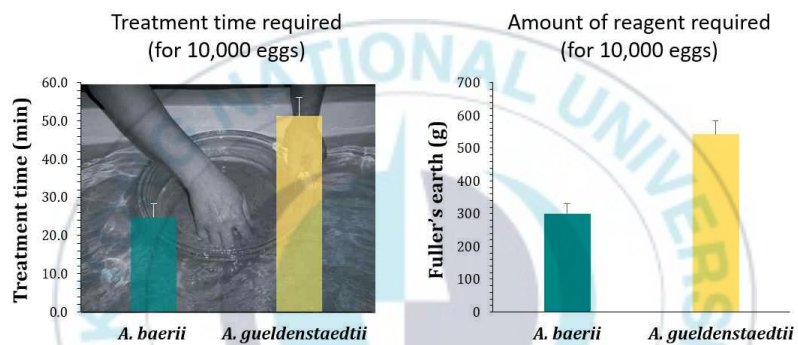


Fig. 15. Treatment conditions of anti-adhesive reagent (Fuller's Earth) for Siberian and Russian sturgeon fertilized eggs

2) 부화용기 및 수용 수정란 수에 따른 생존율

순환형 부화용기(20L)에 약 3만에서 3만5천개의 알을 배양하게 되는데 시베리아 철갑상어의 경우 난의 점착성이 덜하고 난 막과 세포막에 나오는 유분량이 러시아 철갑상어에 비해 상대적으로 적어 서로 달라붙거나 곰팡이나 박테리아에 감염될 여지가 적어 계속해서 물을 아래로 부어주어 부화기에 부상한 상태로 배양할 수 있었다(Fig. 16). 한편 러시아 철갑상어의 경우 시베리아 철갑상어에 비해 난이 무겁고 많은 유분과 지속적인 점착력을 보여 배양시기동안 쉽게 곰팡이균이나 박테리아에 노출되는 경우가 발생하였다. 따라서 안정된 상태에 놓고 물을 갈아주면서 필요하다면 균을 제거 할 수 있는 추가적인 형태의 장치가 필요함을 알 수 있었다(Fig. 17).

3) 부화 동기화 조건

철갑상어는 동일 embryo batch에서 부화가 실제 일어나는 기간이 다른 어종에 비해서 개체별 부화발생 시점 간격(time window)이 매우 넓은 특징을 갖고 있다. 즉 앞서 언급한 바와 같이 최초 부화가 일어난 시점부터 해당 embryo batch의 부화가 종료되는 시점까지 긴 소요기간을 나타내는데, 이는 초기 실험어(자어) 관리에 부정적인 요인으로 작용할 수밖에 없다. 부

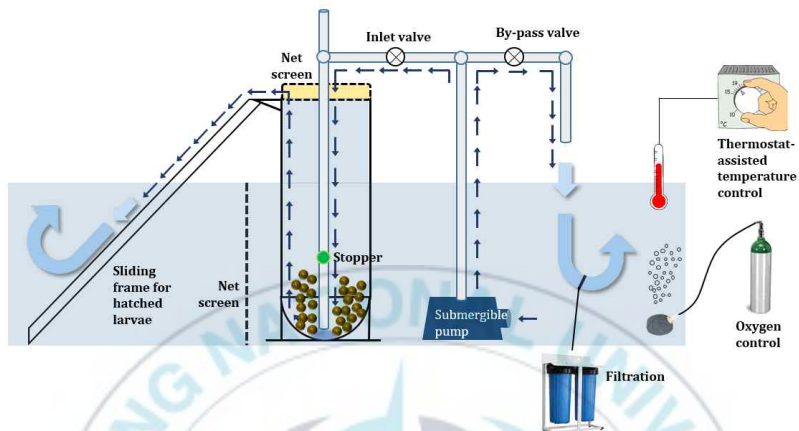


Fig. 16. Recommended hatching incubator for Siberian sturgeon fertilized eggs

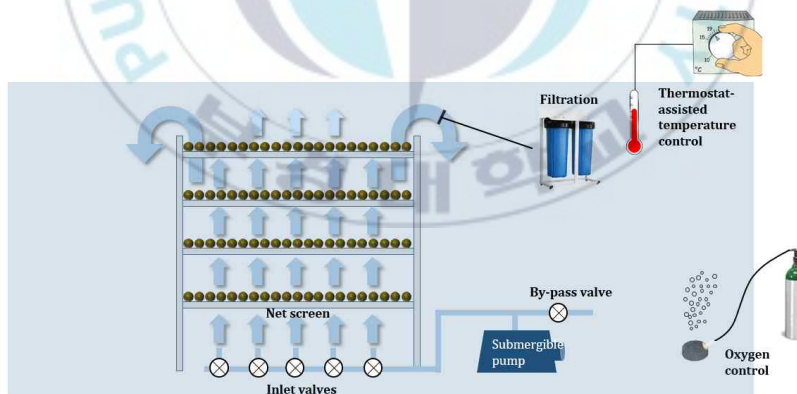


Fig. 17. Recommended hatching incubator for Russian sturgeon fertilized eggs

화 자어는 pigment plug를 갖고 장기간의 난황 흡수 기간을 거치는데 부화 시점이 크게 다른 자어들이 동일 실험군에 혼재되어 있을 경우 난황 흡수 후 첫 인공 먹이 공급 시점 결정이 어려울 뿐만 아니라 발달 단계와 인공 먹이 공급 시점이 일치하지 않을 경우 실험 자어들의 많은 폐사를 유발하기 때문이다. 따라서 부화와 난황 흡수를 최대한 동기화 하여 해당 time window를 좁히는 것이 매우 중요시되며, 이에 본 연구에서는 부화 직전 자어를 서로 다른 온도에서 배양하여 동일 embryo batch의 부화 종료 시까지의 time window를 평가, 최적의 온도 조건을 구하고자 하였다. 앞서 서로 다른 온도 조건에서의 부화 속도 및 생존율 자료를 토대로 11°C, 15°C 및 19°C에 부화 직전 발생 단계에 다다른(최초 부화 시점 직전) embryo batch들을 배양하고 일자별로 부화가 일어나는 빈도와 최종 부화가 종료되는 시점까지의 양상을 조사하였다. 시베리아 철갑상어의 경우, 11°C에서 배양할 경우 최초 부화가 일어난 이후에도 9일까지 지속적인 부화가 일어났으며 9일째에도 아직 부화를 못한 개체들이 소수 관찰되었다. 반면 온도를 4°C 증가시킨 15°C의 경우, 최초 부화가 일어난 이후 3일째 및 4일째 가장 많은 수의 난황 자어 대량 부화(mass hatch) 경향을 나타내었고 5일째 약 10% 미만의 난황 자어들이 부화하였으며 이후 소수의 개체들

이 6일째와 7일째 일부 부화함으로써 부화 종료가 이루어졌다. 한편 19°C로 부화를 유도한 그룹에서는 최초 부화가 일어난 다음 일자(배양 2일째)에 대량 부화가 일어나 그룹의 50% 가까이 해당 일자에 부화하였으며 이후 3일째 나머지 대부분의 난황 자어들이 부화를 종료하였다. 역시 극소수의 embryo들이 4일째 혹은 5일째 부화를 나타내었으나 그 비율은 매우 미비하였다. 따라서 시베리아 철갑상어의 경우 배 발생뿐만 아니라 부화 동기화를 위해서 19°C 온도 조건이 최적인 것으로 나타났고, 본 온도 조건을 이용하여 빠른 발생과 부화 자어의 동기화가 가능한 것으로 판단되었다.

러시아 철갑상어의 경우 동일 온도 처리 방법을 적용 하였을 때 전반적인 경향(즉, 높은 온도에서 time window가 좁고 낮은 온도에서 time window가 넓은 경향)은 시베리아 철갑상어와 유사하게 나타났지만, 시베리아 철갑상어와 비교 시 온도 구간에 따른 동기화 효과는 작은 것으로 관찰되었다. 시베리아 철갑상어와 마찬가지로 11°C에서는 최초 부화 후 9일까지 부화를 완전히 종료하지 못하였고 부화가 지연되는 경향을 나타내었다. 15°C의 경우 시베리아 철갑상어는 처리 3일 및 4일째 대부분의 난황자어가 부화를 하였지만 러시아 철갑상어는 이와 달리 3일째부터 5일까지 그 구간이 넓고, 그 이후에도 9일째까지 부화가

계속 지연되는 개체들이 관찰되었다. 또한 19°C에서도 시베리아 철갑상어보다 time window가 더 넓어서 러시아 철갑상어의 경우 동일 19°C에서 5일째까지 지연되었고 일부 소수의 난황자어들은 7일까지도 부화가 지연되는 경향을 나타내었다. 따라서 본 연구결과를 종합하면 러시아 철갑상어의 경우 시베리아 철갑상어에 비해서 상대적으로 동기화 효과가 적고, 추가적인 방법 개발이 필요할 것으로 판단되었다. 이는 시베리아 철갑상어와 비교 시 러시아 철갑상어 수정막의 점도가 훨씬 높은 특징과 무관하지 않은 것으로 생각된다(Fig. 18).

3.4. 자·치어의 초기 발달 특징

1) 자어의 형태 발달

시베리아 철갑상어는 부화 직후(부화 12시간 이내), 자어는 크고 노란색의 난황과 일자형의 모습을 보였다. 난황의 표면에 선명한 한 쌍의 혈관을 관찰할 수 있었고 pigment plug 는 소화관 내에 고르게 분포되어 있음이 관찰되었다. 전신관(pronephros ducts)은 여전히 관찰 가능하였다. 근육 분절 또한 선명히 관찰할 수 있었고 각각의 구분이 가능하였다. 대부분의 난황자어의 몸 전체에서 착색된 부분은 거의 없는 것을 알 수 있었다(Fig. 19a). 부화 1일째(부화 후 36-40시간) 눈 부분의 착

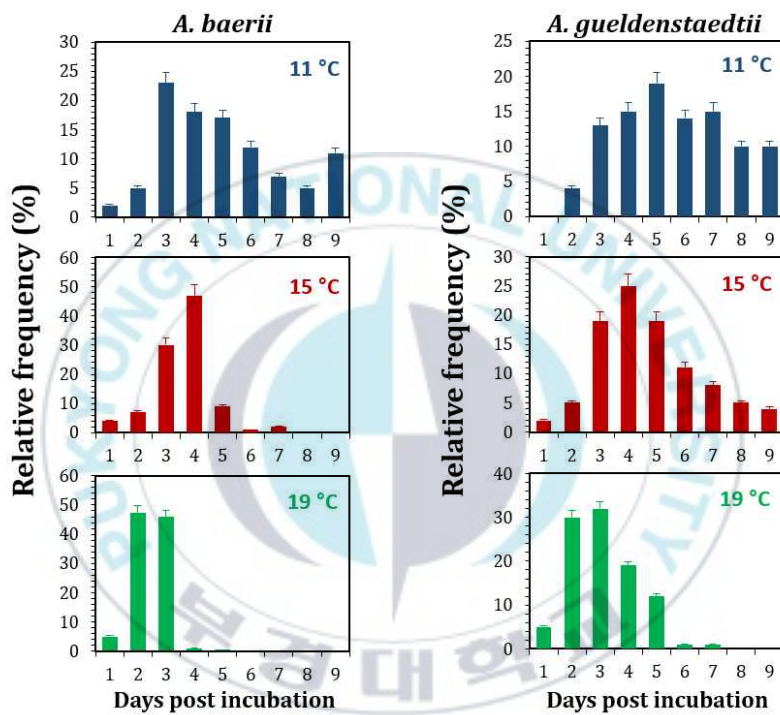


Fig. 18. Effects of incubation temperature on the lag time to hatching of Siberian and Russian sturgeon embryos

색은 더 두드러지고 4번째 공동, 즉 뇌에 4개의 연결된 구멍은 어두운 형태로 나타났다. 길이 성장은 2일째까지 크게 차이가 없었으며 평균 전장은 11 ± 1.5 mm 이었다. 그러나 난황은 다소 흡수되었고 머리의 모양은 다소 뚜렷해졌다. 또한 수염의 흔적을 관찰할 수 있었다(Fig. 19b). 부화 2일후, 난황자어는 보다 두드러진 형태적 변화가 진행되는 것이 관찰되었다. 부화 2일째에 도달하면 난황 흡수에 의해 자어의 난황이 bipartite 형태(이분화)로 변화하기 시작하였다. 이분화 형태로 만들어지는 과정에서 난황을 침습하는 깊은 주름(furrow)이 관찰되고 anterior part와 posterior part로 구분이 시작되었다(yolk infiltration; YI). 두부의 측면 관찰 시 부화 2일에서 그 직전과 여러 차이점이 관찰되었는데, 첫째 눈의 발달이 크게 진행되어 본 시점에서는 눈의 렌즈(eye lens; EL)와 색소의 침착이 이루어진 optic vesicle (OV)를 구분할 수 있을 만큼의 발달 정도를 관찰할 수 있었다. 아울러 아가미 뚜껑이 발달하여 이제 operculum을 확인할 수 있고, 다른 어종과 달리 아가미 조직들이 아가미 뚜껑 밖으로 많이 노출되어 있는 external gill (EXG)을 쉽게 관찰할 수 있었다. 또한 입 주변에서 수염이 형성되는 조짐을 보여 흔적적 수염 형태가 보이기 시작하였고(barbel rudiments; BR), 자어 몸통(larval body) 근처의 난황으로부터 가슴지느러미가 형성되어

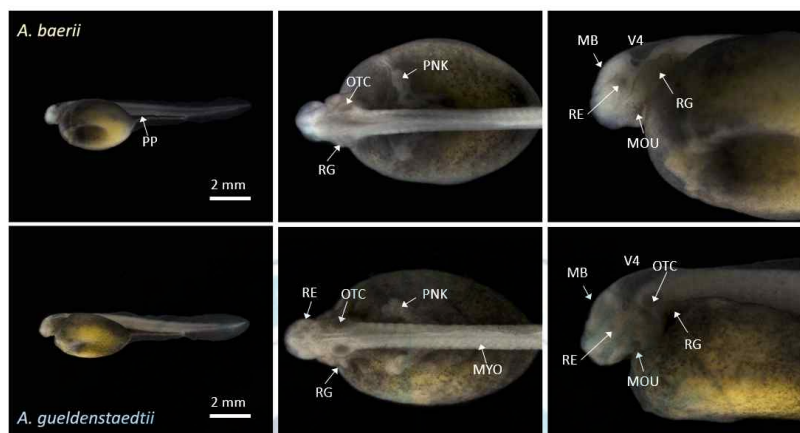


Fig. 19a. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (0 DPH; just hatched)

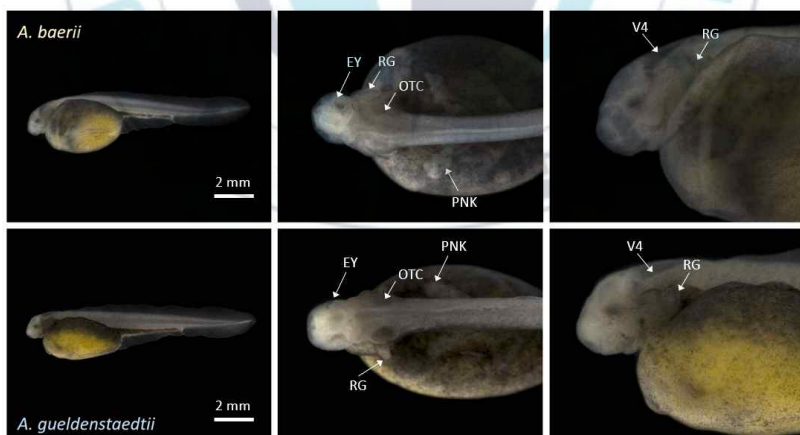


Fig. 19b. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (1 DPH)

올라오는 것이 관찰되었다(pectoral fin bud; PFB). 한편 부화 2 일자에서는 두부의 중간부위(mid brain; MB)와 V4 (fourth ventricle)를 더욱 선명하게 관찰할 수 있었고 아직 pronephros kidney (PNK) 역시 외부에서 관찰이 용이하였다. 부화 2 일에서는 멜라닌 색소가 두부(head part)를 위주로 일부 형성되기 시작하였는데, 시베리아 철갑상어에 비해서 러시아 철갑상어가 조금 더 많은 멜라닌 색소 형성을 나타내었지만 큰 차이를 보이지는 않았다. 이 시기부터 난황의 posterior part에서 균등하게 분포되어 있는 pigment plug들이 점차 농축되는 현상을 관찰할 수 있었으며 농축은 나선 형태(spiral)로 진행되었다. 러시아 철갑상어에 비해서 시베리아 철갑상어가 보다 농축의 개시와 정도가 좀 더 빠르게 진행되었는데, 이는 자어의 유연성과 활동성의 차이와 무관하지 않다고 보여진다(Fig. 19c).

부화 3일째에 도달하면서 부화자어 난황에서 이분화 형성(bipartite structure)이 더욱 진행되어 난황을 양분하는 깊은 주름을 기준으로 anterior part와 posterior part가 완전히 분리되었다. 아울러 자어의 등 쪽 부위에서 dorsal fin fold (DFF)가 흔적적으로 관찰되기 시작하여 dorsal fin 형성이 곧 이루어짐을 알 수 있었다. 두부에서는 MB와 V4가 더욱 선명해지고 완전히 색소가 침착된 optic vesicle (OV)을 관찰할 수 있었으며

external gill (EXG)과 operculum (OP)을 선명하게 관찰 가능하였다. Pectoral fin bud로부터 보다 형태를 갖춘 pectoral fin (PF)을 확인할 수 있었고 3 일자에서는 두 개의 외부 노출 비강(external nares; EXN)을 선명하게 측면부위로부터 관찰할 수 있었다(Zeiske et al., 2003). 또한 흔적적 수염을 보였던 직전 시점과 달리 이제 형태를 갖춘 수염의 돌출을 본 시기부터 확인할 수 있어 2쌍의 수염(n = 4)을 배면(ventral view) 관찰로부터 확인이 가능하였다. 아울러 입술의 형성이 나타나 윗입술 부위의 maxillary (MX) process와 아랫입술 부위의 mandibular (MN) process를 배면관찰을 통해 알 수 있었다. Pigment plug의 농축은 점차 더 진행되어 나선형 농축을 관찰할 수 있었으며 두 종간의 농축 정도에 관한 차이는 더 이상 관찰되지 않았다. 3 일자에서는 전체적으로 멜라닌 색소 침착이 2 일째에 비해 확연히 두드러지는데 이제 두부와 미병부에서 왕성한 색소 침착이 관찰되며, 특히 두부에서는 러시아 철갑상어가 시베리아 철갑상어보다 유의적으로 많은 색소 침착이 이루어져 종간의 차이를 보여 주었다(Fig. 19d).

