

염색체 조작에 의한 어류의 생물공학

박 인 석

한국해양연구소 해양생물공학연구실

Chromosome Manipulation in Fish Biotechnology

In-Seok Park

Marine Biotechnology Research Group,
KORDI, Ansan P. O. Box 29, Seoul 425-600, Korea

The manipulation of chromosome becomes feasible during the nuclear cycles of cell division and basically comprises the addition or subtraction of a complete haploid or diploid set. Two basic fields of practical importance involve the processes of parthenogenesis and induced polyploidy, respectively. Polyploidy including triploid and tetraploid is produced using physical or chemical treatments for disrupting metaphase. Gynogenesis and androgenesis is induced with sperm or eggs inactivated by radiation. Triploids are of interest because they are expected to be sterile, to grow faster than diploids as they reach the age of sexual maturity, and to live longer than diploids because of the biological costs associated with reproduction. More recently, triploids have been produced in a wide variety of fish and promises soon to be a routine tool in fish breeding. Tetraploids are not so far confirmed in fish but remains a desirable goal because of its potential for further production of triploids or for line breeding of otherwise difficult hybrids. Gynogenetic diploids have been used for cytogenetic studies of meiotic phenomena and gene mapping. Mitotic gynogenetic diploids and androgenetic diploids are completely homozygous and similar to inbred or isogenic lines. Chromosome engineering has immediate applicability in fish farming and great promise for the further domestication of fish.

Key words : 배수체 (polyploid), 3배체 (triploid), 4배체 (tetraploid), 자성발생성 2배체 (gynogenetic diploid), 용성발생성 2배체 (androgenetic diploid)

서 론

생물공학(biotechnology)은 총괄적 의미에서 동식물 및 미생물 세포를 포함한 생체시스템, 나아가 생물 그 자체를 이용 인류 복지 향상을 꾀하는 기술로서 미생물학, 생화학, 분자생물학, 세포생물학 및 유전학 등 생명과학의 지식을 도구로 하여 의약품공업, 식품공업, 화학공업, 에너지 및 자원 개발과 환경분야 등에서 그 응용 범위가 매우 넓다.

수산생물에서의 생물공학에 대한 국제적 노력은 1917년 이래 FAO가 수산양식에 생물공학적 기법 도입을 시도한바 있으며 1988년에는 해양 분자생물학 학회가 개최된바 있다. 일본에서는 1989년에 제1회 해양생물공학 국제학회가 개최된바 있으며 우리나라인 경우 1992년 10월에 '환경보전과 자연자원의 개발'이라는 논제 하에 제1회 국제 세미나가 개최된바 있으며 1993년 7월에 부산수산대학교 해양산업개발연구소 주관하에 '생명공학 기법을 이용한 어류의 유전육종'이라는 논제로 세미나가

제주대학교 해양연구소에서 개최한 제6회 해양과학심포지움(1993. 12. 10.)에 발표된 내용임.

개척된바 있다(해양산업개발연구소, 1993; FAO, 1972; Gjedrem, 1988; Park *et al.*, 1992).

수산생물을 대상으로한 생물공학은 현재 단위발생과 배수체 유도 그리고 잡종 및 잡종3배체로 이루어지는 염색체공학(chromosome engineering), 유용 목적유전자의 이식 및 발현 그리고 유전생화학적 연구를 이루는 유전자공학(gene engineering) 그리고 세포 수준에서의 조작을 이루는 세포공학(cell engineering)으로 대별 가능하다. 이들 중 염색체공학은 국내는 물론 국제적으로 그 일천한 연구역사에도 불구하고 광범위한 어종에서 심도있게 연구되어 어류 3배체인 경우 43종(19과 7목)에 걸쳐 3배체(autotriploid)가 유도된바 있으며 42종(6과 7목)에 걸쳐 잡종3배체(allo-triploid)가 유도된바 있다(Benfey, 1989; Thor-gaard, 1983).

본 논문은 염색체공학 기법인 단위발생(parthenogenesis), 배수체(polyploid), 잡종(hybrid) 및 잡종3배체(allo-triploid)의 역사적 연구배경, 유도기작, 현황 및 염색체공학 기법에 의해 유도된 이들 유도체들의 양식산업에서의 산업성 등을 논하였으며 아울러 이러한 염색체공학에 의한 양식산업에서의 전망 및 방향성에 대하여 논하였다.

본 론

어류 염색체조작에 관한 초기의 연구는 조사(irradiation) 및 화학물질 처리로 불활성된 정자로의 자성발생을 유도하는 것이었다. 자성발생성 반수체(gynogenetic haploid)를 대상으로 수정후에 온도 및 압력처리(hydrostatic pressure)로 제2극체(2nd polar body) 방출억제를 시켜 자성발생성 2배체(gynogenetic diploid)를 유도하며 3배체(triploid)는 정상 수정란에 이러한 제2극체 방출억제로 유도 될수있다. 근간에는 제1난할(1st cleavage)기에 고온, 고압을 처리하여 제1체세포분열을 억제시켜 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체(mitotic gynogenetic diploid)와 4배체(tetraploid)를 유도 하고있다. 3배체는 불임으로서 성적 성숙기에 2배체에 비해 성장이 좋고 산란 후 사망하는 어종에서는 수명이 연장되며 4배체는 정상 2배체와의 단순교배로 손쉽게 3배체를 생산하기 위해 유도 되고있다. 난자 핵의 불활성으로

유도되는 배수체는 용성발생성 2배체(androge-tic diploid)와 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체(mitotic gynogenetic diploid)가 있을수 있다.

3배체 (triploid)

유도기작 난자형성이나 정자형성시 계속적으로 일어나는 2회의 분열에 있어 염색질의 감소 즉 감수분열이 일어나는 점이 특색이다. 즉 염색체 수가 체세포 염색체 수의 반으로 되는 과정으로 이렇게 반수체인 정자와 난자가 수정을 하면 정상적인 2배체가 되므로 염색체수는 언제나 종에 따라 일정하게 될수있다. 그런데 정자형성과 난자형성을 비교 시 난자형성에서는 거의 핵만으로 된 작은 세포 즉 극체(polar body)를 새개나 만듬으로서 영양물질이 하나의 난자에 집결 하도록 하는 반면, 정자형성에서는 1개의 정원세포에서 4개의 정자가 형성된다.

포유동물에서는 여포 속에서 제1차 성숙분열을 마치고 제2차 감수분열 중기가 되면, 그 이상의 진행은 중지되고 배란이 일어난다. 그러면 비로소 정자가 침입하게 되는데 침입된 정자의 전핵은 난자 속에 머물러 있고 난모세포가 제2 감수분열을 완수하여 제2 극체를 방출한 후에 비로소 난자의 전핵(pronucleus)과 정자의 전핵이 합쳐져 수정핵이 된다(Fig. 1 과 Fig. 2).

어류 수정기작도 이와 유사하여 어류 3배체 유도

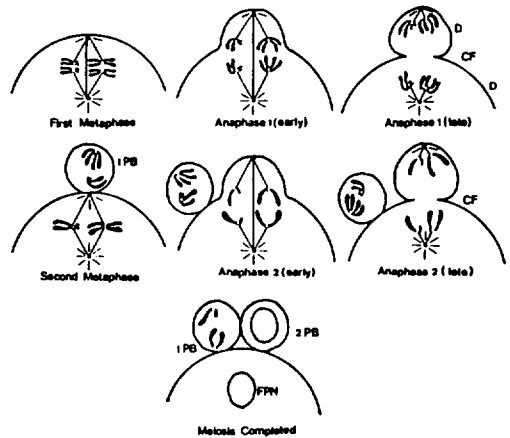


Fig. 1. First and 2nd polar body formation in fish.

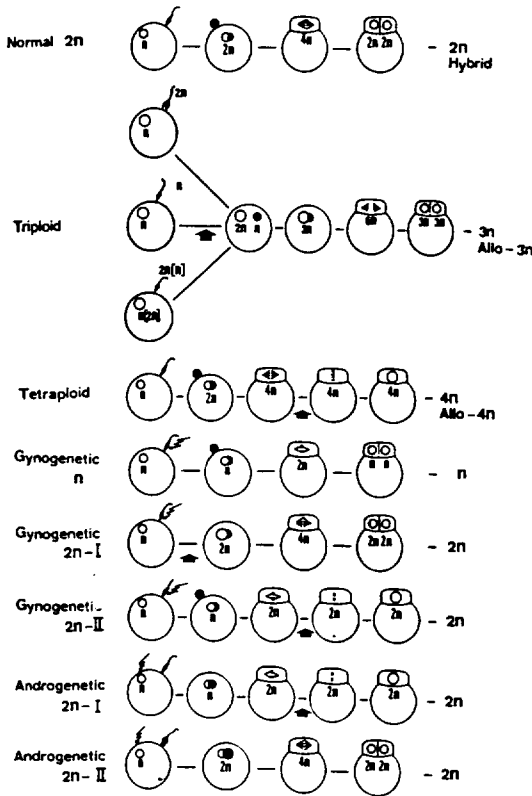


Fig. 2. Induction mechanism of chromosome manipulation in fish. , sperm; O, 2nd polar body; ⬆, ionized radiation; ⬆, retention of 2nd polar body or blocking of 1st cleavage.

는 Fig. 2와 같이 제2 감수분열 중기에서 처리를 가하여 제2 극체 방출을 억제 시킴으로서 이루어진다. 제2 극체 방출 억제제를 위한 처리방법으로는 여러가지가 있을수 있으나 제2극체 방출억제의 기작은 공히 미세소관(microtubule)로 이루어진 방추사(spindle fiber)의 해축(depolymerization)으로서 온도처리 방법이 간편하고, 효율이 높아 널리 이용되고 있다.

고온처리(heat shock), 저온처리(cold shock)의 범위는 산란시 사육수온을 기준한것으로 일반적으로 연어과 어류와 같은 냉수성어류에서는 고온처리가, 잉어과 어류와 같은 온수성어류에서는 저온처리가 적용되며 사육수온 과는 약 10°C 정도의 온도차이를 주어 처리되고 있으며 고온처리는 높은 사망율을 나타내므로 저온처리 보다 짧게 처

리된다(Benfey and Donaldson, 1988; Chourrout, 1988; Thorgaard and Allen, 1987). 물리적처리(physical shock)인 수압(hydrostatic pressure) 처리는 7,000~9,000psi의 고압으로 3배체를 유도하나 취급의 어려움과 아울러 처리 난수가 제한되는 단점이 있다(Chourrout, 1984; Lou and Purdom, 1984). 화학적처리(chemical shock)는 nitrous oxide(NO)와 freon 22와 같은 마취제, colchicine 및 cytochalasin B 등의 화학물질에 의한 처리로서 이런 물질에 의한 세포독성이 부작용으로 나타나고 있다(Refstive *et al*, 1977; Shelton *et al*, 1986; Smith and Lemonie, 1979). 어류의 난은 단황난으로서 그 수정율은 모체의 영향 즉 난질에 크게 좌우 되므로 3배체 유도시 최숙난을 사용하여 최초처리시간(initial treatment time)을 결정하는 제2 극체 생성시기를 포착함이 중요하며 처리종류와 아울러 처리정도, 즉 처리강도 및 처리지속시간(treatment time)의 결정이 중요한 요인이다.

3배체 유도율은 다양한 종에 걸쳐 여러 유도방법에 따라 다양하다(Table. 1). 근간에는 3배체 유도시 그 처리 방법이 개선되어 매우 높은 3배체 유도율을 보이고 있다. 높은 수압처리는 80~100%의 3배체 유도율을 나타낸다(Benfey and Suterlin, 1984a; Lou and Purdom, 1984b).

이외에도 Fig. 2와 같이 어류에서의 3배체 유도기작은 높은 pH 및 고농도의 칼륨 그리고 polyethylene으로 정자를 융합시킨 2개의 융성배우자(dispermy)와 반수체 난자와의 수정으로 3배체를 유도한바 있으며(Veda *et al*, 1986, 1988) 4배체 수컷으로부터의 2배체 정자와 2배체 암컷으로부터의 반수체 난자와의 단순교배에 의해 3배체가 생산된바 있다(Blanc *et al*, 1987; Chourrout *et al*, 1986b).

역사적 배경 및 연구사례 어류는 비교적 짧은 생활사, 미분화된 성염색체로 인한 배수체의 정상적인 생존력 및 체외수정으로 인한 손쉬운 조작방법 등으로 인해 1945년 Svårdson에 의해 최초로 어류 3배체가 유도 되었다. 그는 powan *Coregonus lavaretus*와 대서양연어 *Salmo salar* × brown trout *salvelinus fontinalis*에서 3배체 배를 발견 하였으며 이러한 3배체는 제2 감수분열을 거치지 않은 난의 수정으로 기인된다고 제안하였다.

Table 1. Methods for manipulation of fish triploidy (Early cold, heat, or pressure treatments were applied before or during second meiosis; late treatments were applied just before or during first mitosis. I = interval between fertilization and the start of treatment; D = duration of treatment. Survival was to hatching unless otherwise indicated.)