부화 4일째 (total length [TL], 14 ± 2.4 mm), 머리부위와 복강 쪽에 좀 더 진한 착색이 된 것을 볼 수 있었다. 난황은 두 부분으로 나뉘어져서 머리 쪽에 가까운 위부분과 아래 내장부

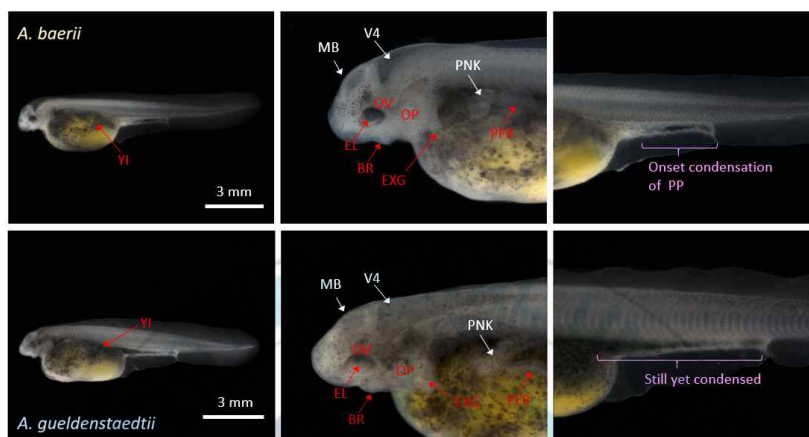


Fig. 19c. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (2 DPH)

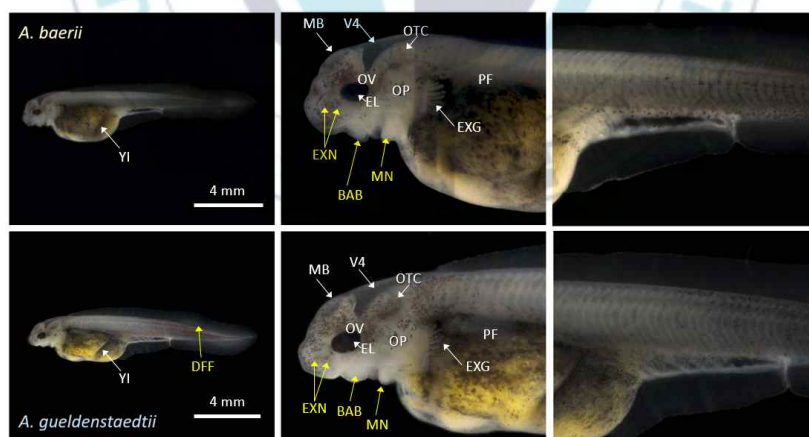


Fig. 19d. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (3 DPH)

분 사이를 경계로 선이 그어진 것을 관찰하였다. The pigment plug 는 좀 더 응축되어 소화관 아래쪽으로 다소 이동한 것을 볼 수 있었다. 가슴지느러미가 난황 위쪽에서 명확히 관찰되었다. 부화 4일째 머리 부분에서 아가미의 경우 좀 더 길어지고 확장된 모습을 보이고 일반적으로 아가미뚜껑으로 덮여지지 않는 모습을 보였다. 눈 부분은 완전히 착색이 되었고 렌즈화 된 눈알의 모습이 명확히 보였다. 두 개의 구멍이 연결된 외부 콧구멍이 관찰되었고 수염은 길어져 각각의 수염이 명확해 졌다. 게다가 옆쪽에서 관찰하였을 때 중뇌에서 네 번째 공동과 otocysts의 존재가 구분되었다. 난황 흡수에 따라 복강이 관찰되며 멜라닌 색소의 침착이 두부 및 미병부뿐만 아니라 몸통으로 확대되기 시작하는 경향을 나타내었다. 등지느러미(dorsal fin; DF), 배지느러미(pelvic fin; Pel-F), 그리고 뒷지느러미(anal fin; AF)가 두 철갑상어 종 모두에서 관찰되고 직전 시기에 난황으로부터 위쪽을 향해 돌출되어 있던 가슴지느러미(PF)가 4 일자에서는 구조적으로 더 발달하여 개체에 따라 몸통과 수직형태의 구조로 전환하기 시작하였다. 3 일자에 비해서 수염이 유의적으로 길게 신장되어 관찰되었으며 외부로 노출된 external gill 은 계속 관찰되고 gill filaments들이 더욱 발달하여 더 많은 부위가 external gill 형태로 나타났다. 3 일자와 비교 시 외부 비

강(EXN)이 보다 선명하게 관찰 가능하였다. 두부의 색소 침착은 러시아 철갑상어에 더욱 발달하여 시베리아 철갑상어의 색소 침착 정도와 쉽게 구분할 수 있었다. 한편 부화 초기에 특징적으로 관찰되었던 외부로 노출된 pronephros kidney (PNK)는 이제 거의 관찰되지 않거나 매우 줄어든 것이 관찰 되었다. Posterior intestine 위치에서 pigment plug의 농축은 더욱 심화되어 이 시기에서 나선형의 pigment plug (PP)를 더욱 선명하게 관찰할 수 있고, PP가 이제 항문(anus) 쪽으로 이동한 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 19e).

부화 5일째에 도달한 자어는 난황흡수가 거의 완료 시점까지 진행되어 자어의 모양이 더욱 길게 신장된 모습(slender shape)으로 관찰되었으며 몸통 전반에 걸쳐 색소의 침착이 확대되어 이루어져 미병부와 두부에서는 진한 체색을 띄었다. 이러한 현상은 러시아 철갑상어에서 보다 두드러져 자어의 전체적인 체색이 시베리아 철갑상어와 확연히 구분되었다. 각각의 지느러미는 보다 구조적으로 완성되었으며 가슴지느러미는 이제 몸통과 수직의 방향으로 완전히 자리를 잡게 된 것이 관찰 되었다. 두부에서는 머리 모양이 조금 더 납작해지는 형태적 변화가 관찰되었고 수염이 전에 비해 훨씬 신장되어 관찰되었다. 아가미는 여전히 외부에 노출된 EXG로 나타났다. Pigment plug

(PP)의 경우 농축된 나선형 형태로 유지되나 전과 비교 시 위치 및 농축 정도에서 육안관찰을 통해서도 그 차이를 구분하기 어렵고, 직전과 유사하였다(Fig. 19f).

부화 6일째(TL, 18 ± 3.1 mm), 난황자어의 몸 전체에서 색소형성이 더욱 진행됨을 관찰하였고 특히 두개골과 꼬리부분이 두드러졌다. 난황의 후반부는 두드러지게 감소하여 내부 기관을 추정할 수 있을 정도로 나뉘어졌고 복강 내 기관역시 관찰 가능하였다. 등지느러미는 지느러미가 시작된 부분부터 연장된 fin ray의 흔적과 주름으로부터 분리되었다. 뒷지느러미와 배지느러미 역시 굴곡진 형태로 나타나기 시작했다. 한편 꼬리부분도 착색이 진행되며 지느러미 생성이 보이기 시작하였다. 난황자어의 수염은 좀 더 길어지고 머리부위에서 아가미 뚜껑이 좀 더 발달한 것을 볼 수 있었으나 아직까지 외부로 노출된 아가미가 관찰되었다(Fig. 19g). 7 일째에서는 꼬리지느러미가 부등형(heterocercal structure)로 발달하기 시작하는 개체들이 관찰되며 PP는 posterior 쪽으로 크게 이동하여 배출 직전 시점에 도달하고 일부 개체들에서 PP의 배출(evacuation)이 관찰되었다. PP evacuation의 시작은 상대적으로 러시아 철갑상어에 비해서 시베리아 철갑상어에서 보다 빈번히 관찰되었으며 7 일째에는 대부분 개체들이 난황 흡수를 완료하고 exogenous feeding (외

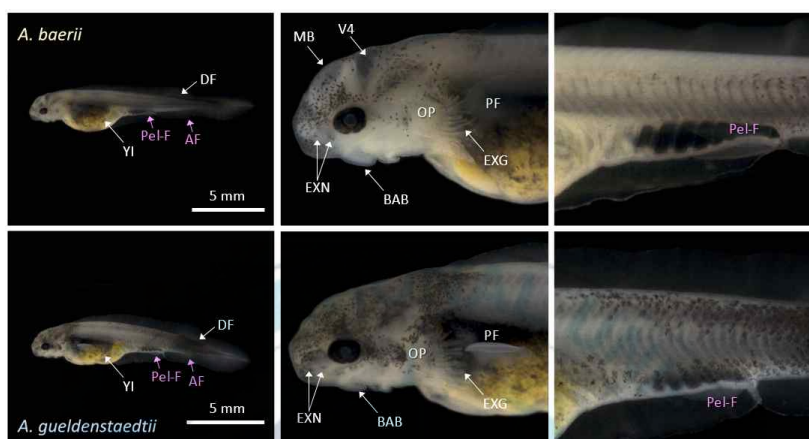


Fig. 19e. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (4 DPH)

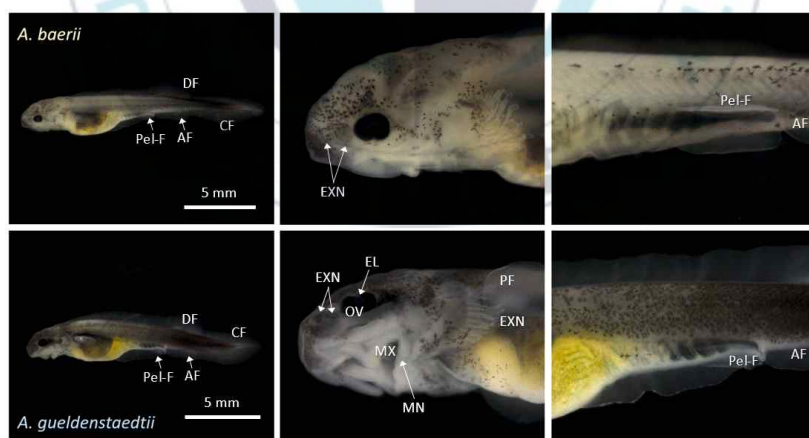


Fig. 19f. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (5 DPH)

부 먹이 섭취) 체계로 전환할 준비상태에 도달하였다. 이후 8 일자에 도달하면서 꼬리지느러미가 부등형태로 보다 특징적으로 관찰되었고 철갑상어 성체의 모양에 좀 더 가까운 형태를 보여 주었다(Fig. 19h).

부화 8일째(TL, 20 ± 2.7 mm), 난황은 정확히 구분하기 어려울 정도로 흡수가 되었으며, 지느러미 주름은 보다 확실해졌고 등지느러미 시작부위는 좀 더 명확해지고 뒷지느러미와 배지느러미는 분명해졌다. 부등형 구조의 꼬리지느러미 역시 구분 가능하였다. pigment plug는 좀 더 항문 쪽으로 이동하여 결국 배출되기 시작하였는데, 이는 자어가 외부 먹이 섭이를 시작할 시기임을 보여주는 신호이다. pigment plug의 배출은 부화 8일째 처음 관찰되었고 이후 10일째까지 계속되었다. 머리 옆쪽에서 관찰 시, 8일째에는 네 번째 공동 ventricle이 두개골이 착색되며 두텁게 덮인 관계로 선명히 관찰되지 않았으며 수염은 좀 더 길어졌다. 아가미는 상당히 많이 덮이게 되었지만 여전히 아가미 뚜껑 밖으로 노출된 부분을 관찰할 수 있었다. 아가미는 20일째 완전히 아가미 뚜껑으로 덮였음이 관찰되었다. 8 일차에서 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어 간 외부의 전반적인 형태도 구분되고 특히 체색에서는 러시아 철갑상어의 경우 몸 전체에 걸쳐 진한 멜라닌 색소가 발달하여 검고 짙은 체색을

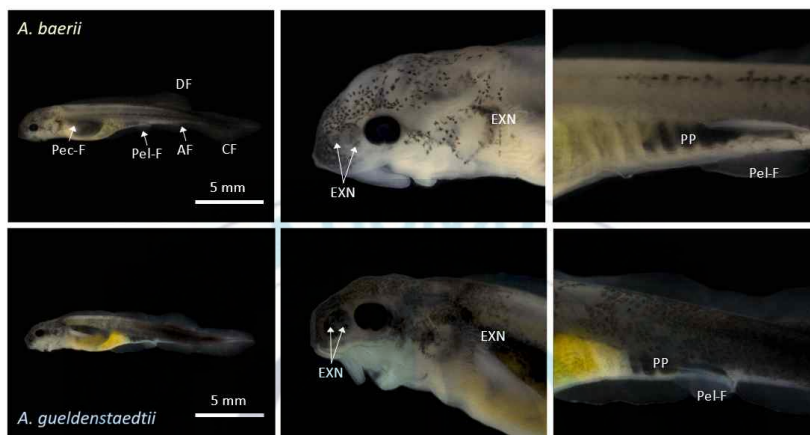


Fig. 19g. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (6 DPH)

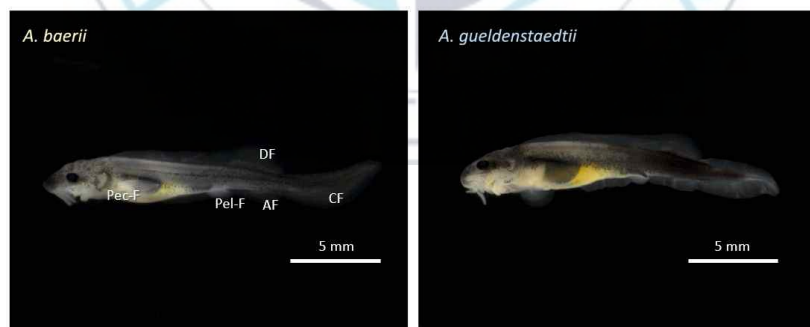


Fig. 19h. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon (7 DPH)

띄는 반면, 시베리아 철갑상어의 경우 러시아 철갑상어에 비해서 훨씬 적은 수준의 멜라닌 색소 침착과 상대적으로 밝은 체색을 보였다. 또한 러시아 철갑상어의 경우 시베리아 철갑상어에 비해서 빠른 군비늘 scute 발달 개시를 보임으로써 8 일자에서 러시아 철갑상어는 흔적적 scute의 발달을 관찰할 수 있었지만(rudimentary scute array) 시베리아 철갑상어에서는 아직 군비늘의 형성 개시는 확인되지 않았다(Fig. 19i). 이상의 결과를 종합하여 난황자어(prolarvae)의 초기 형태 발달 단계 및 특징을 종합 평가하였다.

부화 2주에 자어는 등지느러미 부위에 선명한 군비늘의 흔적을 가지는 것이 관찰되었고 점차 더욱 선명한 군비늘 형성이 이루어져 부화 20일(TL, 35 ± 3.7 mm)에는 거의 성어에 가까운 완전한 형태의 다섯줄의 군비늘과 함께 훨씬 길어진 수염과 부등형 꼬리지느러미를 관찰할 수 있었다. 자어의 형태 발달이 진행되면서 선명한 이빨 생성을 보여주었다. 위와 아래 이빨의 뿌리부분이 처음 관찰 된 것은 부화 5일째 부터였다. 이빨은 시간이 갈수록 점점 길어지고 날카로워 졌으며 부화 9일째부터 11일째 사이에 가장 날카로운 상어의 이빨과 같은 형태를 보여주었다. 위턱의 이빨이 아래턱의 그것보다 좀 더 날카롭게 이루어짐을 알 수 있었지만 개체간의 이빨 수는 차이가 있었다. 위

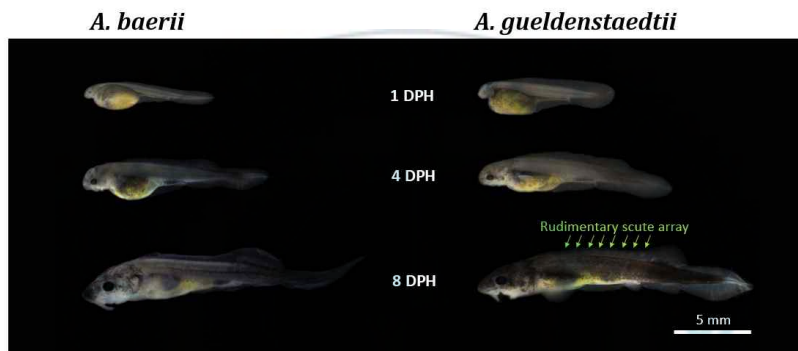


Fig. 19i. Larval development and morphology of Siberian sturgeon and Russian sturgeon

쪽 이빨은 8개에서 10개, 아래쪽 이빨은 6개에서 8개 정도였으며 이후 이빨은 모두 퇴화되기 시작하였다. 위쪽 이빨은 점차 가늘어지는 반면, 아래쪽 이빨은 뭉툭해지면서 위쪽과 아래 이빨 모두 짧아졌다. 부화 15일에서 17일 사이에 이빨은 9일과 11일 사이에 관찰된 그것의 길이에 절반정도로 짧아졌고 부화 19일째 이빨은 모두 퇴화되어 21일째 사라졌다.

2) 난황자어의 길이 성장

난황흡수 기간 동안 자어의 일일 성장을 조사한 결과 부화 직후에는 러시아 철갑상어가 다소 큰 크기로 부화하였으나 2 일째부터 두 종간 차이를 육안으로 확인할 수 없었고, 이후 부화 4 일째부터는 반대로 시베리아 철갑상어가 러시아 철갑상어보다 전장 성장에서 더 큰 값을 나타내었으며 이 후 부화 후 9 일까지 두 종간 격차는 점점 더 심화되는 경향을 나타내었다. 따라서 9 일자에서 시베리아 철갑상어는 평균 21.8 ± 1.0 mm의 전장을 보이는 반면, 러시아 철갑상어는 18.8 ± 0.6 mm의 전장 성장을 나타내어 통계적으로 유의차가 관찰되었다(Fig. 20).