Method	Result	Reference
	Powan	
Early cold 0°C: I=10min, D=13h	3% of triploids survived to blastula stage	Svárdson (1945)
	Threespine stickleback	
Early cold 0°C: I = 3min, D=1.5-3h	56% of triploids; 15% survival	Swarup (1959a)
Early hert 33.5-40°C: I = 10min, D=5min	50% of triploids; 10% survival	Swarup (1959a)
	Sterlet	
Early hert 34°C: I = up to first cleavage, D=3min	52% of triploids; 46% survival	Vasetsky (1967)
	Common carp	
Hybridization with other cyprinids	Allotriploids	Vasil'ev <i>et al</i> (1975)
Early cold 0°C: I = 10min, D=10min	Triploids	Ojima and Makino (1978)
Early cold 0-2°C: I = 5min, D=45min	100% triploids; up to 60% survival	Gervai <i>et al</i> (1980)
	Plaice×European flounder <i>Platichthys flesus</i>	Purdom (1972)
Early cold about 0°C: I = 15min, D=2-5h	100% allotriploids; survival to juvenile stage like that of diploids	
	Grass carp	
Hybridization with <i>Aristichthys nobilis</i>	34% allotriploids	Beck <i>et al</i> (1980); Beck and Biggers (1982, 1983)
Early cold 5°C: I = 5min, D=6min	18% triploids; 78% survival to blastula stage	Cassani and Caton (1985)
Early hert 40°C: I = 5min, D=1min	8% triploids; 81% survival to blastula stage	Cassani and Caton (1985)
	Tilapia species	
Early cold 11°C: I = 15min, D=1h	75% polyploids (probably triploids); 90% survival	Valenti (1975)
Early hert 38°C: I = 15min, D=1h	10% polyploids (probably triploids); 50% survival	Valenti (1975)
Early hert about 40°C: I = 5min, D=30min	60-100% triploids; 55-63% survival	Penman <i>et al</i> (1987)
Early cold 14°C: I = 5min, D=1h	83.3% triploids; 56.7% survival	Kim <i>et al</i> (1990)
	Atlantic salmon	
Early hert 32°C: I = 15min, D=5min	100% triploids; 90% survival relative to controls	Benfey and Sutterlin (1984a)
Early hert 30°C: I = 20min, D=12min	100% triploids; 67% survival	Johnstone (1985)
Early pressure 710kg/cm ² : I = 15°C: D=6min	100% triploids; 89% survival to controls	Benfey and Sutterlin (1984a)
	Channel catfish	
Early cold about 0°C: I = 5min, D=1h	100% triploids; 80% survival	Wolters <i>et al</i> (1981)
Late hert 40°C: I = 80-90min, D=3min	62% triploids; 40% survival	Bidwell <i>et al</i> (1985)
	Rainbow trout	

Table 1. - continued

Method	Result	Reference
Early hert 27-30°C: I = 0-70min, D=10min	50% triploids	Chourrout (1980)
Early hert 36°C: I = 10min, D=1min	43% triploids; 33% survival of embryos	Thorgaard <i>et al</i> (1981)
Early hert 26°C: I = 25min, D=20min	98% triploids; 87% survival	Chourrout and Quillet (1982)
Early hert 26-28°C: I = 1 or 40min, D=10min	83-100% triploids; 50-70% survival	Soair <i>et al</i> (1984)
Early pressure 420 kg/cm ² : I = 10min, D=8min	100% triploids; 53% survival	Chourrout (1984)

Svärdson (1945)은 역시 powan과 대서양연어 × brown trout에 양서류에서 성공적으로 사용된 저온충격을 가하여 3배체를 유도 하였다. Swarup (1959a, 1959b)는 threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus*에서 3배체 어류를 생산하였다. 그는 양서류에서의 연구와 Svärdson (1945)의 연어과에서의 연구를 기초로 수정난에 저온, 고온처리로 3배체를 유도 하였는바 저온처리가 다소 효과적 이었으며 고온처리시 발생의 후반부에서 사망율이 높았다. Swarup (1959b)는 3배체를 성체까지 사육하여 그들의 성장, 성숙을 2배체 대조군과 비교하였다.

온도처리후 3배체 유도체에 관한 세포학적 연구는 Makino and Ozima (1943), Frankhauser and Godwin (1948), Fishberg (1948)에 의하였다. 온도처리는 방추사의 역할과 제2 극체 방출에 영향을 미쳐 결과적으로 모계 염색체의 부수 반수체가 유지된다. 3배체는 반수체가 감소되지 않은 난의 핵이 정자 핵과 융합시 생성되는 것으로 어류에서 빈번히 관찰되는 자연발생성 3배체 (Gold and Avise, 1976; Svärdson, 1945; Thorgaard and Gall, 1979)는 역시 이런 기작에 의해 생성된다고 생각된다.

3배체 유도시 반수체, 2배체, 3배체와 높은 율의 배수화, mosaics가 나타나므로 배수화 판별의 정확한 방법이 요구된다. 외부형태에 의한 배수화의 판별은 종내 및 종간 잡종의 생존율을 높이기 위해 유도되는 잡종3배체와 배수체에서 가능하다 (Gervai *et al*, 1980; Scheerer *et al*, 1987).

배수체 판별은 염색체 수 조사, 전기영동, 세포와 핵크기 측정방법과 flowcytometry에 의한 직접적인 DNA 함량 측정에 의한다 (Kim *et al*,

1982; Thorgaard *et al*, 1982; Wattendorf, 1986). Phillips 등 (1986)은 Chervas and Ilyasova (1980)에 의한 방법으로 반수체, 2배체, 3배체의 무지개송어 (*Oncorhynchus mykiss*)에서 인을 계수하여 배수화를 판별하였다. 그렇지만 이 방법은 반수체의 한 염색체 상에만 인형성 부위가 1개 존재하는 종에만 적용될수 있다. 예로 brook trout는 세포당 다수의 인형성 부위를 가지므로 본 종에서의 2배체, 3배체 판별시 염색체 수 계수와 인을 계수함은 연관성이 거의 없다 (Phillips and Ihssen, 1985).

산업적 경제성 3배체 척추동물의 주요 관심은 3배체가 세포당 염색체 1조의 증가로 체형이 커지는 것으로 여타 동물에서도 세포크기는 배수화 수준과 연관된다 (Artom, 1925; Morgan 1925; Seiler, 1938). 체형은 식물과 같은 개체에서는 세포크기와 연관되어 커지므로 3배체 척추동물은 2배체에 비해 성장이 빠르다고 가설할수 있으나 배수화된 양서류는 큰 세포를 가지지만 그들의 최종 크기는 2배체 보다 크지 않음을 보였다 (Fishberg, 1944; Frankhauser, 1945). 어류에서도 마찬가지로 3배체는 큰 세포를 가진다고 보고되나 2배체 보다 최고성장이 크지 않으며 2배체에 비해 성숙기전까지는 빠른 성장을 보이지 않는다 (Beck and Biggers, 1983; Benfey *et al*, 1984; Purdom, 1972; Sezaki *et al*, 1977; Swarup, 1959b; Thorgaard and Gall, 1979; Wolters *et al*, 1982a). 세포크기의 증가는 세포수의 감소로 상쇄된다 (Beatty and Fishberg, 1951).