3) 난황자어의 주광성 변화 비교

시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어는 확연히 다른 주광

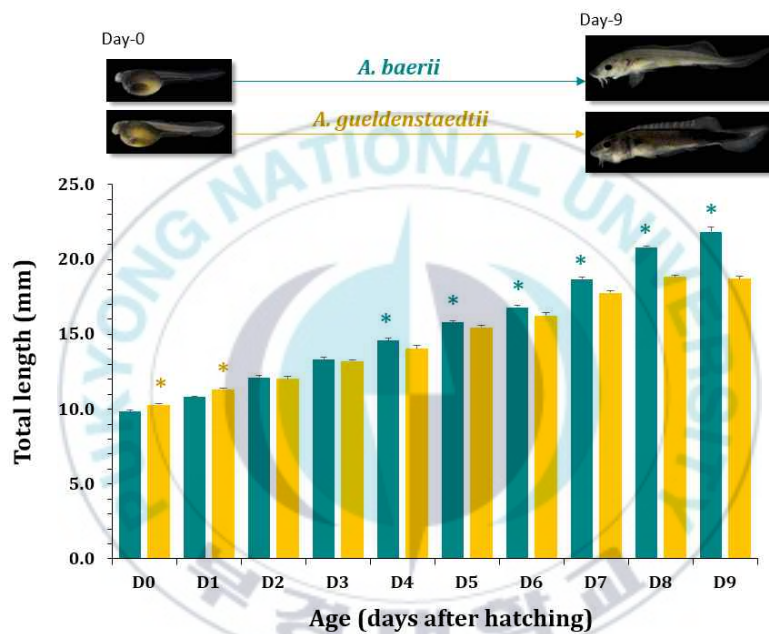


Fig. 20. Daily change of total length for Siberian sturgeon and Russian sturgeon prolarvae (up to 9 days post hatch)

성 반응을 나타내었는데 시베리아 철갑상어는 주광성 양성 반응을 보인 반면 러시아 철갑상어는 반대로 역주광성(빛 회피; 음성 주광성)의 특성을 나타내었고, 그 주광성·역주광성 반응은 prelarval stage의 발달 경과(일자별)에 따라 큰 폭의 변화가 있음이 관찰되었다. 시베리아 철갑상어의 경우 부화 직후부터 뚜렷한 주광성 반응을 나타내고 그 강도는 점차 증가하여 부화 후 3 일 ~ 5 일까지 가장 높은 수준의 주광성 반응을 나타내었다. 이후 6 일자부터는 주광성의 강도가 점차 감소하기 시작하여 7 일 및 8 일에서는 3 일자에서 관찰된 주광성 강도의 50% 및 30% 수준으로 각각 감소하였고 이후 9 일째에서는 매우 약한 주광성 정도만 관찰되었다. 이후 외부 먹이 공급 체계로 전환하면서 다시 주광성이 회복되는 경향을 나타내었다.

반면 러시아 철갑상어의 경우 부화 직후부터 2 일째 도달 시점까지는 빛에 대하여 특별한 광반응을 보이지 않았으나, 이후 음성 주광성 강도가 증가하여 빛을 회피하는 특성이 심화되었고 5 일 시작부터 7 일 도달 시점까지 음성 주광성(역주광성)의 성질이 가장 심화되었다. 이 시기의 러시아 철갑상어 자어는 빛을 회피하는 경향이 선명하여 광원에서 먼 쪽으로의 이동이 활발하고 강한 조명에 직접적으로 노출된 러시아 철갑상어 자어의 경우 유영을 멈추고 심한 스트레스 반응과 유사한 행태를

나타내었다. 이후 역주광성 특성은 조금씩 감소하여 외부 먹이 공급 체제로 전환한 후에는 최고 역주광성 값의 약 15% 수준을 유지하였다. 하지만 시베리아 철갑상어와 달리 러시아 철갑상어는 역주광성 또는 주광성의 회복 경향은 나타내지 않았고, 전형적인 야행성 특징을 보여주었다(Fig. 21).

4) 난황자어의 군집형성 및 주류성 변화 비교

주광성과 함께 주류성 및 군집성의 변화 역시 난황자어 단계에서 관찰되는 주요 특징으로서, 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어 모두 주류성 및 뭉침 현상 *clumping*을 보이지만 그 양상은 서로 다르게 나타났다. 시베리아 철갑상어의 경우 부화 직후 표층의 활발한 유영을 보이며 주류성과 군집성은 아직 관찰되지 않았다. 초기 발달이 경과하면서 2 일째에 도달하면 매우 적은 무리들이 주류성을 보이기 시작하고 3 일째에 그 주류성 대형에 참여하는 개체들의 수가 증가하였다. 이후 4 일째에 주류성과 *clumping* 특성이 크게 증가하고 5 일까지 증가한 주류성 및 군집성을 유지하였다. 그러나 5 일 이후 무리지어 있던 군집이 다소 풀리고 주류성의 움직임 역시 둔화되었다. 6 일에 이르면 움직임이 거의 없이 바닥에서 머무는 “non-locomotory wagging movement (NLWM)” 양상을 특징적으로 나타내었고

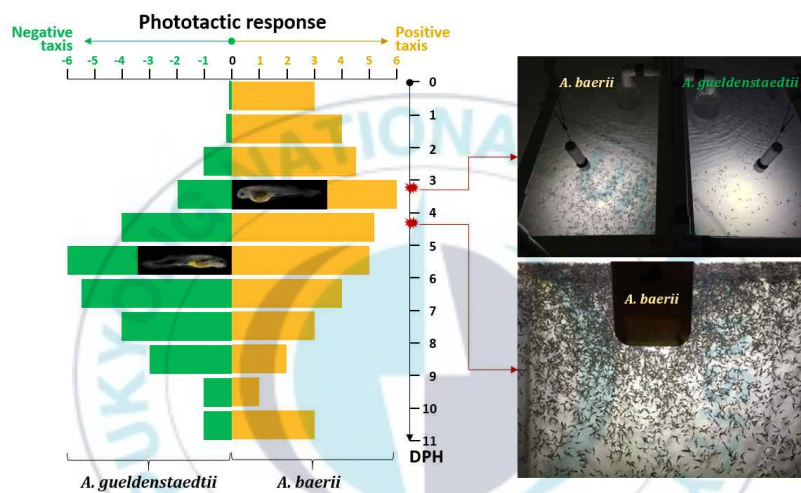


Fig. 21. Time course patterns for phototactic responses of Siberian sturgeon and Russian sturgeon fry

yolk plug 배출 직전의 이러한 특징은 7 및 8 일 시점까지 지속되었다. 이후 다시 활동성이 증가하여 바닥 및 중층에서 유영하는 개체들이 늘어나고 yolk plug 배출과 함께 먹이를 찾는 활발한 행동들이 시작되었다.

반면 러시아 철갑상어의 경우 시베리아 철갑상어에 비해서 상대적으로 강한 주류성 및 군집성을 나타내었다. 부화 직후 러시아 철갑상어 자어들은 실험 수조의 귀퉁이 아래로 모여드는 행동을 보여 시베리아 철갑상어와 차이를 나타내었고, 부화 직후부터 시작된 군집성은 자어의 발달에 따라 점점 증가하여 2 일째에 수조의 많은 개체들이 군집하기 시작하였고 3 일째에 조밀한 군집clump를 형성하기 시작하였으며 그 clumping 무리의 크기가 점점 증가하여 4 일째 이후에 최고조에 달하고 이 시기에 강한 주류성을 함께 나타내었다. 수조 내 대부분의 자어들이 주류성 대형 또는 clumping 대형에 참여하였으며 이러한 강한 주류성과 군집성은 6 일까지 지속되었다. 이후 7 일에 도달하면서 clumping 무리에서 빠져 나오는 개체들이 증가하고, clump의 조밀도 역시 감소하였으며, 다소 느슨한 형태를 이루었다. 군집상태는 유지하지만 군집의 밀도가 줄었고 군집 가장자리에서는 NLWM의 개체들이 7 일부터 쉽게 관찰되었다. 아직 주류성을 나타내고 있으나 유영의 속도와 활발함이 유의적으로

감소하였다. 8 일째에는 수조 전반에 걸쳐서 NLWM 행태를 보이는 개체들이 많이 관찰되고 모서리 등에 느슨하고 작은 군집형 NLWM이 유지되고 있었다. 이후 8 일을 넘어서면 수조 모서리의 군집형 NLWM 역시 사라져 9 일에서는 산개형 NLWM을 나타내었다. Pigment plug (yolk plug) 배출이 관찰되기 시작하고 움직임의 활동성이 서서히 회복되기 시작하였다. 10 일에 도달하면 시베리아 철갑상어만큼의 활동성을 나타내지는 않았지만 러시아 철갑상어 자어 역시 먹이 섭취를 위한 유영활동을 개시하였다(Fig. 22).

5) Pigment plug 배출 양상 비교

시베리아 철갑상어의 경우, 부화 후 11°C에서 난황 자어단계로 시작한 자어 그룹은 pigment plug 배출이 부화 2주째부터 개시되기 시작하였고 그 지속 기간이 제일 길어 1주일에 걸쳐 점진적으로 배출이 일어났다. 16 일 ~ 18 일 구간에서 가장 높은 빈도로 배출이 일어났지만 그 외 일자에서도 상당 빈도가 배출을 나타내어 특정 기간에 집중화된 경향을 보여주지 않았다. 15°C에서 자어 사육을 할 경우 10 일부터 배출이 관찰되어 15 일까지 배출이 이루어졌으며 12 일과 13 일에서 가장 높은 빈도로 배출이 일어나 11°C 그룹에 비해 time window의 단축

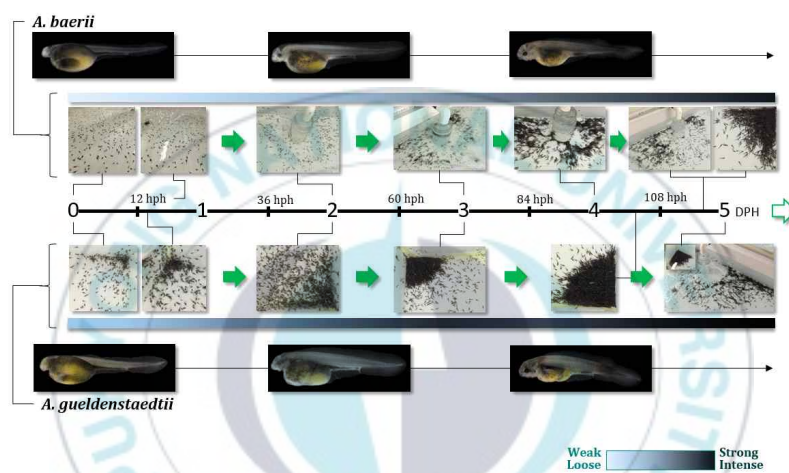


Fig. 22a. Rheotaxis and clumping behavior of Siberian and Russian sturgeon fry during the period from 0 DPH to 5 DPH

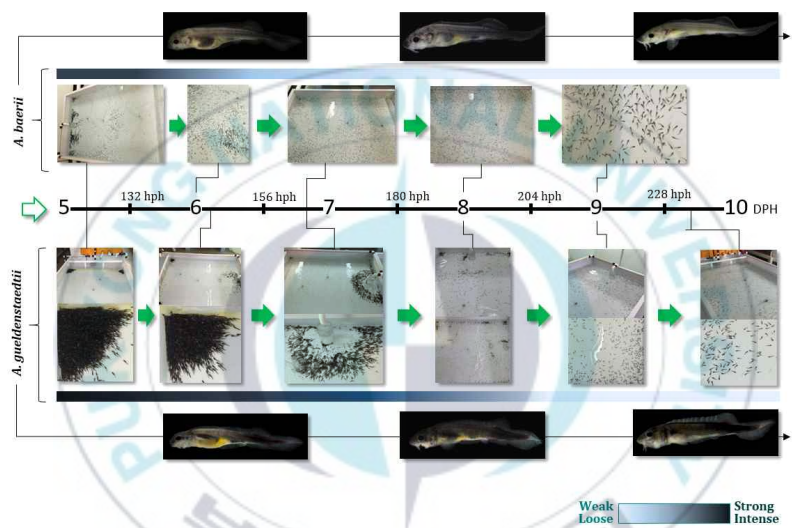


Fig. 22b. Rheotaxis and clumping behavior of Siberian and Russian sturgeon fry during the period from 5 DPH to 10 DPH

과 집중화(동기화) 정도가 증가하였다. 반면 19°C 자어 그룹에서는 6 일째에서 배출이 개시되어 8 일에 종료됨으로써 time window가 가장 짧은 3일을 나타내었다.

러시아 철갑상어의 경우, 시베리아 철갑상어와 비교 시 상대적으로 더 넓은 time window를 나타내었는데, 11°C 그룹의 경우 시베리아 철갑상어 자어 그룹과 마찬가지로 14 일에서 배출이 최초 관찰되었지만 부화 3주째에도 배출이 완료되지 못한 개체들이 관찰 가능하였다. 15°C 배양 그룹의 경우 역시 가장 높은 빈도의 배출이 일어나는 시점은 시베리아 철갑상어의 동일 온도 그룹과 일치하였지만 그 집중화 정도가 시베리아 철갑상어보다 낮았다. 한편 19°C 배양 그룹의 경우 다른 온도 그룹과 비교 시 가장 동기화 정도가 높았으나 시베리아 철갑상어의 동일 온도 배양 그룹과 비교 시 24시간 정도의 lag time이 존재하는 것으로 관찰되었다(Fig. 23).

3.5. 자·치어의 초기 생존율 및 성장

1) 독립 사육에서의 초기 생존율

시베리아 철갑상어 자어 그룹의 경우 9 일 ~ 12 일에서 1차 폐사 구간의 peak가 관찰되었고 이후 폐사가 감소하였으며 다시 18 일 ~ 20 일에서 2차 폐사 구간의 peak가 나타났다.

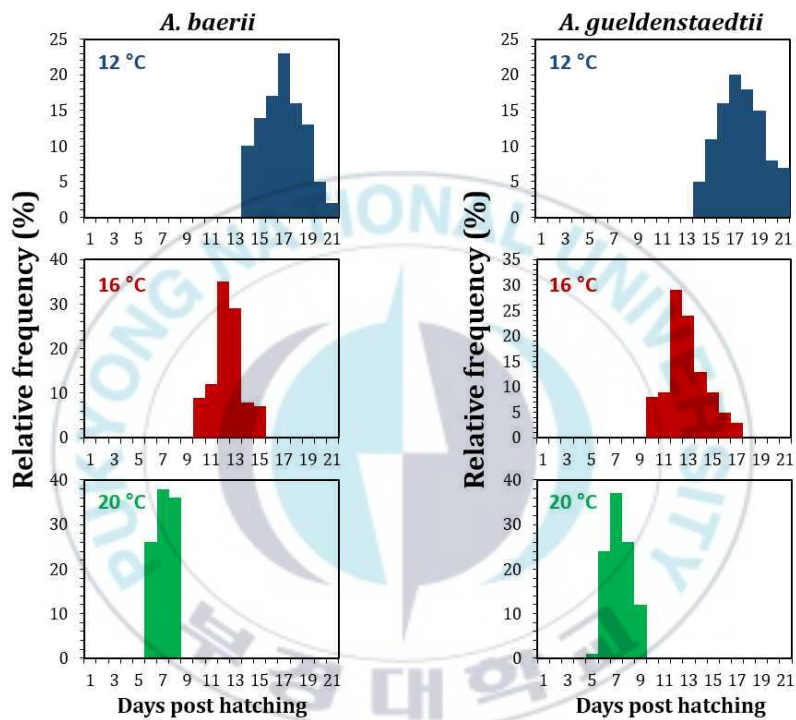


Fig. 23. Effects of incubation temperature on the lag time to pigment plug evacuation of Siberian and Russian sturgeon prolarvae

폐사 개체수를 비교 시 1차 폐사 구간이 2차 폐사 구간보다 더 많은 것으로 관찰되었다. 2차 peak 이후에는 극소수(1~2마) 마리 수의 폐사가 23 일까지 추가로 관찰되었으나 곧 안정되어 실험 종료 시까지 더 이상의 폐사 개체는 관찰되지 않았다.

러시아 철갑상어 자어 역시 1차 폐사 구간이 9 일 ~12 일에서 peak로 관찰되었고 폐사율이 감소되었다가 2차 peak가 21-22 일 구간에서 관찰되어 전반적인 양상은 시베리아 철갑상어와 유사하였다. 하지만 시베리아 철갑상어와 비교 시 peak의 높이가 높고(즉, 해당 구간에서 폐사율이 상대적으로 더 높고), 2차 peak의 경우 peak의 폭이 더 넓은(즉, 폐사 개체 출현이 상대적으로 더 오랜 기간 동안 관찰됨) 경향을 나타내어 시베리아 철갑상어의 패턴과 차이를 보였다. 결과적으로 부화부터 30 일까지의 누적 생존율을 평가하였을 경우, 2회의 반복 시험에서 시베리아 철갑상어가 러시아 철갑상어보다 월등히 높은 생존율 성적을 나타내어 시베리아 철갑상어 그룹은 92~94% 이상의 생존율을 해당 기간에서 보였지만, 러시아 철갑상어의 경우 87~88%의 생존율을 나타내었다(Fig. 24, 25).

2) 초기 생존율 및 성장

길이 성장의 경우 두 종간 난황 자어 단계에서 부화 4 일자

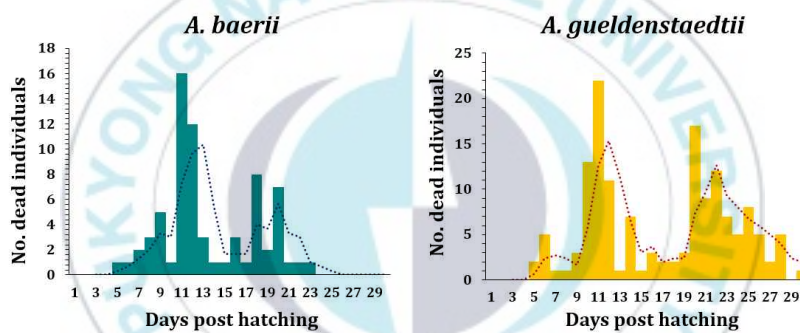


Fig. 24. Early mortality patterns of Siberian and Russian sturgeon larvae and fry raised in independent tanks

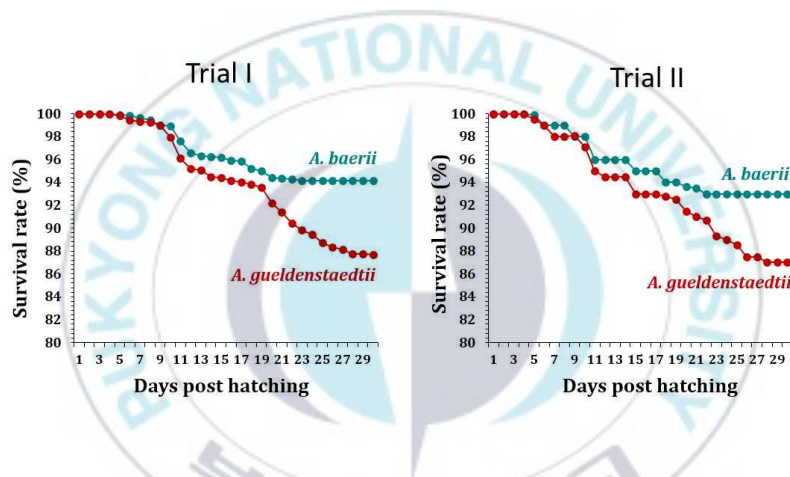


Fig. 25. Survival rates of Siberian and Russian sturgeons larvae and fry up to 30 days after hatching under separate, independent rearing conditions

시점부터 시베리아 철갑상어가 러시아 철갑상어 보다 빠른 성장을 보이기 시작하였다. 이후 그 차이는 점점 심화되어 prelarval stage가 종료되는 시점에서 확연한 차이를 보이기 시작하였고 부화 2주째 다소 중간 차이가 줄어들었지만 곧 다시 격차가 벌어져 두 종간의 길이 차이는 심화되는 경향을 나타내어 29 일자에서 가장 큰 격차가 나타났고 이후 32일째 그 차이가 다소 완화되는 경향을 보였다.

무게 성장의 경우 길이 성장에 비해서 다소 후반 시점에서 중간 차이가 선명해지기 시작하였는데, 시베리아 철갑상어는 러시아 철갑상어와 비교 시 부화 후 17일 시점에서 유의적으로 높은 평균 어체중 값을 보이기 시작하였고 두 종간의 차이는 일자가 경과할수록 심화되는 경향을 나타내어 부화 29일째 가장 큰 차이를 보였다가 32일째 다소 그 차이가 줄어드는 양상을 나타내었다(Fig. 26).

3.6. 대량 종묘 생산

시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어의 대량 종묘 생산 시설 최적화 조건 중 초기 실험 수조(1.2 m x 2 m x 0.2 m)에서의 밀도에 따른 생존율을 비교한 결과 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어의 동일 밀도의 초기 생존율은 시베리아 철갑상

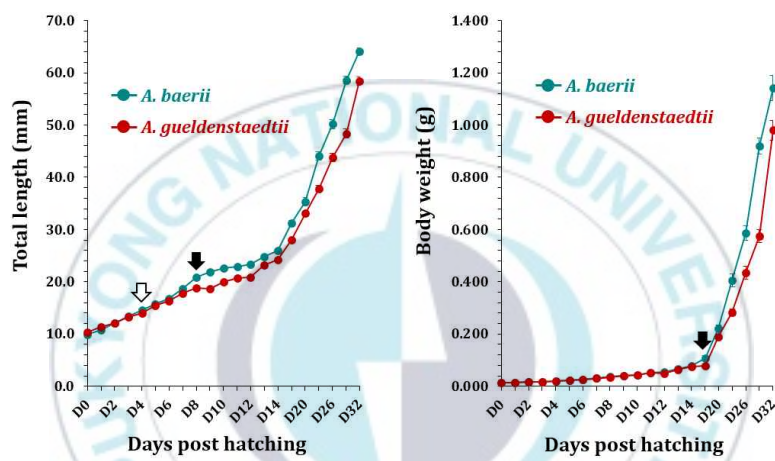


Fig. 26. Early growth of Siberian and Russian sturgeon fry

어가 다소 높은 것으로 나타났다. 체중 증가 역시 시베리아 철갑상어가 러시아 철갑상어에 비해 수조당 다른 밀도처리를 한 3개의 실험군(800, 1,500, 3,000) 모두에서 높은 수치를 보였다. 수조당 개체수에 따른 생존율 및 체중 증가율은 두 종 모두 가장 낮은 밀도의 수조인 수조당 800마리에서 높은 생존율 및 체중 증가율을 보였으나 시베리아 철갑상어의 경우 러시아 철갑상어에 비해 비교적 밀도에 따른 생존율과 체중증가의 차이가 적게 나타났으며 러시아 철갑상어의 경우 밀도에 시베리아 철갑상어의 경우보다 다소 민감하게 반응하는 것으로 나타났다. 그러나 옥외 수조로 이송, 사육 2개월 동안 러시아 철갑상어의 성장률이 시베리아 철갑상어의 그것보다 높았으며 최종 3개월의 시험 사육 후 두 종의 성장차는 두드러지지 않음을 알 수 있었다. 결국 대량 종묘생산을 위한 사육 시점에 따른 밀도 선정과 사육 환경 최적화 조정은 두 종의 종특이적 사육 특성을 감안한다면 비교적 안정적이고 효율적임을 알 수 있었다(Fig. 27 - 30).

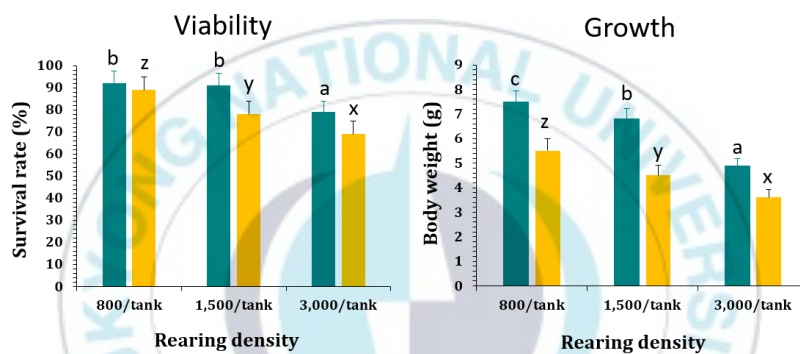


Fig. 27. Effects of rearing density on viability and growth of Siberian and Russian sturgeon fingerlings

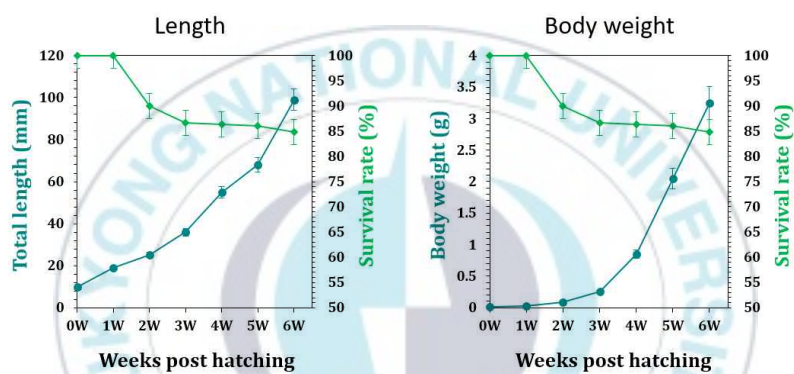


Fig. 28. Scale-up fingerling production of Siberian sturgeon with an optimized protocol

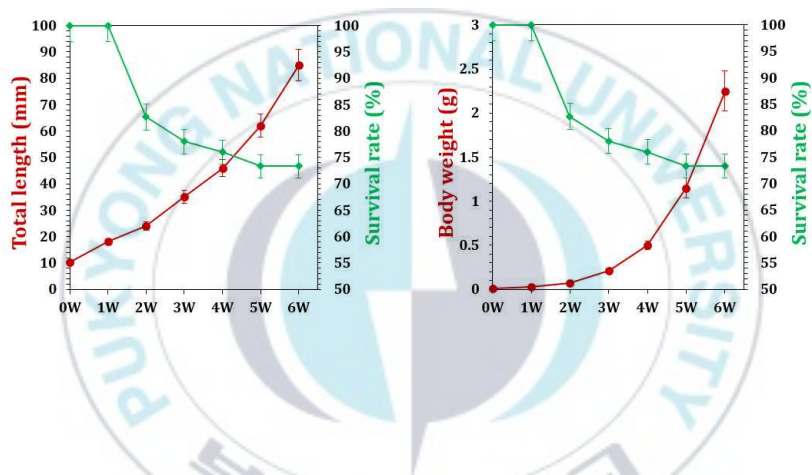


Fig. 29. Scale-up fingerling production of Russian sturgeon with a semi-optimized protocol



Fig. 30. Seed production of farmed Siberian and Russian sturgeons in a pilot scale

IV. 고 찰

동물극 반구(animal hemisphere)의 배반에서만 부분할을 하는 많은 다른 경골어류의 배아들과는 달리 철갑상어는 전할 분할을 보여준다(Conte et al., 1988; Kunz et al., 2009). 일반적으로 본 연구에서 관찰된 전할 분할 패턴은 다른 Acipenseriform의 어류를 설명한 이전 내용들과 일치하였다(Dettlaff and Vassetzky, 1991; Dettlaff et al., 1993). 시베리안 철갑상어와 러시아 철갑상어 모두 식물극 반구에서 각각의 분할경계가 완전히 분열하지 않는 불균등한 전분할(uneven holoblastic) 패턴을 볼 수 있다는 점에서 다른 철갑상어 종과 다르지 않음이 관찰되었다. 철갑상어 배아에서 이런 비대칭적인 분할 패턴은 양서류 배아에서의 전할 분할과 다름을 보여준다. 이 차이는 철갑상어 배아의 동물반구와 식물반구사이에 난황 구성물질의 배치가 균등하지 않음에서 기인한다고 보이며 식물반구에 난황 물질이 더 많이 포함되어 있어 분할율이 떨어지는 것을 보이는 것이다(Colombo et al., 2007). 이러한 다른 비율의 난황은 포배기 시점에서 동물반구와 식물반구의 할구의 모양과 크기가 다르게 되는 결과를 가져온다. 이것으로 포배기의 진행과 함께 동물과 식물반구 사이의 경계의 변화는 중간 크기의 할구가 형성되는

것이다. 이 지역에서 배순(dorsal lips)이 철갑상어 배아의 낭배기 시작의 표식으로 나타나는 것이라 보여진다(Bolker, 1993). 뒤이어 안으로 말려 들어지는 초기 internalization은 배엽이 오르면서 몸의 구조가 낭배기동안 프로그램 되는 전체적인 계획이 수립되어 진다. 이 시기에는 보통 전발생세포의 형태유전학적 운동과 융합한 난황세포, 그리고 별개의 배아 층의 복잡한 세트들이 관여한다(Cooper and Virta, 2007; Shook and Keller, 2008).

낭배기중에 동물반구의 포배 지붕(blastula roof)은 점진적으로 배아를 덮는다(epiboly formation). 덮여진 배아는 신경배형성기의 사인으로 원구로부터 금이 간 것 같은 신경 통로를 보여주기 시작하고 이것은 곧 머리 부분에서 신경주름형성과 함께 등표면에 신경판의 형성으로 이어진다. 신경배형성기 초기 진행과 함께 머리가 되는 부위의 접힘과 전신흔적기관이 신경통로와 평행이 되는 부분에서 머리구조와 신장기관의 형성이 주목할 부분이다. 전신(pronephros)은 척추동물의 발달에서 처음으로 형성된 신장(배아 신장으로 불리는)이며 이것은 종종 양서류나 어류에서 초기 혈액의 정화와 삼투압조절에 필수적인 역할을 부화 시기 자어기에 지속한다(Drummond et al., 1998; Ichimura et al., 2012). 대부분의 어류의 초기 단계 동안 기능을

하는 전신장이 발견되지만 철갑상어 같은 경린어류의 배아에서 보통 다른 경골어류에 비해 더욱 형태적으로 도드라진 전신장(pronephros)을 보여준다(Park et al., 2013a,b).

발달이 진행되면서, 철갑상어 배아는 더욱 분화된 전신장의 날개를 갖는다. 신경배형성기의 후반기에 가장 두드러진 형태적 변화는 심장의 형성이다. 심장 흔적은 시베리아 철갑상어 배아에서 원래 직선 튜브형태를 보인다. 그리고 이 직선 구조는 심장이 박동하는 시점에 S자 형태의 모양이 된다. 그런 뒤 배아는 형태적 구조의 분화를 더욱 진행하는데 특별히 머리가 두꺼워지고 꼬리부분이 길어지며 난황막으로부터 꼬리가 떨어지며 눈의 막이 나타나고 지느러미의 주름이 형성된다. 부화 직전 시기의 배아는 움직일 수 있다. 부화되는 자어들은 종종 난막으로부터 꼬리를 내는 것으로 부화가 시작된다. 일찍 부화하는 몇몇 자어의 경우 정상 자어가 똑바른 모습을 보이는 것과 달리 구부러진 형태를 보인다(Park et al., 2013a,b). Colombo et al (2007)은 이러한 선행 부화하는 자어의 경우 삼코 철갑상어(shovelnose sturgeon)에서 전형적인 눈의 착색이 되어있지 않은 현상을 보이고 pigment plug가 불완전하게 형성된 것을 보인다고 보고하였다. 그러나 본 실험에서 안구의 착색정도 혹은 yolk plug의 형성에 부족을 발견하지 못하였고 이는 이들 두 종의 철

갑상어의 배아 발달과정에서 색소세포의 축적 패턴이 서로 다름을 제시한다고 하겠다. 본 연구에서는 정상적인 배아 발생 단계별 발달 과정의 완벽한 이미지 세트를 완성하였으며 또한 이와 함께 시베리안 철갑상어의 30단계 발생 단계의 배아 발달과정을 기술하였다. 이 연구의 결과를 기초로 초기 체세포 분열에서 초기 시작 수온의 영향이 철갑상어의 발달에 끼칠 부분을 추후 연구해야 할 필요가 있다고 본다. 이 연구의 결과는 시베리아 철갑상어의 종묘 생산 제어를 위한 유용한 자료가 될 것으로 보이며 발생학 단계별 유전자 발현의 연구에 기초가 될 것으로 생각된다(Park et al., 2013a,b).

철갑상어 수정란은 점착란으로서 수정 후 강한 점착력을 갖고 난끼리 서로 부착하여 자연계 산란장에서 산란된 알이 빠른 유속의 수류에 유실되는 것을 방지하는 기능을 갖는다. 하지만 인위적인 실험재료로 사용하거나 인공 종묘를 위한 생물 생산 시에는 수정란의 점착 기능은 오히려 관리 측면에서 부정적인 영향이 있으며, 특히 죽은 알이 발생하였을 때 사란의 수생균 등이 부착되어 있는 근처 알에 함께 영향을 미치는 등 발생 배 관리에 큰 불편함을 유발한다. 따라서 일반적으로 대량의 철갑상어 수정란을 배양하기 위해서는 수정 후 부착 방지제 처리를 주로 fuller's earth 로 일컫는 bentonite (aluminium

phyllosilicate clay) 재질의 점토를 사용하여 수행하는데, 본 처리 과정이 대량 부화 시 발생 배의 생존율을 결정하는 주요 요인 중 하나로 알려져 있으며, 철갑상어 종마다 수정란의 크기 및 성질에 따라 세부 처리 방법이 달라져야 한다. 이에 본 연구는 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어 수정란을 대상으로 최적의 처리 조건을 정립하기 위해서 10,000개의 수정란을 기준으로 처리 시간 및 처리 용량을 평가하였다.

점착 방지 처리 후 실험군의 인공부화를 위해서 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어는 서로 다른 부화 장치 형태가 필요한 것으로 나타났고, 본 연구에서는 두 종을 대상으로 각 종에 적합한 대량 인공부화 장치를 최적화 하였다. 시베리아 철갑상어는 부화까지 발생 기간 동안 적절한 회전 수류를 제공함으로써 난들 간에 부착을 방지하고 사란이 발생할 경우 부력에 의해 생존 난과 분리되는 부화 시스템이 효과적으로 작동 가능하다. 특히 부화 동기화가 온도로 비교적 용이하게 유도될 수 있기 때문에 동일 부화 용기에서 단시간 내 부화를 유도할 수 있으므로 활동성이 높은 시베리아 철갑상어 부화 자어들이 부화 용기 밖으로 충격 없이 배출될 수 있도록 sliding frame의 설치가 대량 부화와 부화자어의 분리에 효과적으로 활용될 수 있다. 반면 러시아 철갑상어의 경우 배 발생 단계가 진행되면서

초기 수정란의 부착 성질을 제거하였더라도 점차 수정막의 부착 특성을 일부 회복하는 경향을 나타내기 때문에 시베리아 철갑상어와 같은 원통형 jar 용기의 부화 장치를 사용할 경우 폐사 embryo가 조금만 증가하여도 세균의 번식과 발생 배가 난괴로 연결되는 뭉침 현상이 쉽게 발생한다. 따라서 러시아 철갑상어의 경우 단일 layer 형태의 배양을 통해 뭉침 현상을 최소화하고 또한 활동성이 적고 부화 소요 기간이 상대적으로 긴 러시아 철갑상어의 경우 지속적인 유동성 수류를 제공하는 것 보다 유속이 덜한 상태에서 부화 자어를 유도하는 것이 더 효과적이었다.

길이 성장의 경우 두 종간 난황 자어(prelarval stage)에서 부화 4 일째 시점부터 시베리아 철갑상어가 러시아 철갑상어보다 빠른 성장을 보이기 시작하였다. 이후 그 차이는 점점 심화되어 prelarval stage가 종료되는 시점에서 확연한 차이를 보이기 시작하였고 부화 2주째 다소 종간 차이가 줄어들었지만 곧 다시 격차가 벌어져 두 종간의 길이 차이는 심화되는 경향을 나타내어 29 일에서 가장 큰 격차가 나타났고 이후 32일째 그 차이가 다소 완화되는 경향을 보였다. 무게 성장의 경우 길이 성장에 비해서 다소 후반 시점에서 종간 차이가 선명해지기 시작하였는데, 시베리아 철갑상어는 러시아 철갑상어와 비교 시

17 일 시점에서 유의적으로 높은 평균 어체중 값을 보이기 시작하였고 두 종간의 차이는 일자가 경과할수록 심화되는 경향을 나타내어 부화 29일째 가장 큰 차이를 보였다가 32일째 다소 그 차이가 줄어드는 양상을 나타내었다.