3배체 은연어 *Oncorhynchus kisutch*는 발안기로부터 17개월까지 연속적인 사망을 보였으며 (Utter *et*

al, 1983), Chourrout 등(1986)은 3배체가 대조군에 비해 초기생존율은 다소 낮지만 첫먹이 시작부터 18개월까지 3배체의 생존율이 대조군과 유사함을 보고하였다.

3배체는 정상적인 생식소 발달을 하지 않으며 생식소지수도 매우 낮으며, 3배체는 이수체 배우자를 생산하므로 기능적으로 불임이다(Allen *et al*, 1986; Benfey *et al*, 1986; Lincoln and Scott, 1984; Thorgaard, 1983). 3배체는 생식에 사용되는 에너지를 체성장으로 전환 하므로 성적성숙기 시 2배체에 비해 성장이 빠르다. 불임은 양식의 견해를 기준시 여타 불리한 현상인 식욕 감퇴, 사료 효율 감소, 육질 감소 및 산란후의 사망등을 억제시킬수 있다(Kim *et al*, 1986, 1988; Lincoln and Scott, 1984; Thorgaard and Gall, 1979). 일반적으로 3배체는 2배체에 비해 온순(shy)하여 3배체, 2배체 혼합사육시 초기성장이 늦고 유전적 불안정으로 인한 초기사망율도 높게 나타나나 역으로 이러한 온순함으로 인해 가축화(domestication)에 유리하며 사료효율도 높일수 있다. 3배체 유도시 높은 율의 3배체 유도율이 필요시 되는것은 3배체를 2배체와 혼합사육시 2배체와의 먹이경쟁을 충분히 극복하기 위함이다(Lincoln and Bye, 1984). 3배체는 2배체에 비해 성장이 높게 혹은 낮게 나타난다. 성어 3배체는 높은 비의 육질부와 아울러 2배체에 비해 좋은 사료효율을 보인다(Lincoln and Scott, 1984; Penman *et al*, 1987; Wolters *et al*, 1982b). 2배체 암컷은 성적성숙기에 도달 할수록 3배체 보다 높은 비만도(condition factor)를 나타낸다(Lincoln, 1981; Benfey and Sutterlin, 1984b).

3배체의 불임 효과는 생리, 형태학적 고찰과 더불어 매우 흥미롭다. 틸라피아 양식시 제어불능의 생식은 과일, 성장장애를 야기하여 바람직하지 않으며 상품가치가 하락한다(Penman *et al*, 1987). 틸라피아 3배체는 적정 사육밀도를 유지하여 사육조건을 개선시킬수있다(김 등, 1990). 유용형질을 가진 외래 도입종인 경우 생식이 조절 가능하면 유용할 것이다. 예로 초어는 수생식물의 조절용으로 용이하나 그들의 도입시 그들의 생식으로 인한 생태계 불균형을 초래하므로 제한된다. 3배체 초어는 불임이며 2배체와 동일하게 식물섭식을 하므로 식생의 조절용으로 산업화 되고있다(Allen *et al*, 1986; Wiley and Wike, 1986). 북대서양

연어보존협회는 연어사육장 특히 가두리 사육장으로 부터 야생집단 으로의 유전적 위협을 제안 하였으며 가두리 사육시 불임 3배체의 사육은 이런 위협을 극소화 시킬수 있다고 하였다 (Anonymous, 1989). 이와같이 Thorgaard and Allen (1987)에 의해 제안 되었듯이 3배체는 집단의 조절에 사용 될수있다. 잉어 *Cyprinus carpio* 및 무지개송어의 3배체 수컷은 2차성징을 나타내며 testosterone 수준도 2배체 수컷과 동일하나 일반적으로 3배체 수컷은 무정자 이거나 이수체 정자를 만들기 때문에 생식력은 없게된다(Gervai *et al*, 1980; Lincoln and Scott, 1984).

3배체는 중간 잠종의 생존율을 증가 시킨다(박, 1992; Chevassus *et al*, 1983; Scheerer and Thorgaard, 1983; Scheerer *et al*, 1987; Vasil'ev *et al*, 1975). 무지개송어×brown trout의 잠종은 수정후 161일에 거의 생존력이 없으나 만약 3배체가 유도되면 생존율이 10%로 증가된다(Chevassus *et al*, 1983). 이런 잠종3배체는 제2 감수분열(2nd meiosis)억제로 유도되므로 2조의 모계 기원 반수체와 1조의 부계 기원 반수체를 가진다.

4배체 (tetraploid)

유도기작 어류에서 제1 난할시 고온과 수압처리로 제1 체세포분열(1st mitosis)을 성공적으로 억제시킨다(Fig. 2 와 Table 2). 고온처리의 온도와 수압의 처리정도는 3배체 유도시 제2 극체방출 억제 즉 제2 감수분열 억제시 사용된 범위와 거의 동일하다. 현재는 이러한 제1 체세포 분열억제에 의한 배수체화는 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체(mitotic gynogenetic diploid), 용성발생성 2배체(androgenetic diploid) 및 4배체가 생산되고 있다.

어류의 발생정도는 온도에 의존적 이므로 4배체 유도시의 수압이나 고온처리의 적정시간은 난이 배양된 수온에 의해 결정되어 진다. Zebra danios *Danio rerio*와 차켈메기 *Ictalurus punctatus*와 같은 온수성어종 에서의 처리온도와 수정후의 수압 처리시간은 냉수성어종 에서 처리되는 시간 4.5~8.5시간 보다는 앞선시간인 13~90분 이다(Ihssen *et al*, 1990). 처리지속시간은 온도처리 및 수압처리에서 유사하며 제2 감수분열억제시의 처리지속시간인 1

~14분과 동일하다. 무지개송어에서 가장 성공적인 유도조건은 수정후 5.8시간에 492kg/cm의 수압으로 4분간 처리하여 100%의 4배체를 유도한 것이다(Chourrout, 1984).

체세포분열을 억제하는 colchicine과 같은 화학물질은 배수화 작용이 있지만 덜 효과적이다. Lieder(1964)는 0.01~1% 농도의 colchicine을 무지개송어 난에 처리하여 배체 단계까지 생존시킨바 있다. Refstie 등(1977)과 Allen and Stanley (1979)는 10μg/ml cytochalasin B를 사용하여 배수체 mosaic과 약간의 4배체를 유도하였다.