본 연구는 초기 시베리안 철갑상어 난황자어 및 자어의 형태적 발생 변화를 기술하였고, 초기 발달에서 온도조건의 영향에 대해 실험하였다. 전체적으로 본 연구에서 관찰 기록된 자어의 형태적 발달에 대한 내용은 보고된 동일종에서의 성장 패턴과 대비 발생 기록과 일치함을 알 수 있었다(Gisbert, 1999; Gisbert et al., 2000). 본 실험에서 18°C 조건의 관찰 기록은 같은 종으로 17.8°C에서 수행된 이전 연구 결과(Gisbert, 1999; Gisbert et al., 1999)에서 finfold 발달, 전장과 성장, 난황 흡수, 꼬리지느러미 형성등과 사진 정보 등에서 일관됨을 보여주었고 이전 연구를 재확인 하는 계기가 되었다. 그러나 한편, 외부 노출된 아가미의 아가미 뚜껑에 의한 덮힘 현상(9 dph in the previous description vs. 20 dph in the present study)과 등의 굳비늘의 형성시점(9 dph vs. 13-14 dph)등은 이전 연구와 비교할 때 현저한 차이를 보여주었다. 아가미 뚜껑에 의한 아가미 덮힘 현상은 피부호흡에서 아가미호흡으로 전환되는 시점에 수반되는 것으로 알려져 있다(Dettlaff et al. 1993; Ostos-Carrido

et al., 2009). 비록 이 현저한 아가미 덮힘 시점 차이의 명확한 이유를 규명하진 못하였지만 한 가지 실험하지 못한 가능성은 두 실험 간의 용존산소 레벨의 차이점(former study 8.5 ppm vs. present study 6.3 ppm)을 들 수 있다. 이전 연구 조건에서의 더 높은 산소 레벨이 호흡의 전환을 더 앞당기게 했을 수 있었을 수도 있다. 앞으로 다른 산소 레벨에서의 아가미 덮힘 현상의 진행에 대한 관찰에 대한 실험이 필요할 수도 있을 것으로 생각된다. 한편, 군비늘의 형성 시점의 차이는 아마도 수질조건의 차이와 공급한 먹이의 영양 성분차(무기질의 양)에서 기인한 것일 수 있다고 보인다. 왜냐하면 무기질이 철갑상어의 군비늘 형성에 중요한 요구인자라는 것이 폭넓게 받아들여지고 있기 때문이다(Khajepour and Hosseini, 2010). 그러나 이 가설 또한 실증적 관찰이 필요하다고 생각한다. 한편 본 연구를 통해 우리는 시베리아 철갑상어 자어의 형태 발달과정에서 일시적 치아의 발생에 대한 상세한 정보를 제공하였다. 현재까지 철갑상어의 자어 발생 단계에서 이빨의 일시적 발달 패턴을 폭넓게 기술한 보고는 없었다. 본 연구에서 철갑상어 자어 발달 단계에서 치아의 일시적 생성의 변화 과정과 함께 형태적 특징 등을 새롭게 기술하였다. 시베리아 철갑상어 자어의 이빨 흔적은 빠르면 부화 5일부터 시작하여 9일부터 10일 사이에 날카로운 상

어와 같은 이빨 모습을 보이다가 점차 퇴화하여 21일쯤 완전히 사라지는 것으로 관찰되었다. 치아의 수는 개체간의 차이를 보이며 이는 윗입과 아랫입의 치아 모두에 적용된다. 비록 철갑상어에 있어 일시적 치아의 생성과 퇴화에 관여하는 메커니즘을 완전히 이해하진 못하였지만, 이는 외부로부터 먹이(아마도 기저 무척추생물 같은 먹이)를 섭취할 때 물고 자르는 것과 관계가 있다고 생각된다(Gisbert, 1999; Ostos-Garrido et al., 2009; Kirschbaum and Williot, 2011). 본 실험에서 관찰된 이빨의 발달이 최고조에 달하는 시점인 부화 9일과 11일은 yolk plug가 빠짐과 동시에 외부의 먹이를 먹어야 하는 시점과 일치한다. 또한 이는 이전 실험에서 보고된 시베리아 철갑상어 자어 발달 과정에서 cardiac stomach의 완전한 분화와 관련한 소화효소 활동의 증가 (Gisbert et al., 1999)가 이루어지는 시점과도 일치한다. 그러나 이빨이 퇴화하는 것과 섭이 행동과 소화 기능의 변화간의 관계는 좀 더 연구해야 할 필요가 있다고 생각된다.

온도 조건 실험에 있어서 수정된 시베리아 철갑상어 배아의 발생은 세 온도 조건(11°C, 15°C, and 19°C)에서 정상적으로 진행되었으나 23°C에 배양된 배아는 낭배기에서 모두 폐사하였다. 이는 23°C에 배양된 배아들이 적어도 초기 분열까지는 성공적으로 진행하였으나 열과 관계된 문제가 배엽형성과정(낭배기,

신경배형성기 같은)에 영향을 미쳤을 것이라고 보여진다. 이러한 단계는 어류에 있어 기관의 형성과 기능을 프로그래밍 하는 중요한 단계로 알려져 있다(Bolker, 2004; Cooper and Virta, 2007). 23°C에서 배양된 배아 중 어느 것도 철갑상어의 신경배형성의 성공적인 완성의 지표로 알려진(Dettlaff et al., 1993; Park et al., 2013) 심장의 생성과 전신(pronephros)의 형성을 보여주지 못하였다. 이 실험에서 관찰되는 이러한 23°C에서의 치명적 폐사현상은 다른 철갑상어 종인 *Acipenser gueldenstaedtii*에서의 실험에서 보고된 것과 유사하다(Wang et al., 1985).

다른 대부분의 변온 동물의 배아 발생에서처럼 시베리아 철갑상어의 발생에서도 배양온도와 발생률은 상반된 관계를 보여준다. 19°C에서 첫 부화에 까지 걸리는 시간은 11°C에서의 시간에 35%정도이며 15°C에서 첫 부화 도달시간의 절반정도 걸리는 것으로 관찰되었다. 그러나 부화 후 자어의 전장의 길이는 모든 온도 조건그룹에서 유의한 차이는 보이지는 않았다. 시베리안 배아의 배양에 있어서 20°C에 가까운 온도는 낮은 온도의 배양보다 중요한 장점이 될 수 있는 것은 부화 이벤트가 짧아져 부화의 동시화를 이룰 수 있다는 점이다. 실험온도 그룹 중 낮은 배양 온도에서의 부화는 높은 온도에서 보다 오래 걸리는 것을 관찰하였다. 19°C에서의 부화는 꼬리가 움직이는 배아를

배양한지 거의 3일 이내에 완료한 반면, 15°C에서는 5일, 11°C에서는 9일내에 완료하였음을 보였는데, 게다가 부화율 역시 다른 두 낮은 온도 조건보다 특별한 비정상 부화 자어의 증가 없이 두드러지게 높게 나타났다(Park et al., 2013b). 19°C에서의 짧은 부화 종료 기간으로 인한 부화 동시화 현상은 양식현장에서 중요한 점을 내포하는데, 이것은 첫 번째 외부 사료의 투여 시점을 보다 명확하게 결정할 수 있다는 점이다. 양식 조건에서 균일한 부화시간을 갖지 않은 자어의 군집은 인공 사료의 투여 시점에 있어 시간적 차이를 보여 먼저 부화한 자어와 늦게 부화한 자어 모두에게 정확한 시점의 사료 공급을 못하여 원하지 않은 자어군의 폐사를 초래할 수 있기 때문이다. 완전한 외부 사료 섭이 가능 시점이 되지 않은 철갑상어의 자어에게 사료를 공급하는 것은 자어의 성장에 아무런 도움을 주지 못하며 사료 공급시점이 늦어진 자어의 경우 그 성장과 생존에 상당한 제한 요인이 된다는 사실은 널리 받아들여지고 있다(Gisbert and Williot, 1997). 게다가 늦게 부화된 자어 그룹이 많은, 특히 11도 배양 조건에서, 상당히 많은 수의 폐사된 자어는 형태적으로 온전하였으나 늦은 부화로 인한 박테리아, 곰팡이 등에 노출된 시간이 길어 폐사할 확률이 높아지며 이는 같은 사육 수조 내 이미 부화한 자어에게도 나쁜 영향을 미쳐 산업적으로 대량 사

육조건에서 상당한 영향을 미칠 것으로 생각된다. 난황자어의 pigment plug의 배출에 있어 높은 배양온도가 밀접한 관계가 있다고 보이는데, 19°C에서 pigment plug가 배출되는 기간이 다른 낮은 배양온도 조건에서보다 단축이 되었다. 외부 먹이의 섭취 시점과 난황의 흡수 후 pigment plug의 배출 현상은 높은 상관관계를 보여주는데 자어의 생존율과 발달이 pigment plug의 배출 후 외부에서의 먹이 공급 시점의 정확성에 상당히 민감한 관계가 있다고 알려져 있다(Conte et al., 1988; Gisbert and Ruban, 2003). 이러한 이유에서 난황에서 외부 먹이로의 영양 공급이 필요한 시기로 전환되는데 있어 균일한 시점을 가진 자어의 확보는 철갑상어 치어 양식 사육에 있어 상당히 유리할 것이라고 생각된다. 그러므로 본 연구의 결과에서 제시하는 것은, 19°C 배양 조건에서 시베리아 철갑상어 난황 자어를 사육하여 짧은 부화 기간에 균일한 조건의 자어를 확보하면 이는 대량 사육에 있어 상당히 유리한 점으로 작용할 것이라는 점이다. 만약 이 같은 시도가 성공적이라 한다면 본 연구의 데이터는 시베리아 철갑상어의 치어 생산과 사육에 있어 유용한 기술적 가이드를 공급한 것이라고 생각된다(Park et al., 2013b).

철갑상어는 난황자어 단계(prelarval stage)에서 주광성을 나타낼 수 있다고 알려져 있으나 아직 주광성의 정량적인 평가

또는 어종 간 상대 비교 등에 대해서는 자료가 극히 부족한 상태이다. 주광성의 경우 먹이 추구 습성 및 유영활동과 밀접한 관계가 있을 뿐만 아니라 실험 어류의 관리 측면에서도 적정 수조의 밝기 및 조명 세기, 그리고 수조의 수심을 결정하는데 중요한 고려 요인이다. 따라서 본 연구에서는 두 철갑상어 종의 주광성 유무 및 양상에 관한 정량적 평가 자료를 확보함으로써 실험 어류의 초기 생활사 관리 체계를 효과적으로 구축하고자 하였다.

철갑상어 자어는 pigment plug (yolk plug)를 보유하고 있는 prelarval stage에서 초기 발달 및 소화기관의 분화가 이루어지고, 점진적인 난황 흡수가 이루어지면 외부 먹이 섭취 체제로 전환(transition to exogenous feeding)하게 되는데, 이와 같은 영양원 공급 체계의 전환 기점은 pigment plug 배출을 신호로 이루어진다. 따라서 pigment plug 배출은 철갑상어가 prelarval stage에서 larval stage로의 전환을 의미한다. 앞서 언급한 바와 같이 철갑상어는 부화 개시에서 종료까지의 time window가 넓은 것처럼 pigment plug 배출 역시 동일 일자에 부화한 자어들이라도 pigment plug 배출이 모든 개체들이 동시에 일어나지 않으며 이 또한 time window가 넓은 편이다. Pigment plug 배출 직후 자어의 적절한 생존율을 위해서는 인공 먹이를 곧바로

공급해야 하지만 자어 그룹 내 pigment plug 배출이 아직 일어나기 전인 자어들에게 먹이를 공급하는 것 또한 부정적인 영향을 미친다. 때문에 실험생물의 초기 관리 측면에서는 pigment plug 배출이 자어의 발달 나이(days after hatching)의 이른 시점에 일어나는 것보다 더 중요시되는 것이 실험군내 pigment plug 배출의 개시부터 종료 시점간의 폭을 좁히는 것이다. 이상의 연구 결과에서 시베리아 철갑상어 자어가 러시아 철갑상어 자어에 비해서 온도 조절에 의한 pigment plug 배출의 동기화 효과가 더 높았으며, 상대적으로 인공 먹이 체제로의 전환(즉, 최초 먹이 공급 시점)을 결정하는데 더 유리하였다. 러시아 철갑상어의 pigment plug 배출에 관한 time window가 시베리아 철갑상어에 비해서 더 넓은 이유는 러시아 철갑상어와 시베리아 철갑상어 자어의 운동성(활동성) 차이가 주요한 요인으로 작용하는 것으로 판단된다(Park et al., 2013b).

개체의 형태 발달 및 성장 양상과 peak 구간과의 상관관계를 조사한 결과, 1차 peak는 두 종 모두 transient teeth의 발달과 관계가 깊은 것으로 판단된다. 철갑상어의 경우 초기 발달과정 중 치아가 잠시 형성되지만 이후 곧 퇴화되는 특징을 나타내는데, 시베리아 철갑상어 및 러시아 철갑상어의 치아 발달은 부화 5-6일 경에 시작되어 11-12일째 최고조에 달하는 것으

로 조사된 바, 1차 peak의 공식에 의한 폐사가 치아 발달과 연관이 있음을 보여주고 있다. 시베리아 철갑상어에 비해서 러시아 철갑상어는 치아 발달이 두드러지고 보유 기간도 상대적으로 길게 나타났으며, 이로 인해 폐사의 강도가 더 높게 관찰되었다고 여겨진다. 반면 2차 peak의 경우 개체의 바이오매스가 급증하기 시작하는 시점과 일치하는데, 본격적인 성장(증식)기에 돌입하면서 먹이경쟁이 심해지고 개체들 간 크기 차이가 유발되며, 경쟁적 관계에서 뒤쳐진 개체들의 폐사가 일어난 것으로 판단된다. 두 종에서 2차 peak 출현 직후 시점은 transient teeth의 퇴화가 거의 종료되는 시기와 일치하고, 완전히 치아가 퇴화된 이후에는 생존율이 안정화되는 경향을 나타내었다.

Chapter-II

양식산 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어로부터의 캐비아 생산 및 평가

I. 서 론

캐비아(caviar)라 함은 철갑상어의 알을 가공 처리하거나 염장한 알을 칭하는데, 그 어원은 페르시아어에서 유래한 것으로 ‘알’을 뜻하는 ‘*khaya*’와 ‘낳음’을 뜻하는 ‘*dar*’가 합쳐진 말에서 비롯된 것이고 터키어 ‘하비아(haviar)’에서 유래하여 소개된 용어로 알려져 있다(Boeckmann and Nielsen, 1999). 1240년대 몽고의 징기스칸의 손자인 바투칸의 문서기록에 캐비아가 등장하며 초기 상업적 거래는 1800년대 러시아로부터 러시아 황제의 음식으로 유럽에 소개되면서 시작되었다고 소개되어 있다(Ramade, 1999). 전통적으로 캐비아라 함은 카스피 해와 흑해 등지에서 포획한 자연산 철갑상어의 알을 뜻하였으나, 1980년대 말 (구)소련의 붕괴 이후 자본주의 국가들에 철갑상어가 본격적으로 소개되면서, 이후 미국, 프랑스, 이태리 등 국가들에서

양식산 철갑상어로부터 캐비아 생산이 시작되면서 양식산 캐비아 시장이 형성되었다(Saffron, 2002; Pikitch et al., 2005). 자연산 철갑상어 집단의 급감 등으로 인해 1998년 국제적 멸종위기 동식물의 거래에 대한 협약(Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora; CITES)에 철갑상어 전 종이 멸종위기 및 멸종 위협 종으로 등재되면서 양식에 의한 캐비아 생산의 요구가 지속적으로 크게 증가하고 있는 추세이다(Hochleithner and Gessner, 1999; Williot et al., 2011).

우리나라의 경우, 1990년대 말 철갑상어가 처음 양식 후보종으로 소개되었으나(Seong and Baik, 1999) 캐비아 생산 가능시기까지 장기간의 사육이 요구된다는 점, 국내의 전통적인 식경험이 적은 생소한 식자재라는 점 등으로 인해 국내의 캐비아 시장은 그간 매우 초기 단계에 머물고 있었다. 그러나 국내외 양식산 캐비아의 수요가 증가하고 국내 철갑상어 양식이 점차 확대되기 시작하면서 국내 양식 철갑상어로부터 캐비아 생산에 관한 요구가 점차 증대되고 있다. 특히 국내 양식 철갑상어를 대상으로 인공산란 유도 성공에 관한 보고들(Park, 2012)과 함께 철갑상어로부터 성숙 난을 확보할 수 있는 여건들이 가시화되기 시작하면서 캐비아 생산에 대한 관심도가 지속적으로 증가하고 있다. 그러나 캐비아의 국내 생산이 이론적으로 가능해

졌고 일부 시범적 생산을 통한 생산 판매가 이루어지고 있음에도 불구하고, 본격적인 캐비아 생산 인프라가 구축되기 위해선 보다 합리적이고 경제적인 논리를 근거한 대상 철갑상어 종의 선택, 캐비아 생산을 위한 사육기간 예측, 캐비아 생산 시점 및 대상 어류의 관리 등에 관하여 많은 추가적인 정보들이 실측 연구를 통해서 발굴되어야만 한다.

캐비아 생산은 성숙 암컷으로부터 최종 성숙 단계의 난모세포를 원재료로 이용하기 때문에 암컷의 성 성숙 특성에 따라 그 품질과 생산 효율이 크게 영향을 받는다. 대상 암컷으로부터 생산 가능한 캐비아의 양과 질을 결정짓는 가장 중요한 요인인 암컷의 생식소성숙지수(gonadosomatic index; GSI)는 철갑상어 종, 사육환경, 어류의 연령, 영양상태, 시즌 등 다양한 생물학적 및 환경적 변동요인에 의해 큰 차이를 나타내며(Khajepour and Hosseini, 2010; Park, 2012), 때문에 고효율·고품질의 캐비아 생산을 위해서는 상기 언급한 요인들이 대상 철갑상어 암컷의 GSI에 미치는 영향 및 상관관계에 관한 연구 정보가 필수적으로 요구된다. 하지만 그 중요성에도 불구하고, 국내 양식산 철갑상어를 대상으로 캐비아 생산을 목적으로 한 해당 정보들은 전무한 실정이다.

따라서 본 연구는 캐비아 생산을 위한 종의 선택과 어종 관

리 기술에 기여할 수 있는 정보를 제공하고자 국내에서 처음으로 캐비아 생산이 가능한 두 종을 대상으로 캐비아 생산의 비교 평가 실험을 통해 두 종간 GSI, 어체중과 GSI, 연령과 GSI, 계절별 생산량, 두 종간의 실제 캐비아 회수율 등을 비교 평가하고 캐비아의 심미적 평가를 통한 기호도 시장조사를 위해 전문가 집단에게 외형, 풍미, 종합 선호도를 묻는 설문 조사를 통해 두 종의 캐비아의 한국 시장에서의 선호도 조사를 약식 수행하였다.



II. 재료 및 방법

2.1. 실험 어류

1) 시베리아 철갑상어 대상 암컷 집단

캐비아 생산에 사용된 시베리아 철갑상어는 2003년 이탈리아의 양식회사에서 디노빌영어조합법인으로 수정란으로 수입되어 부화 사육된 개체군으로 2007년, 2008년에 걸쳐 복부 미세 절개를 통해 복강 내 생식소 조직을 적출하여 암수를 구분한 후 암컷 철갑상어만을 약 2,000마리 격리 수용한 후 동일한 사육 시설(디노빌영어조합법인, 함양)에서 2011년부터 2017년까지 6년간 200마리를 도축하여 캐비아를 생산하며 데이터를 축적하였다(Fig. 31).

2) 러시아 철갑상어 조사 대상 암컷 집단

러시아 철갑상어의 경우 2002년 부화한 개체군으로 역시 이탈리아의 양식회사에서 입식하여 사육관리 해왔으며 2007년부터 2010년까지 3년간 정기적인 암수구분 작업으로 암컷 철갑상어만을 약 2,000마리 동일 양어동에 수용하여 2014년부터 2017년까지 약 100마리를 도축, 역시 도축 시 연도를 기준으로

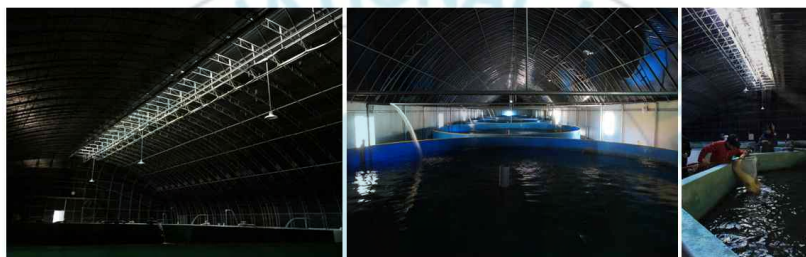


Fig. 31. Experimental facilities used for the comparative examination of GSIs from Siberian and Russian sturgeon females

대상 개체의 데이터를 축척하였다.

2.2. 난소 성숙도 조사

1) 사육 환경

생산되는 캐비아의 비교 평가를 위해 러시아 철갑상어와 시베리아 철갑상어는 순환여과 방식의 함양 디노빌 실내 양어장에서 최소 12년 이상 동일한 조건으로 사육해 왔다. 사육 수조는 지름 8.5미터의 원형 pp 수조에 깊이 1미터 내외 수심으로 사육수 1톤당 20킬로의 밀도를 유지하며 관리하였다. 사육수의 관리에 미생물 순환여과 방식으로 하루 10%의 새로운 원수가 공급되는데 유입수는 수온 14°C의 지하수를 사용하였으며 회전수는 일일 6회 - 7회를 유지하였다. 사육 동은 90% 가까이 빛을 차단하여 어두운 상태로 관리하였으며 계절에 따라 일정 시간에 점등하여 조도를 조절하였다. 사료는 두 종 동일하게 조피블락 양식에 사용되는 양어사료(밀레니엄, 우성사료)를 매일 어체중당 0.25%를 하루 1회 공급하였다.

2) 성숙도 조사용 암컷 선발 및 GSI 검사

캐비아 생산을 위한 친어 선발은 개체군 그룹의 수조에서 육안으로 복부가 다소 볼록하고 몸이 부드러운 개체를 관찰하여 포획한 후 복부 미세 절개를 통해 난의 샘플을 채취, 육안으

로 성숙도를 감별하여 상품 가능한 성숙 난을 가진 친어를 선별하여 축양시설로 이동 약 3-5일간 축양하였다. 축양된 친어는 캐비아 가공 시설로 옮겨져 개복 후 난소 조직을 적출하여 캐비아를 제조하였으며 캐비아를 생산한 모든 친어는 도축 처리되어 어육으로 사용되었다. 캐비아 생산에 사용되는 친어는 도축 전 캐비아 가공시설로 옮겨져 체중을 기록하고 생식소 적출 시 무게를 계량한 후 gonadosomatic index (GSI)를 산출하였으며 생식소 조직에서 분리하여 실제 캐비아로 생산된 난의 중량으로 실제 회수율도 개체별로 각각 계측하였다

3) 변동 요인의 설정

각각의 종의 캐비아 생산에 있어 영향을 미칠 수 있는 변수 요인들을 산정하였다. 생산에 사용된 개체별로 연령, 크기, 어체중, 생산 시점과 생식소 무게를 변수 요인으로 정하고 캐비아 작업 후 생산된 실제 캐비아의 양도 측정 기록하여 변수 요인에 포함시켰다.

2.3. 캐비아 제조 및 평가

1) 제조를 위한 일반적 과정 및 방법

먼저 캐비아 생산을 위해 선발된 친어는 원수 100%, 환수 일일 20회 이상 되는 14℃ 수온의 축양수조에서 5일의 축양기

간을 거친 후 캐비아 가공시설로 이송 되었다. 먼저 무게를 측정한 후 방혈을 위해 아가미 부분에 도축 장비를 이용 구멍을 뚫어 방혈시설에 거꾸로 매달아 방혈하였다. 방혈이 끝난 어체는 깨끗이 세척한 후 어체를 눕혀 타 내장 기관을 훼손하지 않고 생식소를 꺼낼 수 있도록 배를 가르고 내장기관과 붙어있는 생식소 조직의 막을 제거하고 전체 생식소를 들어낸 후 계량하였다. 이후 작은 매쉬의 스크린에 생식소를 놓고 난이 상하지 않도록 문질러 난과 조직을 분리해서 스크린 밑으로 난이 떨어져 내려가게 하였다. 분리된 난은 물을 사용하여 깨끗이 세척해 내고 난과 분리되지 않은 기타 잔여 조직은 핀셋 등을 이용 모두 제거해 낸 후 체를 이용해 물을 제거해 내고 무게를 잰 후 소금의 양을 계산해서 투입하고 고르게 섞었다. 소금에 절여진 캐비아는 다시 체를 이용하여 삼투압에 의해 빠져나온 물을 다시 모두 제거하고 난의 사이즈를 측정한 후 냉장 시설이 되어 있는 공간에서 필요한 양을 계량하여 통에 담아 밀봉한 후 -2℃에서 2℃ 사이로 유지되는 냉장시설에 보관하였다.

2) 난소로부터 캐비아 제조 수율 조사

캐비아 생산 시 난소조직을 다룰 때 캐비아 생산 작업 중 충격 등으로 깨지거나 훼손될 수 있으며 목표하는 품질 기준을

위해 사용되지 못하는 난을 제외하는 경우가 있고 생식소 조직과 난의 비율이 개체마다 차이가 있으므로 두 실험 어종 간 상기 변수의 영향으로 인한 실제 캐비아 생산 회수율을 비교 측정하기 위해 난소 조직 측정 외 제품화된 캐비아의 무게를 측정하였다.

3) 품질에 대한 심미도 평가

캐비아의 객관적 평가는 제조 시 미리 정해진 선별 기준인 크기, 색깔, 탄도, 염도 등을 측정하여 기준에 미달인 캐비아는 제외하였다. 제조된 캐비아를 이용, 심미적 평가를 통한 국내 캐비아 기호도 조사를 위해 국내에서 비교적 캐비아를 많이 접하고 사용하는 8인의 전문가 집단(요리전문가 5인; 이탈리아, 한식, 프렌치, 퓨전요리 전문, 요리 비평가 1인, 캐비아 유통전문가 2인)에게 blind tasting test를 시도하였다. 사용된 캐비아는 제조 5일 미만의 신선도가 높다고 평가받는 러시아와 시베리아 철갑상어 캐비아와 일반적으로 냉장 보존상태에서 숙성이 진행되어온 제조 4주 이상의 러시아와 시베리아 철갑상어 캐비아를 사용하여 외형, 풍미, 염분도, 탄도 그리고 종합적 선호도를 알아보는 설문 조사를 수행하였다. 맛이나 탄도, 크기 등은 1번에서 5번으로 나누어 번호가 높을수록 우수한 것으로 정하게 하

였고 염도는 1을 싱거움으로 5를 아주 짬으로 기준해서 정하도록 하였다. 이 후 네 가지 캐비아에 1위부터 4위까지 순위를 작성토록 하였고 이후 선정 이유와 시베리안 캐비아와 러시아 캐비아를 구분하는 지의 여부도 질문하였다.



III. 결 과

3.1. 계절에 따른 난소 성숙

1) 시베리아 철갑상어

캐비아 생산을 위한 시베리아 철갑상어의 선발 횟수를 월별로 조사한 결과 10월부터 다음해 5월까지 친어의 선발 빈도는 크게 다르지 않았으나 자연 산란기가 끝나는 6월부터 9월까지의 선발 빈도가 현저히 떨어지는 것을 알 수 있었다. 월별 획득한 생식소의 GSI는 자연산란시기가 종료되는 시점인 4월과 5월이 가장 높은 16% 인 것을 확인하였으며 6-7월을 제외한 시기에는 유의적 차이 없는 유사한 빈도를 보였다. 자연산란시기가 완전히 종료되는 시점인 6-7월은 두 달 동안 2-3마리의 선발 빈도를 보이며 5%미만의 GSI를 나타내 일정온도의 수온과 광도 제어에도 자연 산란시기와 연관을 가짐을 보여주었다(Fig. 32, 33).

2) 러시아 철갑상어

캐비아 생산을 위한 러시아 철갑상어의 선발 횟수를 월별로 조사한 결과 8월부터 다음해 1월까지 친어의 선발 빈도가 높은

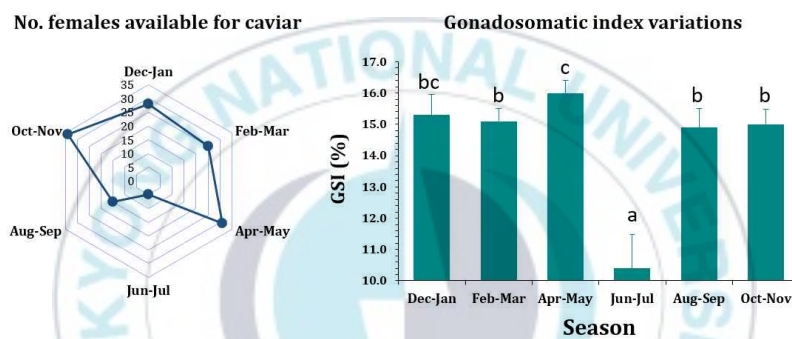


Fig. 32. Seasonal variations of gonadosomatic index (GSI) in Siberian sturgeon females for caviar production



Fig. 33. Representative photograph to show a typical Siberian sturgeon female with high GSI value (> over 15%)

것을 알 수 있었으며 그중 8-9월이 가장 높은 선발 빈도를 보였다. 시베리아 철갑상어와 동일한 경우로 러시아 철갑상어의 자연산란기가 완전히 종료되는 3월 이후 선발 횟수가 급격히 떨어지는 것을 볼 수 있었으며 이후 선발 빈도는 시베리아 철갑상어와 다소 다르게 매월 조금씩 상승한 후 8월에 급격히 올라가는 것을 알 수 있었다. 시베리아 철갑상어의 그것과 같이 월별 획득한 생식소의 GSI는 자연 산란시기가 완전히 종료되는 이후 시점인 4월과 5월에 가장 낮은 12% GSI를 보였으며 바로 직전인 2월,3월에 가장 높은 GSI 수치인 16.5%를 보였다. 역시 일정한 수온과 광도 제어에도 시베리아 철갑상어처럼 자연 산란시기와 밀접한 연관을 가짐을 보여주었다(Fig. 34, 35).

3.2. 어체중 및 연령에 따른 생식소숙도지수

1) 시베리아 철갑상어

먼저 연령을 무시한 어체중과 생식소숙도지수만을 비교한 결과 5킬로 미만의 친어그룹들에서는 유의적 차이 없이 약 14.5%의 생식소 지수를 보여주었다. 그러나 5킬로 이상의 그룹에서는 16.4%의 GSI를 나타내며 일정 체중 이상의 친어에서 훨씬 많은 생식소를 획득할 수 있는 것으로 확인되었다. 그리고 연령대와 GSI를 비교한 결과 13년생 이하의 어체에서 나타난

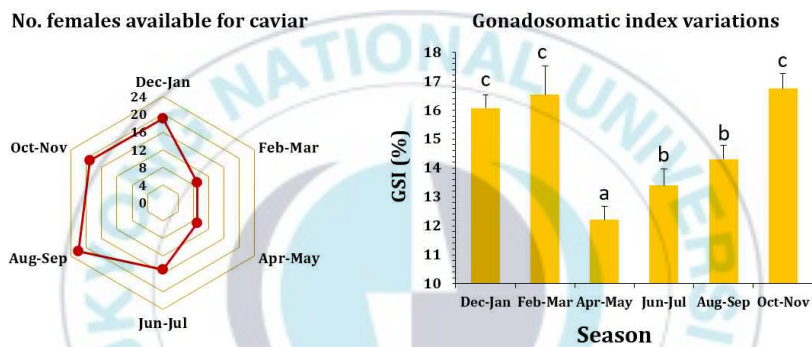


Fig. 34. Seasonal variations of gonadosomatic index (GSI) in Russian sturgeon females for caviar production



Fig. 35. Representative photograph to show a typical Russian sturgeon female with high GSI value ($>$ over 16%)

GSI 는 13.7%였으며 나머지 14년 이상의 그룹의 어체에서 나타난 생식소 속도 지수는 각각 15.8% 및 16.2%로 나타났다. 이는 일정 연령대 이상의 친어가 유의성 있는 높은 GSI를 가진다는 것을 보여주는 것이다. 한편 같은 연령대 안에서 어체중에 따른 생식소 속도 지수를 비교한 결과 12,3년생 그룹에서는 유의적 차이를 보이지 않았으나 14년, 15년생 그룹에서 체중에 따라 큰 생식소 속도 지수의 차이를 보였는데 어체중이 높은 개체에서 높은 GSI를 나타냈음을 알 수 있었다. 또한 3킬로 미만에서도 높은 GSI를 보였으나 그 정도 크기의 개체가 15년생 이상에서 나올 경우가 워낙 드물어 예외의 경우로 생각되어진다. 그리고 16년생 이상에서는 다시 큰 유의적 차이 없이 약 16 - 17% 생식소 속도 지수를 가지는데 체중과 생식소속도 지수는 크게 연관이 없으나 12년, 13년생 그룹(14%)에 비해 높은 GSI를 보이는 것을 관찰하였다. 이 두 요인간의 상관관계를 보기 위해 동일 크기 구간에서 연령그룹별 GSI를 조사해본 결과 동일 연령에서 크기가 큰 개체가 높은 GSI를 보이는 것으로 나타났으며 한편 5킬로 이상 그룹에서는 14년생 이상에서 두 그룹이 유의적 차이를 보이지는 않는 것으로 확인 되었다(Fig. 36, 37, 38).

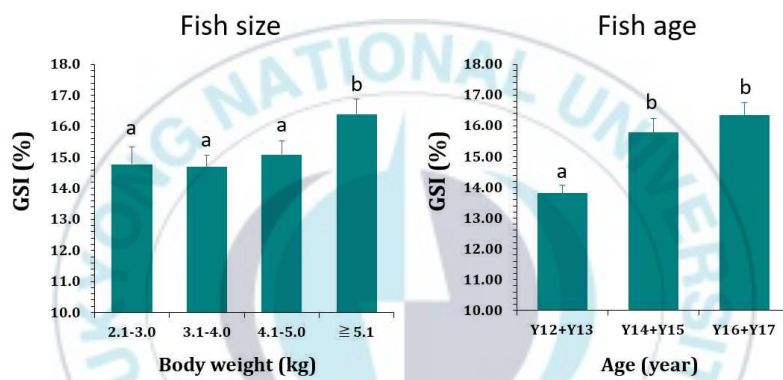


Fig. 36. Gonadosomatic index (GSI) scores in different size or age groups of Siberian sturgeon females

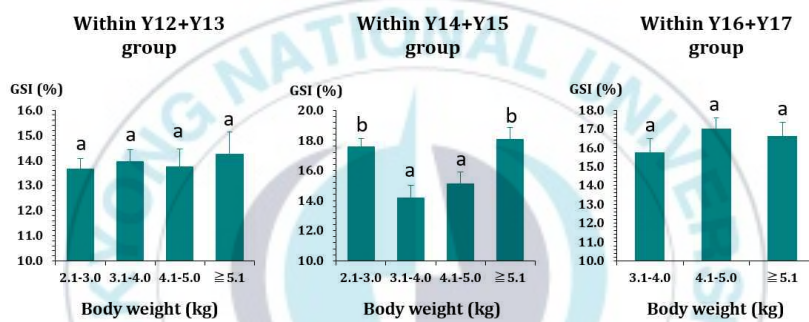


Fig. 37. Gonadosomatic index (GSI) scores of differently sized Siberian sturgeon females within a given age group

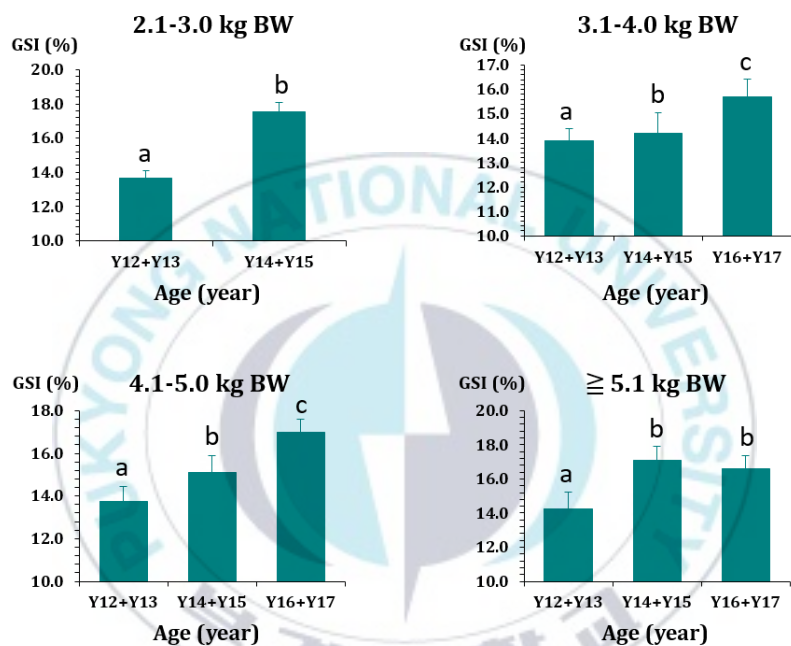


Fig. 38. Gonadosomatic index (GSI) scores of differently aged Siberian sturgeon females within a given size group

2) 러시아 철갑상어

러시아 철갑상어의 경우에는 먼저 연령을 무시한 어체중과 생식소 속도지수만을 비교한 결과 시베리아 철갑상어에 비해 전반적으로 높은 생식소 속도 지수를 나타냈다. 하지만 5킬로에서부터 14킬로까지에서 생식소 속도 지수는 큰 유의한 차이를 보이지 않는 15.3% 정도의 생식소 속도 지수를 보였으나 14킬로 이상에서는 다소 낮은 지수를 나타내었다. 또한 시베리아 철갑상어와 마찬가지로 연령별 GSI를 비교한 결과 13년생 개체(2015)에 비해 15년생(2017)에서 높은 생식소속도지수를 나타내는 것을 알 수 있었다. 이는 시베리아 철갑상어와 마찬가지로 일정 연령대 이상의 친어가 유의성 있게 높은 GSI를 가진다는 것을 보여주는 것이다. 한편 같은 연령대 안에서 어체중에 따른 생식소 속도 지수를 비교한 결과 12, 13년생 그룹에서 14킬로 이상 개체를 제외한 그룹에서 체중에 비례한 GSI의 증가를 보였는데 이는 성숙시기가 시베리아 철갑상어 비해 늦고 평균 어체중이 시베리안 보다 많이 나가는 중대형 종(Hochleithner and Gessner, 1999)으로서 14킬로로 성장한 개체가 아직 완전한 성숙을 이루지 못한 것을 보여준다고 보인다. 하지만 14년생의 그룹(2016년 생산)에서는 8킬로 미만 그룹이 가장 높은 GSI(17%)을 보였고 나머지는 15%를 보였다. 15년생 그룹(2017년

생산)에서는 8 - 11kg의 그룹 가장 큰 생식소 속도 지수의 차이를 보이면서 시베리아 철갑상어의 연령대에서의 크기 그룹에 보이는 지수와 차이가 있음을 알 수 있었다. 한편 같은 연령대 안에서 어체중에 따른 생식소 속도 지수를 비교한 결과 역시 8킬로 미만 그룹에서는 14년생이, 8에서 11킬로 그룹에서는 13년생과 15년생이, 그리고 11에서 14킬로 어체중 그룹에서는 13, 14, 15년생이 큰 유의적 차이 없이 비슷하게 생식소 속도지수를 가지는 것으로 나타났으며 14킬로 이상에서도 14년생(2016 생산), 15년생(2017 생산) 철갑상어에서 높은 GSI를 보여 시베리아 철갑상어에 비해 성숙기간이 더 길고 더 크게 자라는 중대형 종인 러시아 철갑상어가 체중과 연령과의 상관관계가 더 복잡함을 알 수 있었다(Fig. 39, 40, 41).