역사적 배경 및 연구사례 제1 체세포분열을 억제시켜 유도되는 4배체는 3배체 유도 보다 어렵다고 알려져있다. 제1 체세포분열은 핵분열(karyokinesis)과 세포질분열(cytokinesis)의 연속적인 과정으로 초기에는 제1 난할시에 핵분열이 아닌 화학물질에 의한 세포질분열만을 억제하여 4배체를 유도한 결과 배수체 mosaic과 매우 낮은 생존력의 4배체를 생산하였다(Refstie, 1981; Refstie et al, 1977; Smith and Lemoine, 1979).

4배체에서의 배수화 판별은 3배체 판별시 사용된 염색체 수 조사, 세포와 핵 크기 측정 및 flowcytometry에 의한 DNA 함량 측정으로서 가

능하다(김 등, 1993; Thorgaard et al, 1982; Utter et al, 1983; Wattendorf, 1986).

Table 2에서 나타낸 바와 같이 무지개송어와 틸라피아에서 제1 체세포분열 전 혹은 제1 체세포분열 동안에 고온, 저온충격을 가한 결과 생존력이 낮은 4배체가 유도 되었으며 고온처리시 차넬메기 4배체는 비교적 높은 생존력을 보였다(Bidwell et al, 1985). 틸라피아와 틸라피아 잡종에 제1 난할 직전에 수압과 저온을 동시에 처리시 일반적으로 보고되는 4배체 유도율을 보였다(Myers, 1986). 잡종4배체 유도시 4배체 유도가 매우 높아 Mozambique tilapia, *Tilapia massabica* × Nile Tilapia, *T. nilotica*의 잡종배에 7.5°C 수온에서 제1 난할에 530kg/cm 수압으로 7분간 처리시 22%의 4배체 유도율을 보였다. 그렇지만 일반적으로 고압처리로 형성된 잡종4배체는 부화후 7일까지만 생존 가능하다. 유도 비율과 생존력의 관점에서 가장 성공적인 4배체 유도는 Chourrout(1984)가 무지개송어에 수압을 처리하여 100% 4배체를 유도하여 성숙까지 수컷, 암컷을 사육한 것이다(Chourrout and Nakayama, 1987; Chourrout et al, 1986).

산업적 경제성 배수체는 척추동물의 진화에 중요한 역할을 하므로 4배체 어류는 세포유전학적 현

Table 2. Tetraploid induction in fish

Treatment*	Result*	Reference
	Tilapia species	
Late cold 11°C; I = 92min, D = 1h	25% tetraploids; 16% survival	Don and Avtalion(1988)
	Channel catfish	
Late hert 40°C; I = 80~90min, D = 3min	62% tetraploids; 40% survival	Bidwell et al (1985)
	Rainbow trout	
Late hert 36°C; I = 5h, D = 1min	16% tetraploids; 28% survival of embryos	Thorgaard et al (1981)
Late hert 28°C; I = 8.5h, D = 14min	8% tetraploids; 25% survival	Chourrout(1982)
Late pressure 490kg/cm²; I = 5.8h, D = 4min	100% tetraploid; 40% survival	Chourrout(1984)

* I, interval between fertilization time and treatment time; D, duration of treatment; survival rate to hatching period.

상을 연구하는데 유용하다(Ohno, 1974). Cato-stomidae, 연어과의 어류는 진화적으로 4배체화에서 기원되었으나 연어과 어류에서의 4배체는 일부 중에서 완벽하지 못하므로 연어과 어류의 2배체화는 아직까지 불완전하다(Ohno *et al.*, 1969; Uyeno and Smith, 1972; Wright *et al.*, 1983). 4배체 간의 교배로부터 생산된 4배체는 처리에 의해 유도된 4배체 보다 이형접합적(heterozygous)이다(Diter *et al.*, 1988).

4배체의 중요한 목적은 유도 4배체와 2배체의 단순교배로 3배체의 생산으로 본 기법은 틸라피아와 같이 체외수정이 어렵고 3배체 유도 기법이 완전하지 못한 경우에 사용된다. 4배체 배우자에서의 높은 수준의 이형접합성(heterozygosity)으로 교배로 유도된 4배체는 87%의 이형접합성을 보이며 물리적으로 유도된 3배체에 비해 높은 생존력을 나타낸다(Diter *et al.*, 1988). Chourrout 등(1986)은 3배체를 유도하기 위해 4배체 수컷으로부터의 2배체 정자와 2배체 암컷으로부터의 반수체 난자와의 교배시 낮은 수정능력을 발견한바 이것은 난자의 일점크기 난문에 반한 큰 2배체 정자에 기인된 것으로 상반된 교배 즉 2배체 남자×반수체 정자는 더욱 좋은 유도결과를 나타내었다(Chourrout and Nakayama, 1987). 2배체 남자×반수체 정자의 자성발생성인 2세대(2nd generation) 4배체는 단순교배에 의한 1세대(1st generation) 4배체 보다 생존율이 좋았으며 역시 2세대 4배체로부터 단순교배에 의해 형성된 2세대 3배체는 생존과 성장에 있어 단순교배로 유래된 1세대 4배체간의 단순교배에 의한 1세대 3배체, 물리적충격에 의해 유도된 평상(conventional)의 3배체보다 좋았다(Chourrout *et al.*, 1986).

자성발생성 2배체 (gynogenetic diploid) 및 웅성발생성 2배체 (androgenetic diploid)

유도기작 자성발생성 2배체 및 웅성발생성 2배체의 유도 기작은 Fig. 2 와 같다. 자성발생성 2배체, 웅성발생성 2배체 공히 우선적으로 정자, 난자

의 유전적 불활성(genetic inactivation)을 이룬후 유도 되는 것으로 자성발생성 2배체는 제2 감수분열 억제 즉 제2극체 방출억제로 유도 되는 감수분열 억제성 자성발생성 2배체(meiotic gynogenetic diploid), 제1 체세포분열 즉 제1 난할의 억제로 유도되는 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체(mitotic gyno-genetic diploid)로 대별된다. 웅성발생성 2배체는 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체 유도 기작과 마찬가지로 제1 체세포분열 억제 즉 제1 난할의 억제로 유도된다.