3.3. 성숙 난소로부터 캐비아 회수 수율

1) 중간 회수율 비교

두 철갑상어 종의 캐비아 생산 시 측정한 GSI 와 실제 캐비아 회수 수율을 비교한 결과 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어간 통계적인 유의차는 없는 것으로 나타났다(시베리안 캐비아 회수율 80%, 러시아 캐비아 회수율 85%) (Fig. 42).

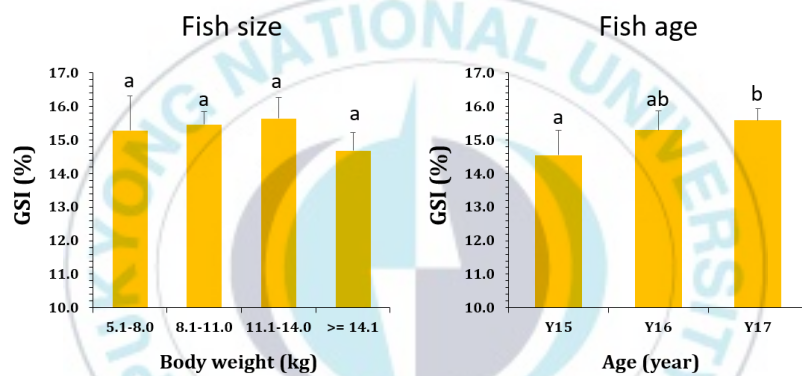


Fig. 39. Gonadosomatic index (GSI) scores in different size or age groups of Russian sturgeon females

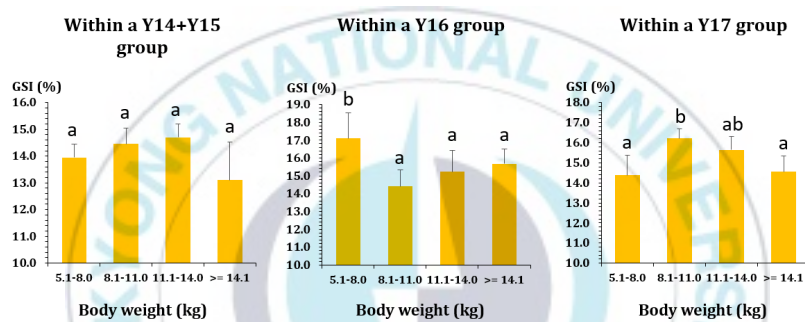


Fig. 40. Gonadosomatic index (GSI) scores of differently sized Russian sturgeon females within a given age group

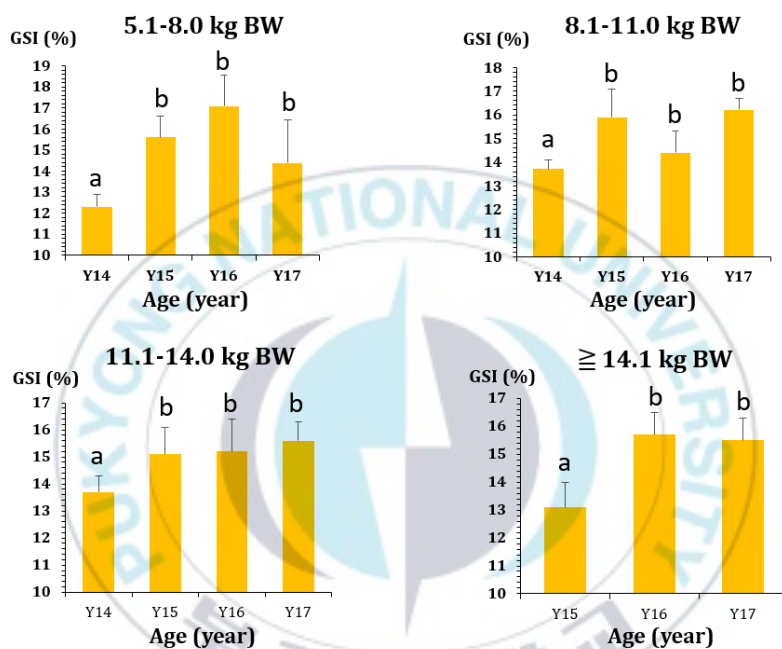


Fig. 41. Gonadosomatic index (GSI) scores of differently aged Russian sturgeon females within a given size group

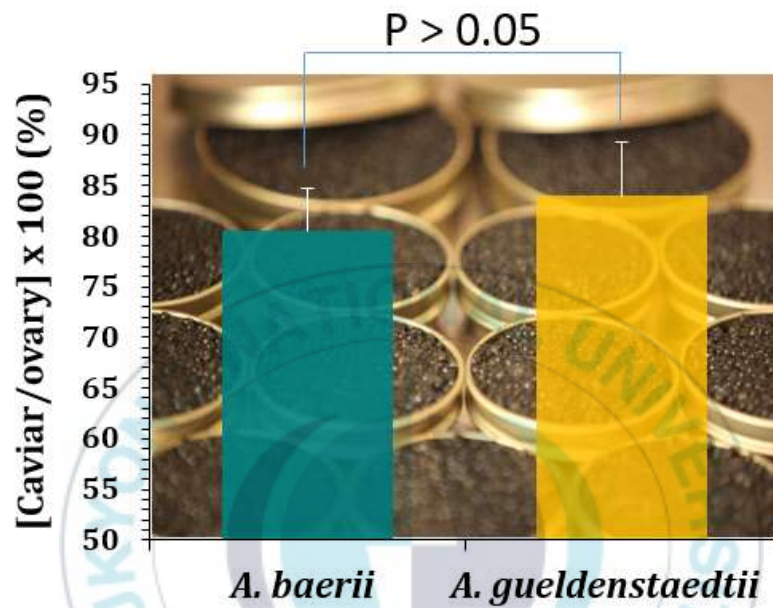


Fig. 42. Overall recovery efficiency (%) from ovary to caviar in Siberian and Russian sturgeons

2) 어종 별 GSI가 캐비아 회수율에 미치는 영향

그러나 각 종 내에서 GSI의 구간별 캐비아 회수 수율을 비교한 결과 GSI가 높은 개체의 생식소에서 높은 캐비아 회수율이 나오는 것을 알 수 있었으며 이는 두 종 모두에서 동일한 결과를 관찰할 수 있었다. 또한 어체중 구간별 캐비아 회수 수율도 조사하였는데 시베리아 철갑상어의 경우 상대적으로 크기가 큰 개체의 생식소에서 높은 캐비아 회수율을 보였으며 러시아 철갑상어의 경우 어체의 크기와 GSI 그리고 캐비아 회수율에 유의적 상관관계를 찾을 만큼의 차이를 보이지는 않았지만 8~11킬로 개체가 높은 GSI와 높은 회수율을 보이는 것을 관찰할 수 있었다(Fig. 43, 44).

3.4. 제조 캐비아의 심미 평가

다섯 항목의 심미 평가 결과 염도(saltiness)를 제외한 4가지에서 기하평균(geomean)을 측정했을 때 4주 숙성한 러시아 캐비아가 모양에서 가장 좋은 평가를 받았으며 질감도에서는 5일 미만의 시베리안 캐비아가 가장 좋은 평가를, 그리고 4주간 숙성된 러시아 캐비아가 두 번째 좋은 평가를 받았다. 그리고 풍미에서는 제조 후 5일 미만의 러시아 캐비아가 가장 좋은 평가

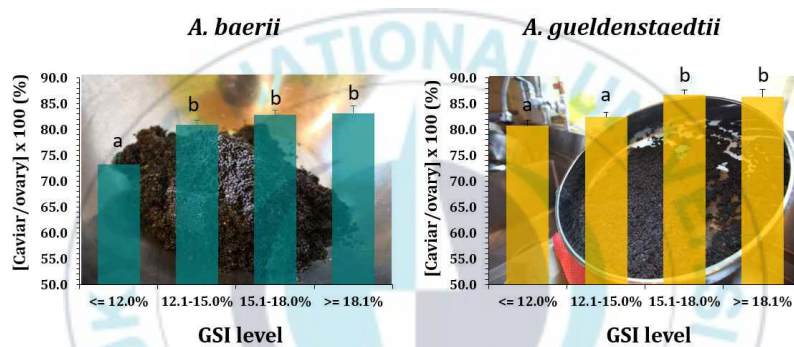


Fig. 43. Effects of GSI levels on the recovery efficiency (%) from ovary to caviar in Siberian and Russian sturgeons

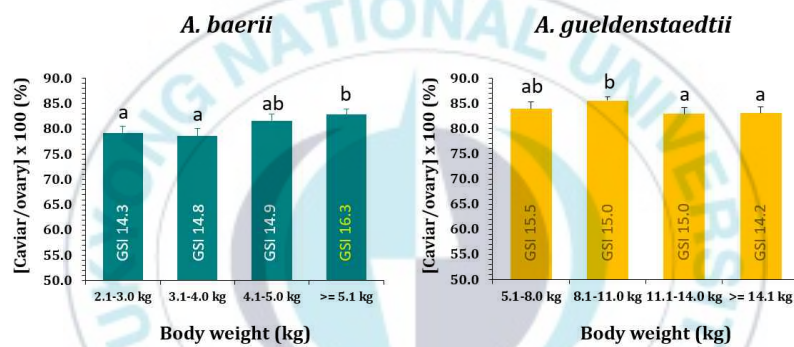


Fig. 44. Relationship of fish size (body weight) with the recovery efficiency (%) from ovary to caviar in Siberian and Russian sturgeons

를, 그리고 4주 숙성된 러시아 캐비아가 두 번째 좋은 평가를 받았으며 전체적 평가를 통한 선호도로 볼 때 4주 숙성 러시아 캐비아가 가장 좋은 평가를 받았으며 두 번째는 5일 미만 숙성의 시베리안 캐비아가 선택되었다. 또한 염도에서는 참가인원 모두가 4주 이상된 캐비아가 5일 미만 숙성의 캐비아 보다 짜다고 평가하였고 따라서 4주 숙성 러시아 캐비아가 가장 짜다고 느꼈으며 그다음으로 4주 숙성된 시베리안 캐비아를 선택하였다. 전체적으로 평가할 때 4주 숙성 러시아 캐비아가 가장 좋은 평가를 그리고 5일 미만 숙성의 시베리안 캐비아가 두 번째 좋은 평가를 받았다(Fig. 45).

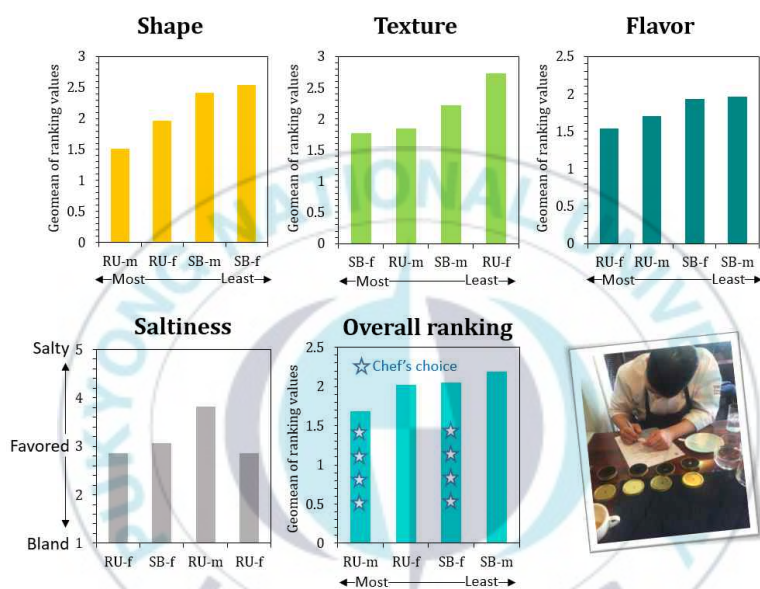


Fig. 45. Blind tasting of caviar prepared from Siberian sturgeon and Russian sturgeon

IV. 고 찰

캐비아의 생산에 있어 두 종의 성숙한 철갑상어의 연령과 생식소지수, 체중과 생식소지수, 그리고 이 둘의 연관 관계를 알아보았다. 또한 산란기가 다른 두 종의 계절별 생산 효율과 두 종의 성숙기간의 차이가 생산효율에 미치는 영향에 대해서도 비교 분석이 이루어 졌다. 성숙이 러시아 철갑상어에 비해 다소 빠른 시베리안 철갑상어는 부화 8년 만에 상업적으로 제품화가 가능한 캐비아가 생산되었고 러시아 철갑상어는 부화 12년 만에 생산을 할 수 있었다(Park, 2012). 두 종의 성숙정도가 성숙기간과 크기가 달라 다소 차이가 있었으나 시베리아 철갑상어의 경우 산란기가 최종 종료된 후 2달은 캐비아 생산이 거의 이루어지지 않음을 알 수 있었는데 이는 전 세계 거의 모든 캐비아 생산자가 1년 중 비산란기인 5-6개월 동안 생산 가능 친어를 확보하기 힘들어 6개월 정도의 공백 기간을 보이는 것에 비하면 짧은 기간임을 알 수 있다. 연중 일정 온도의 수온과 무기물 함량 및 기타 생화학조건이 일정한 사육수를 공급하고 빛의 주기를 조절하여 산란기가 아닌 시기에도 적은 수의 개체이지만 포란을 하도록 하는 시스템에서 사육한 이유라 생각된다. 그럼에도 불구하고 자연 환경적 요인의 영향으로 인하

여 6월과 7월 시베리아 철갑상어의 캐비아 생산이 어려운 것이 나타났으며 같은 이유로 자연 상태의 러시아 철갑상어의 비산란기인 3,4월에 양식시설에서의 캐비아 생산 역시 어려운 것이 밝혀졌다. 따라서 캐비아 생산을 목적으로 하는 경우 시장에 신선한 캐비아(fresh caviar)를 매달 공급하려면 이를 염두에 두고 생산이 힘든 기간 이전에 여유 있는 물량의 캐비아를 생산한다면 이에 대비할 수 있을 것이라 생각된다. 어체중과 생식소 지수의 상관관계에서 시베리아 철갑상어는 상대적으로 많은 체중(5kg 이상)이 나가는 개체가 높은 생식소 지수를 보였으며 연령과 생식소 지수와의 관계에서도 역시 높은 연령(13년, 14년생; 2016, 2017)의 개체가 높은 생식소지수를 보였다. 동일 연령대 내의 체중과 생식소 지수의 관계에서도 연령이 높은 개체의 경우 체중별로 다소 차이는 있지만 상대적으로 어린 개체그룹에 비해 생식소 지수가 높다는 것은 체중이 많이 나가는 어린 개체의 생식소 지수가 연령이 높은 체중이 적은 개체에 비해 낮은 생식소 지수를 가질 수 있다는 것이며 이는 철갑상어의 사육 시 사육기간이 캐비아 생산에 중요한 의미 가진다는 것을 보여준다.

러시아 철갑상어의 경우도 연령이 높을수록 GSI가 높게 나타났다으나 어체중과 GSI의 상관관계를 나타내는 표에서 유독 14

킬로 이상의 개체군이 낮은 생식소 지수를 나타내었다. 이는 역시 철갑상어 종간 특성에 기인한다고 생각한다. 러시아 철갑상어는 시베리아 철갑상어에 비해 성 성숙이 오래 걸리고 체중 또한 양식장 환경에서 시베리아 철갑상어의 두 배 이상 나가는 것으로 알려져 있다. 따라서 연령이 아닌 체중만을 가지고 판단했을 때 체중이 많이 나가는 개체일수록 성숙에 필요한 시간이 더 소요되며 따라서 14킬로 이상의 개체들은 몇 년 더 생식소 성숙 주기를 반복하면 GSI는 올라갈 수 있다고 생각한다. 분석 자료에서도 이러한 가설이 설득력이 있음을 보여 주는데 14년생 러시아 철갑상어(2016)에서 8킬로 미만의 개체보다 11킬로 미만의 개체가 현저히 낮은 GSI를 보이다가 15년생(2017)에서 역전됨을 보이는 것은 연령이 올라가면서 보다 큰 개체가 늦은 성숙으로 인해 생식소 조직의 순환 횟수가 연령이 높아지면서 더 큰 생식소 조직을 가진 채 성숙하여 이루어진 것이라 생각되어진다. 따라서 캐비아 생산을 위한 종을 선택할 때 처해진 환경에 맞는 경제성 있는 종을 선택하는데 참고하는 것이 좋다고 보며 Figure들에서 보여주는 것처럼 캐비아 생산의 효율을 높이려면 두 종 모두 생식소 성숙 후 캐비아 포란이 된 뒤 몇 회 더 사육관리를 한 뒤 도축한다면 더 높은 생식소 속도 지수와 캐비아 회수율을 얻을 수 있을 것이라 생각된다.

심미적 평가에서 결론적으로 가장 좋은 평가와 선택을 받았던 것은 러시아 캐비아(4주전 생산)였다. 그리고 다음 선택은 시베리안 캐비아(5일전 생산)이었는데 적은 표본에도 이러한 선택은 유의미한 결과를 보여주는 것이라 생각된다. 종묘생산이나 캐비아 생산을 하는데 있어 두 종의 난의 특성을 비교해 볼 때, 러시아 철갑상어의 난막이 시베리아 철갑상어의 그것에 비해 훨씬 강하고 많은 fatty acid를 함유하고 있음을 알 수 있다 (unpublished data). 따라서 소금을 처리 하였을 때 삼투압에 훨씬 잘 견뎌낼 것이며 이것이 난의 질감과 모양을 유지하는 데 시베리안 캐비아 보다 유리할 것이라 생각된다. 또한 4주 정도의 숙성기를 거치면서 소금기가 전반적으로 스며들어 훨씬 풍부한 맛을 느끼게 해줄 것이며 그러면서도 난의 탄도를 유지가 가능하여 더 많은 선택을 받을 수 있었던 것이라고 보여진다. 반대로 시베리아 캐비아는 난막의 강도가 상대적으로 약하며 지질이 적은 세포막을 가지고 있어(Gong et al., 2013) 소금 처리한 초기 난막의 탄도가 유지 되었을 때 좋은 풍미를 유지할 수 있었던 것이라 보이며 시간이 가면 삼투압에 의해 난막이 물러져 상대적으로 러시아 캐비아에 비해 낮은 평가를 받은 것이라 생각된다. 물론 캐비아는 개개인의 기호도가 있어 절대적이지는 않지만 만약 대량 생산이 이루어지고 시장에서 경쟁력

을 갖추려면 각 캐비아의 특성에 맞추어 숙성시기를 맞추고 보관기간을 특정하여 생산한다면 훨씬 경쟁력 있는 고품질의 캐비아를 생산하는데 하나의 요인으로 작용할 수 있으리라고 생각한다.

국내 양식산 철갑상어로부터의 캐비아는 10년 전부터 소량이지만 생산이 되어 왔다(Almas caviar Inc., 충주). 그러나 시장 경쟁력을 갖춘 전통적인 캐비아 생산 방식의 캐비아(fresh caviar)의 생산은 2012년부터 시작 되었으며 그것은 시베리아 철갑상어로부터 생산한 시베리안 캐비아 단일 품목으로서 이마저도 일년 생산량이 10킬로에도 미치지 못할 정도로 미미한 것이었다. 또한 국내 철갑상어 양식업자중 10년 이상 철갑상어를 사육한 일부 업계 종사자들은 부정기적으로 산란기에 무작위 선발하여 발견되는 포란한 철갑상어로부터 캐비아를 만드는 시도를 하고 시장에 소개를 하기도 하였으나 지속적인 공급으로 시장을 형성하고 수요를 창출하기에는 철갑상어 생활사에 대한 이해나 캐비아에 대한 상태였다. 더욱이 러시아산 철갑상어 캐비아(오세트라)는 현재 자체 종묘를 위한 친어가 최근 3년 사이에 이루어져 그 자료는 더욱 빈약하다. 따라서 본 실험은 최초의 국내 양식산 캐비아의 생산효율에 대한 분석이자 국내 양식산 러시아 철갑상어와 시베리아 철갑상어 두 종간의 생산효율과

사육 및 회수 시점을 평가하는 최초의 연구 결과로서 차후 국내 철갑상어 양식의 방향에 있어 캐비아 생산에 중점을 둘 수 있도록 기본적 정보와 보다 경쟁력 있는 양식 사업이 될 수 있는 기반을 닦는데 기초적 자료로 활용될 수 있다고 보인다.



국문요약

90년대 후반과 2000년 초 한국에 도입된 철갑상어 중 새로운 수산 양식자원으로 부상한 두 종의 철갑상어(시베리아 철갑상어 *Acipenser baerii* 와 러시아 철갑상어 *Acipenser gueldenstaedtii*)의 초기 발생 과 성 성숙 특성 및 캐비아 생산에 관한 연구를 수행하였다. 본 실험은 함양에 위치한 Dinoville Aquafarm Inc.의 14년생 시베리아 철갑상어와 15년생 러시아 철갑상어의 개체군으로 수행되었으며 친어 선발을 위한 배우체 평가는 복부 미세 절개 기법을 사용하여 그 특성 (예 : 크기, 외형, 색 및 성숙도 등)을 평가하였다.

LHRH-a 종묘 유도 호르몬의 근육 주사를 통하여 배란 및 방정을 유도하였으며 인공 수정은 철갑상어 종묘를 위해 일부 수정된 습식법에 의해 이루어졌다. 이후 발생 구간별로 수정, 발생 부화 및 초기 발달과 같은 초기 배아 단계 특성을 조사하였다. 각 종의 특성에 맞는 부화기를 통해 배양 및 발생조건을 최적화 하였다. 부화 후, 두 종간 생존율, 성장율, 섭식 행태, 유영 능력, 유영 양상 및 광 특이성등을 포함한 초기 개체 발생 양상을 비교 관찰하였다.

두 종의 인공 종묘 생산 시 산란 시기의 생존율에 큰 영향

을 주는 점액질을 수정란으로부터 제거하는 것은 러시아 철갑상어의 경우 강한 점착성으로 인해 시베리아 철갑상어의 수정란에 비해 상당한 시간이 소요되었다. 러시아 철갑상어의 경우 시베리아 철갑상어에 비해 난황자의 초기 유영 능력과 생존율이 떨어져 대규모의 종묘 생산을 시도할 경우 기술적 방법의 개선이 요구되는 특정 발생 및 양육 기간이 있음이 확인되었다.

캐비아 생산에 있어 주요한 요인인 gonadosomatic index (GSI)의 비교 평가를 통해 시베리아 철갑상어와 러시아 철갑상어의 캐비아 생산 특성을 조사하였다. 동일한 양식 조건하(디노빌영어조합법인)에서 난소의 성숙과 GSI에 영향을 주는 기타 변수(계절, 어류의 나이 및 체중)간의 상호 인과 관계를 6년(시베리아 철갑상어) 및 4년(러시아 철갑상어)에 걸쳐 관찰 분석하였다. 두 종 사이의 GSI에는 유의한 차이가 없음을 확인하였다. 그러나 러시아 철갑상어의 절대 캐비아 생산량은 각 개체에 대한 시베리아 철갑상어 생산량의 2배 이상이었다. 두 종의 GSI 수치는 계절과 매우 밀접한 관련이 있었는데, GSI의 계절적 변화는 종 특이적이었다. 전체적으로 두 종에서 모두 개체의 연령이 체중보다 GSI와 캐비아 수확량에 영향을 미치는 것을 확인하였다. 또한 생식소 조직으로부터 회수되는 실질적 캐비아 생산량은 러시아 철갑상어가 시베리아 철갑상어보다 높은 회

수율(약 4 %)을 유지하는 것으로 확인되었다. 러시아 철갑상어의 캐비아 가격이 국내외 캐비아 시장에서 시베리아 철갑상어 캐비아의 가격보다 약 30 % 정도 높다는 점을 감안할 때 캐비아 생산의 경제적 효율에 있어 그 격차는 더욱 유의미한 것이라 보여진다. 생산된 4가지 종류의 캐비아(시베리아 철갑상어 캐비아 2종, 러시아 철갑상어 캐비아 2종)를 전문가 집단에게 외형, 풍미 및 종합 선호도등을 물어 평가하는 설문조사를 실시하였다. 이를 통해 얻은 정보는 캐비아 양식에 대한 한국 시장 접근에 유용한 기초 자료가 될 수 있으리라 보여진다.

본 연구의 자료는 두 종의 국내 대표 양식 철갑상어 종에 대한 보다 폭넓은 생물학적 이해와 산업화를 위한 기초 정보를 제공할 뿐만 아니라 국내외 높은 시장 경쟁력을 가진 캐비아의 선택적 생산 및 효율성을 향상시키는 유용한 지침을 제공할 수 있다는 점에서 그 의의가 있다고 하겠다.

감사의 글

한없이 부족한 못난 제자에게 만학의 기회를 열어 주시고 언제나 아낌없는 격려와 조언으로 끝까지 용기를 내어 학위를 마무리할 수 있도록 이끌어주신 저의 지도 교수님이신 김동수 박사님께 말이나 글로 다 표현할 수는 없지만 감히 머리 숙여 감사드리다고 말씀드리고 싶습니다. 그리고 때로는 친구처럼, 때로는 친형제처럼 늘 곁을 지켜주며 제 학위 취득에 결정적인 역할을 해주신 존경하는 후배 남윤권 교수님께 무한한 감사를 드립니다. 또한 바쁘신 와중에도 늘 관심어린 격려와 지원을 아끼지 않으시는 실험실 큰형님 방인철 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 늘 관심과 애정으로 자꾸 나이 먹어가는 후배의 만학의 길에 언제나 촌철살인의 조언으로 밝은 기운을 보태주신 노충환 박사님께 깊이 감사드립니다. 애정 어린 관심과 세심한 조언을 통해 부족한 제 학위 논문을 다듬어주신 박정환 교수님께도 고개 숙여 감사드립니다.

매 실험 순간마다 자신의 일처럼 제게 아낌없는 지원을 해주신 이상윤 박사를 비롯한 유전자원공학 연구실의 모든 후배님들에게 이 장을 빌어 고마움을 전합니다. 특히 부족한 자신의 연구 시간을 쪼개가며 본 연구를 위해 처음부터 끝까지 동고동

락해주신 김은정 후배님에게 무한한 감사함과 동시에 미안한 마음을 금할 수 없습니다. 학위를 시작할 때부터 멀리서라도 한결같이 응원해주시고 격려해주시는 육종학 실험실 형님들, 김종현, 최경철 박사님과 박효민, 최윤희 선배님, 동기 정창화 박사께 감사드립니다. 실험과 논문 준비로 바쁜 농장 업무를 다하지 못할 때마다 그 빈자리를 묵묵히 그리고 훌륭히 채워준 사랑하는 동생 박재홍과 곁에서 늘 힘이 되어주는 천수현, 그리고 농장의 최종병기 홍성환등 우리 디노빌 농장 가족 모두에게 진심으로 감사드립니다. 그리고 캐비아 설문평가에 기꺼이 도움을 주신 여러 요리 연구가님들과 관계자 분들에게도 감사사를 전합니다. 무엇보다 20년 가까이 한결같이 제 옆자리를 지켜준 가장 믿고 의지하는 사랑하는 아내 정소라와 아프지 않고 건강하고 착하게 잘 자라주는 예지, 민서, 민호에게 사랑과 고마움을 전합니다. 저의 부족함에도 불구하고, 항상 자상히 제가 가는 길을 응원해 주시고 격려해주시는 장모님, 서매자 여사님과 사랑하는 처제, 정소이, 정소연, 든든한 처남 정용득 가족에게도 고마움을 전합니다. 끝으로 모자란 자식을 위해 늘 기도하시고 모든 것을 희생하시는 가장 존경하고 사랑하는 어머니 김창순 여사님, 그리고 아버지 박영진 교장선생님께 엎드려 감사드리고 하늘에 계신 장인어른 고 정선환 교수님께 사위의 학위 취득을 전해 올립니다.

참고 문헌(References)

- Akbarzadeh A, Farahmand H, Mahjoubi F, Nematollahi MA, Leskinen P, Rytkönen K and Nikinmaa M. 2011. The transcription of l-gulonogamma-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.
- Bemis WE, Findeis EK and Grande L. 1997. An overview of Acipenseriformes. Environ Biol Fish 48, 25-71.
- Billard R and Lecointre G. 2001. Biology and conservation of sturgeon and paddlefish. Rev Fish Biol Fish 10, 355-392.
- Birstein VJ, Hanner R and DeSalle R. 1997. Phylogeny of the Acipenseriformes: cytogenetic and molecular approaches. Environ Biol Fishes 48, 127-155.
- Blacklidge KH and Bidwell CA. 1993. Three ploidy levels indicated by genome quantification in Acipenseriformes of North America. J Hered 84, 427-430.
- Boeckmann S and Nielsen NR. 1999. Caviar - The definitive guide. John Wiley and Sons Inc. New York. USA. pp. 160.

- Bolker JA. 1993. The mechanism of gastrulation in the white sturgeon. J Exp Zool 266, 132-145.
- Bolker JA. 2004. Embryology. In: Sturgeons and Paddlefish of North America. LeBreton GTO et al., eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 134-146.
- 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.
- Colombo RE, Garvey JE and Wills PS. 2007. A guide to the embryonic development of the shovelnose sturgeon (*Scaphirhynchus platyrhynchus*), reared at a constant temperature. J Appl Ichtyol 23, 402-410.
- Conte FS, Doroshov SI, Lutes PB and Strange EM. 1988. Hatchery manual for the white sturgeon. Publ. 3322. University of California Press, Oakland, pp. 104.
- Cooper MS and Virta VC. 2007. Evolution of gastrulation in the ray-finned (Actinopterygian) fishes. Mol Dev Evol 308B,

591-608.

- Dettlaff TA and Vassetzky SG. 1991. Animal species for developmental studies: Vol. 2, Vertebrates. Plenum Publishing, New York, USA. pp. 453.
- Dettlaff TA, Ginsburg AS and Schmalhausen OI. 1993. Sturgeon fishes: developmental biology and aquaculture. Springer-Verlag, New York, USA. pp. 300.
- Drummond IA, Majumdar A, Hentschel H, Elger M, Solnica-Krezel L, Schier AF, Neuhauss SC, Stemple DL, Zwartkruis F, Rangini Z, Driever W and Fishman MC. 1998. Early development of the zebrafish pronephros and analysis of mutations affecting pronephric function. *Development* 125, 4655-4667.
- Gisbert E and Ruban GI. 2003. Ontogenic behavior of Siberian sturgeon, *Acipenser baerii*: A synthesis between laboratory tests and field data. *Environ Biol Fish* 67, 311-319.
- Gisbert E and Williot P. 1997. Larval behavior 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.
- Gisbert E and Williot P. 2002. Advances in the larval rearing

- of Siberian sturgeon. J Fish Biol 60, 1072-1092.
- Gisbert E, Sarasquete MC, Williot P and Castello-Orvay F. 1999. Histochemistry of the development of the digestive system of Siberian sturgeon during early ontogeny. J Fish Biol 55, 596-616.
- Gisbert E, Williot P and Castello-Orvay F. 2000. Influence of egg size on growth and survival of early stages of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) under small scale hatchery conditions. Aquaculture 183, 83-94.
- Gisbert E. 1999. Early development and allometric growth patterns in Siberian sturgeon and their ecological significance. J Fish Biol 54, 852-862.
- Gong Y, Huang Y, Gao L, Lu J, Hu Y, Xia L, Huang H. 2013. Nutritional Composition of Caviar from Three Commercially Farmed Sturgeon Species in China. J Food Nutri Res 5, 108-112.
- Hochleithner M and Gessner J. 1999. The sturgeons and paddlefishes (Acipenseriformes) of the World - biology and aquaculture. AquaTech Publications. Kitzbuehel, Austria. pp. 166.
- Ichimura K, Bubenshchikova E, Powell R, Fukuyo Y, Nakamura

- T, Tran U, Oda S, Tanaka M, Wessely O, Kurihara H, Sakai T and Obara T. 2012. A comparative analysis of glomerulus development in the pronephros of medaka and zebrafish. PLoS One 7(9), e45286.
- Karpinsky MG. 2010. Review: The Caspian Sea benthos: Unique fauna and community formed under strong grazing pressure. Mar Pollut Bull 61, 156-161.
- Khajepour F and Hosseini SA. 2010. Mineral status of juvenile beluga (*Huso huso*) fed citric acid supplemented diets. World Appl Sci J 11, 682-686.
- Kim DS, Nam YK, Noh JK, Park CH and Chapman FA. 2005. Karyotype of North American shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* with the highest chromosome number in the Acipenseriformes. Ichthyol Res 52, 94-97.
- Kim KY, Lee SY, Song HY, Park CH and Nam YK. 2009. Complete Mitogenome of the Russian Sturgeon *Acipenser gueldenstaedtii* (Acipenseriformes; Acipenseridae). Fish Aquat Sci 12, 35-43.
- Kirschbaum F and Williot P. 2011. Ontogeny of the European sturgeon, *Acipenser sturio*. In: Biology and Conservation of the European Sturgeon *Acipenser sturio* L. 1758.

- Williot P et al., eds. Springer, Berlin Heidelberg, Germany., 65-80.
- Kunz YW, Luer CA and Kapoor BG. 2009. Development of non-teleost fishes. Science Publishers, New Hampshire, USA. pp. 301.
- LeBreton GTO, Beamish FWH and McKinley RS. 2010. Sturgeons and Paddlefish of North America. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, pp. 323.
- Ostos-Carrido MV, Llorente JI, Camacho S, Garcia-Gallergo M, Sanz A, Domezain Z and Carmona R. 2009. Histological, histochemical and ultrastructural changes in the digestive tract of sturgeon *Acipenser naccarii* during early ontogeny. In: Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons. Carmona R et al., eds. Springer, Dordrecht, The Netherlands., 121-136.
- Park CH and Chapman FA. 2005. An extender solution for the short-term storage of sturgeon semen. North Am J Aquacult 67, 52-57.
- 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.
- Park CH. 2012. Sexual maturation and vitellogenin expression of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) farmed in Korea. MSc. Thesis, Pukyong National University, Busan, Korea.
- Pikitch EK, Doukakis P, Lauck L, Chakrabarty P and Erickson DL. 2005. Status, trends and management of sturgeon and paddlefish fisheries. Fish Fish 6, 233-265.
- Ramade F. 1999. The world of caviar. Chartwell Books Inc. New Jersey, USA. pp, 143.
- Ruban GI. 2005. The Siberian sturgeon *Acipenser baerii* Brandt – species structure and ecology. World sturgeon conservation society. Norderstedt, Germany. pp. 203.
- Saffron I. 2002. Caviar. Broadway Books, New York, USA. pp. 270.
- Seong KB and Baik KK. 1999. The early growth of Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* in the internal transplantation.

- Bull Natl Fish Res Dev Inst Korea 57, 87-93.
- Shook DR and Keller R. 2008. Epithelial type, ingression, blastopore architecture and the evolution of chordate mesoderm morphogenesis. J Exp Zool B Mol Dev Evol 310, 85-110.
- Van Eenennaam JP, Doroshov SI, Moberg GP, Watson JG, Moore DS and Linares J. 1996. Reproductive conditions of the Atlantic sturgeon (*Acipenser oxyrinchus*) in the Hudson River. Estuaries 19, 769-777.
- Vasil'ev VP. 2009. Mechanisms of polyploid evolution in fish: polyploidy in sturgeons. In: Biology, Conservation and Sustainable Development of Sturgeons. Carmona R et al., eds. Springer, Dordrecht, The Netherlands., 97-117.
- Wang YL, Binkowski FP and Doroshov SI. 1985. Effects of temperature on early development of white and lake sturgeon, *Acipenser transmontanus* and *A. fulvescens*. Environ Biol Fishes 14, 43-50.
- Webb MAH and Doroshov SI. 2011. Importance of environmental endocrinology in fisheries management and aquaculture of sturgeons. Gen Comp Endocrinol 170, 313-321.

- Williot P, Rochard E, Desse-Berset N, Kirschbaum F and Gessner J. 2011. Biology and conservation of the European sturgeon *Acipenser sturio* L. 1978. Springer, New York, USA. pp 668.
- Zeiske E, Kasumyan A, Bartsch P and Hansen A. 2003. Early development of the olfactory organ in sturgeons of the genus *Acipenser*: a comparative and electron microscopic study. 206, 357-372.