X선과 ^{60}Co 의 γ 선에 의한 이온화 방사는 자외선 조사(irradiation)와 더불어 정자와 난자의 유전적 불활성에 효과적이다. 유전적 불활성화에 의한 난의 핵질은 불활성화되며 정자는 난을 활성화시키는 능력을 보유하고 유전적으로 완전히 불활성화된다. 자외선 조사는 취급시 간편함, 안정성과 아울러 자성발생성 2배체 생산시 이온화 방사에 비해 높은 사망율을 나타내지 않으므로 정자의 유전적 불활성에 효과적으로 사용되고 있다(Chourrout, 1984; Thorgaard *et al.*, 1985). 그렇지만 어류난의 유전적 불활성화시 자외선 조사는 난으로 투과능력이 약하므로 덜 효과적 이어서 난의 유전적 불활성화시 ^{60}Co 의 γ 선 조사가 적용되고 있다(Arai *et al.*, 1979; May *et al.*, 1988 Parsons and Thorgaard, 1984). 화학물질 처리 역시 정자 불활성화에 효과적 이어서 Tsoy(1972)는 무지개송어와 peled *Coregonus peled*의 정자를 $2.9 \times 10^{-4} \sim 7.7 \times 10^{-3}\text{M}$ 의 dimethyl sulphate로 불활성화시킨바 있다.

제2 감수분열 억제는 3배체 유도시 사용되는 저온, 고온처리 및 수압처리와 화학적처리로 가능하며 제1 체세포분열 억제는 4배체 유도시 주로 사용된 고온처리, 수압처리가 사용되는 것으로 Streisinger 등(1981)은 제1 체세포분열시 고온 및 수압처리로 동형접합성인 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체 zebra danios를 유도 하였으며 Parsons and Thorgaard (1985)과 May 등(1988)은 유전적 불활성된 난에 고압처리로 무지개송어와 brook trout에서 각각 웅성발생성 2배체를 유도 하였다(Table 3).

Table 3. Methods for induction of gynogenesis and androgenesis in fish (Early cold, hert, or pressure treatments were applied before or during second meiosis; late treatments were applied just before or during frist mitosis. I = interval between ferilization(egg activation)and the start of treatment; D=duration of treatment; UV=ultraviolet. Survival was to frist feeding unless otherwise indicated.)

Method	Result	Reference
Weatherfish		
X-irradiated sperm 2-4kGy	Spontaneous gynogenetic diploids: 0.3% survival	Romashov <i>et al</i> (1960)
X-irradiated sperm 2-4kGy plus early cold 2C, just before and just after fertilization, D=3-2h	Gynogenetic diploids; up to 8% survival	Romashov <i>et al</i> (1960)
X-irradiated sperm 2-4 kGy plus early hert 33-34°C, I = 0min, D=4min	Gynogenetic diploids; up to 36% survival	Romashov <i>et al</i> (1990)
X-irradiated eggs	Androgenetic haploid, nonviable	Romashov and Belyaeva (1964)
Common carp		
False hybrid with crucian carp <i>Carassius carassius</i>	Spontaneous gynogenetic diploids (few)	Golovinskaya <i>et al</i> (1963)
Hybird with male grass carp	Spontaneous androgenetic diploids: 0.04% survival to 3 months	Stanley (1976a)
X-irradiated sperm 1 kGy	Spontaneous gynogenetic diploids: 0.4% survival	Romashov <i>et al</i> (1960)
X-irradiated sperm 1 kGy	Spontaneous gynogenetic diploids: 0.1% survival	Cherfas (1975)
X-irradiated sperm 1 kGy plus early cold 8-9C, I =0min, D=3.5h	Gynogenetic diploids, 8% survival	Cherfas (1975)
X-irradiated sperm 1 kGy plus early cold 7.5C, I =0min, D=5.5h	Gynogenetic diploids, 22% survival	Cherfas and Ilyasova (1980)
UV-irradiated sperm plus early cold 0.0-0.5C, I =2.5-11.5min, D=1h	Gynogenetic diploids, up to 25% survival to hatching	Taniguchi <i>et al</i> (1986)
⁶⁰ Co gamma-irradiated sperm 1 kGy	Spontaneous gynogenetic diploids: 0.3% survival	Nagy <i>et al</i> (1986)
⁶⁰ Co gamma-irradiated sperm 1 kGy plus early cold 4C, I =15min, D=3.5h	Gynogenetic diploids, up to 22% survival	Nagy <i>et al</i> (1986)
⁶⁰ Co gamma-irradiated sperm 1 kGy plus late cold, at frist cleavage	No effect	Nagy <i>et al</i> (1986)
Grass crap		
X-irradiated sperm of goldfish <i>Carassius auratus</i> 0.75 kGy plus early cold 2C, I =min, D=5-15min	Gynogenetic diploids, 0.6% survival	Stanley and Sneed (1974)
UV-irradiated common carp sperm	Spontaneous gynogenetic diploids; 2.1% survival up to 3 months	Stanly (1976a)

Table 3. -continued

Method	Result	Reference
Plaice		
⁶⁰ Co gamma-irradiated sperm 10 kGy plus early cold 0°C, I = 20min, D = 3h	Gynogenetic diploids; up to 9.5% survival to hatching	Purdom (1969)
⁶⁰ Co gamma-irradiated sperm 1 kGy plus early cold 0.5°C, at frist I = 10-20min, D = 4h	Gynogenetic diploids, 57% survival to 20 d after fertilization	Purdom and Lincoln (1974)
⁶⁰ Co gamma-irradiated eggs 1-10 kGy	Androgenetic diploids, nonviable	Purdom (1969)
Rainbow trout		
UV-irradiated sperm, plus early hert 26°C, I = 25min, D = 20min	Gynogenetic diploids: 26% survival	Chourrout and Quilet (1982)
UV-irradiated sperm, plus late heat 28°C, I = 4.5-5h, D = 10min	Gynogenetic (some mitotic) diploids: 7% survival	Purdom <i>et al</i> (1985)
UV-irradiated sperm, plus early pressure 490 kg/cm ² , I = 40min, D = 5min	Gynogenetic diploids: 27% survival	Chourrout (1984)
UV-irradiated sperm, plus early pressure 560 kg/cm ² , I = 40min, D = 10min	Gynogenetic diploids: 81% survival	Lou and Purdom (1984a)
UV-irradiated sperm, plus late pressure 560 kg/cm ² , I = 7.5-8.5h, D = 10min	No production of gynogenetic diploids	Lou and Purdom (1984a)
⁶⁰ Co gamma-irradiated sperm, 0.5 kGy	Spontaneous gynogenetic diploids: 5% survival to hatching	Vassileva-Dryanovska and Belcheva (1965)
⁶⁰ Co gamma-irradiated sperm, 1.5-1.9 kGy plus early cold 0-2°C, I = 1min, D = 10h	Gynogenetic diploids, up to 25% survival	Chourrout (1980)
⁶⁰ Co gamma-irradiated sperm, 1.5-1.9kGy plus early heat 23-30°C, I = 0-80min, D = 10h	Gynogenetic diploids, up to 15% survival	Chourrout (1980)
⁶⁰ Co gamma-irradiated sperm, 1 kGy plus late pressure 490 kg/cm ² , I = 5.8h, D = 3min	Gynogenetic (mitotic) diploids, 8% survival	Chourrout (1984)
⁶⁰ Co gamma-irradiated eggs, 3.6 kGy plus late pressure 630 kg/cm ² , I = 5.75h, D = 1-3min	Androgenetic diploids: 40% survival to hatching	Parsons and Thorgaard (1935)
Brook trout		
⁶⁰ Co gamma-irradiated eggs, 0.88 kGy plus late pressure 595 kg/cm ² , I = 7.5h, D = 3min	Androgenetic diploids: 37% survival to the eyed-egg stage	May <i>et al</i> (1988)
Zebra danio		
UV-irradiated sperm plus late heat 41.4°C, I = 13min, D = 2min	Gynogenetic (mitotic) diploids; 10-20% survival to adult	Streisinger <i>et al</i> (1981)
UV-irradiated sperm plus early pressure 560 kg/cm ² , I = 1.5-6min, D = 5.5min	Gynogenetic (mitotic) diploids; >30% survival to adult	Streisinger <i>et al</i> (1981)
UV-irradiated sperm, plus late pressure 560 kg/cm ² at frist mitosis in 2% aqueous ether	Gynogenetic (all mitotic) diploids; 20% survival to adulthood	Streisinger <i>et al</i> (1981)

(Source : Ihssen *et al*, 1990).

역사적 배경 및 연구사례 척추동물 중 실험적인 처녀생식(수컷의 유전물질 없이 배체의 생산)은 양서류에서 최초로 보고 되었으며(Bataillon, 1910, 1911; Dehorne, 1910; Levy, 1913) 대부분의 처녀생식 개체는 반수체 이지만 적은 비율의 2배체, 다배체가 형성되었다(Bataillon, 1910; Parmenter, 1920, 1933; Kawamura, 1939).

척추동물에서의 처녀생식 유도는 바늘로 미수 정난을 찌름으로서 유도 되었으며(Bataillon, 1910; Kawamura 1939; Levy, 1913) 후에 저온 충격이 양서류에서 처녀생식유도에 효과적임이 판명 되었는바, 이런 처녀생식성 개체는 전형적으로 제1 난할의 지연 즉 제1 체세포분열이 억제됨으로 2배체가 될수있다(Böök, 1941; Frank-hauser, 1945). Rostand (1934, 1938)는 개구리 종인 *Rana temporaria*와 두꺼비 종인 *Bufo vulgaris*의 교배로부터의 배체를 저온충격을 가한바 정자는 난을 활성화 시키지만 유전적으로는 수정에 관여않는 자성발생을 유도 하였으며 저온충격은 정자를 불활성화 시키며 역시 제2감수분열을 억제시켜 자성발생 2배체를 생산함을 발견하였다.

Hertwig(1911)는 개구리 종인 *Rana fusca*의 난이 저농도의 r -조사로 처리된 정자와의 수정시 보다 고농도의 r -조사로 처리된 정자와 수정시 정상발생율이 높음을 발견하였다. 이런 역설적인 현상은 "Hertwig effect"로서 정자는 유전적으로 부분적인 불활성 보다는 완전한 불활성시 저항성이 있음을 나타낸 것으로서 완전히 불활성된 정자로 수정된 난은 자성발생성 반수체로 발생한다.

Trifonowa(1931, 1934)는 어류 처녀생식을 연구한 바, ruffe *Gymnocephalus cernua*, Eurasian perch *Perca fluviatilis*, bream *Abramis brana*, roach *Rutilus rutilus*에서 28~30°C의 고온처리로 처녀생식성 개체 유도를 증가 시켰지만 이런 배체는 blastopore closure 까지만 발생 하였으며 초기 배체 단계까지 생존한 처녀생식성 어류는 shad *Paralosa lacustris* lariana (Lestage, 1934), northern pike *Esox lucius* (Kasansky, 1934)와 Common carp (Kasansky, 1935) 이었다. 인위적으로 유도된 자성발생성 반수체는 Oppermann (1913)에 의하여 brown trout *Salmo trutta*에서 시도되었다. Lieder (1955)와 Romashov 등(1960, 1961, 1963)은 common carp, weat-herfish

Misgurnus fossilis, sterlet *Acipenser ruthenus*에서 자성발생성 2배체를 유도 하였는바 낮은 비율의 자성발생성 2배체는 난이 X선 조사된 정자로 활성화시 유도 되었다. 저온충격은 weatherfish에서 자성발생된 2배체의 유도율을 증가시켰다(Romashov and Belyaeva, 1965). 자성발생성 2배체 잉어에서의 비늘형태 다양성에 관한 유전적 연구는 자성발생성 2배체가 형성되는 기작을 정확하게 설명한다(Golovinskaya and Romashov, 1966). 제2 감수분열 억제 즉 제2 극체발출 억제에 의한 자성발생성 2배체는 3배체를 형성하는 기작과 유사하다(Makino and Ozima, 1943; Svårdson, 1945). 자성발생성 2배체 연어과 어류 생산의 초기시도는 Vassileva-Dryanovsky and Belcheva (1965), Purdom(1969) 과 Tsoy(1972)에 의하여였다.

웅성발생은 자성발생의 역으로 웅성발생성 개체는 정상 정자와 유전적으로 불활성화된 난과의 수정으로 형성된다. Subtelny(1958)는 개구리에서 반수체의 핵이식에 의한 웅성발생성 반수체중 다수의 웅성발생성 2배체를 관찰 하였으며 Gillespie and Armstrong (1980)는 자외선으로 불활성된 난과 수압으로 제1 체세포분열을 억제시켜 웅성발생성 2배체 도롱뇽 종인 *Ambystoma mexicanum*을 생산하였다. 웅성발생성 반수체어류가 연속적으로 관찰되지만(Arai *et al.*, 1979; Parsons and Thorgaard, 1984; Purdom, 1969; Romashov and Belyaeva, 1964) 제1 체세포분열의 억제에 의한 웅성발생성 2배체는 단지 최근에 성공적으로 이루어 지고있다(May *et al.*, 1988; Parsons and Thorgaard, 1985).

산업적 경제성

감수분열 억제성(meiotic) 자성발생성 2배체

Golovinskaya (1968)와 Purdom (1969)는 감수분열 억제성 자성발생성 2배체는 순계생산에 유용한 방법이라 제안하였다. 동형접합성 순계는 포유류에서 환경에 대한 유전적효과 연구와 잡종강세를 나타내는 교잡종 생산에 이용되는 것으로 단기간 내에 순계생산을 위한 감수분열 억제성 자성발생성 2배체의 유용성은 자성발생 후의 잔존 이형접합성(heterozygosity)의 정도에 기인된다. 초기에는 어류 염색체에서 유전자와 중심체간의 교차

(crossing over)가 거의 일어나지 않아 자성발생성 2배체는 낮은 수준의 이형접합성을 가진다고 여겨졌으나 이후의 연구에서 자성발생성 2배체는 높은 수준의 이형접합성을 보였다(Purdom, 1969). Golovinskaya and Romashov (1966)는 자성발생성 2배체에서의 이형접합성은 유전자와 중심체 간의 감수분열시 교차에 기인된다고 제안 하였는바 중심체에서 먼 위치의 유전좌는 높은 교차빈도를 나타내어 높은 수준의 이형접합성을 나타내며 여러 유전좌에서 100%의 이형접합성이 잉어, 무지개송어에서 발견된다(Golovinskaya and Romashov, 1966; Guyomard, 1984; Papazian, 1952; Thorgaard *et al.*, 1983). 이러한 일부 유전좌에서의 예상외의 높은 이형접합성은 Thorgaard 등(1983)이 결론한바 어류는 거의 완벽한 chiasma를 이룬다고 하였다. 1개 이상의 교차가 유전좌와 중심체 사이에서 일어날수 있으며 이중의 교차는 이형접합성의 수준을 감소시킨다. 감수분열 억제로 유도된 연속적인 자성발생성 2배체의 동계교배율은 유전자의 이형접합성에 의하여 결정되어 질수있다. Nagy and Csanyi (1982)와 Allendorf 등(1986)은 높은 chiasma 간섭으로 인해 잔존 유전좌가 이형접합성일 경우, 자성발생성 2배체의 연속세대에서의 동계교배율은 감소된다고 지적하였다.

그러므로 현재까지의 결과로 감수분열 억제성 자성발생성 2배체는 순계생산에 적합하지 않지만 감수분열 억제성 자성발생성 2배체는 쌍둥이 및 clone과 유사하게, 모든 유전좌에서는 동형접합적이지 아니지만 동일한 유전자형을 가지는 계통인 동유전자 계통(isogenic line)의 형성에 유용하다. Nagy 등(1983)은 자성발생성 잉어의 4세대에서의 조직이식시 거부반응이 일어나지 않음을 보였는바 이것은 높은 수준의 동유전자적 임을 나타낸다. 동유전자 계통은 어느 정도의 이형접합성을 지니므로 높은 생존율을 나타내는 순계보다 적용 가능성이 크며 아울러 동유전자계는 쌍둥이, clone이 형질 형성시 환경의 영향을 조사시 사용되는 것과 마찬가지로 사용 될수있다. 역시 동유전자계는 표현형 변이가 적으므로 우성의 표현형 변이 등으로 측정하기 어려운 생리학적 영향을 조사하는데 유용하다.

자성발생성 2배체의 또 다른 적용은 단성집단(mono-sex population)의 생산이다. 많은 어종

에서 발견 되듯이 만약 암컷이 동형배우자적 성(homogametic sex)을 가진다면 자성발생에 의해 1세대에서 전암컷 집단(all female population)이 형성 될수있다. 전암컷 자성발생성 2배체(all female gynogenetic diploid)는 잉어(Golovinskaya, 1969; Nagy *et al.*, 1978), 초어(Stanley, 1976b), 무지개송어와 은연어(Refstie *et al.*, 1982), 홍연어 *O. gortbuscha*(Maximovich and Petrova, 1980)에서 보고 되고있다. 자성발생성 tilapia *Tilapia* spp.는 매우 특이하여 Penman 등(1987)에 의해 생산된 자성발생성 2배체는 5마리 수컷, 90마리 암컷, 3마리 중성이었다. 이러한 결과는 여러 tilapia종에서와 같이 이형배우자적 성(WY)을 가지며 성을 결정하는 요소는 중심체와의 교차에 의해 결정된다. XY 성결정 체계에서 YY가 초웅성(super male)인 것과 유사하게, 초자성(super female)은 WW이고 수컷은 YY이다. XY 성결정 체계에서 성전환된 XY암컷의 자성발생은 성결정요소의 유전자지도 작성에 사용될수있다(Inssen *et al.*, 1990). 자성발생성 2배체는 전암컷으로서 철감송어 알컷, 님시미끼용 연어과 난과 같이 어란의 생산에 이용될수 있어 비록 생존력은 낮지만 경제성이 있을수 있으며 아울러 자성발생성 2배체는 수컷의 조기성숙으로 인한 작은크기, 저질의 육질 등의 문제를 제거 할수있어 수산업과 양식업에서 예전부터 사용되어 지고있다(Bye and Lincoln, 1986).

전암컷 집단을 생산하기 위해 자성발생성 2배체를 성전환시킨 기능적 XX 수컷을 사용한바 있으며 유사하게 Scott 등(1989)은 자성발생에 의해 YY 초웅성을 만들기 위해 성전환된 XY암컷을 사용 하였으며 YY 초웅성은 정상 암컷(XX)과 교배시 100% 수컷(XY)을 형성한다.

체세포분열 억제성(mitotic) 자성발생성 2배체와 용성발생성 2배체

체세포분열 억제성 자성발생성 2배체 유도는 zebra danios를 사용한 Streisinger의 연구를 제외하고는 성공적이지 못하였다(Streisinger *et al.*, 1981). 압력(Lou and Purdom, 1984a), 고온(Purdom *et al.*, 1985), 저온(Nagy *et al.*, 1987) 처리는 실패 하였거나 매우 낮은 빈도의 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체를 생산 하였으며 Onozato (1984)는 압력처리로 연어 *Oncorhynchus*

*keta*의 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체를 생산한 바 배의 단계까지만 생존하여 이후의 생존력은 불확실하다. Onozato (1984)는 높은 빈도의 비정상 배를 관찰한 바 이것은 완전한 동형접합성에 기인한 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체에서 예상되는 해로운 열성인자의 동형접합성과(homozygous loci)에 기인 된다고 하였다. 8% 유도율을 나타내는 낮은 수준의 체세포분열 억제성 자성발생성은 Chourrout (1984)의 $^{60}\text{Co-}\gamma$ 조사와 고압에 의해 유도 되었으며 Streisinger 등(1981)은 제 1 세대 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체의 낮은 생존율이 연속세대 에서는 그 생존율이 증가됨을 발견하였다. 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체는 완전한 동형접합성 이라고 알려져 있으므로 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체는 후대에서 해로운 대립유전자(allele)가 제거됨에 따라 생존율이 증가 될수있다(Streisinger *et al.*, 1981).

다른 유전형의 난에 기인된 세포질 내의 변화를 제외하고는 융성발생성 2배체도 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체와 마찬가지로 융성발생성 2배체의 높은 생산은 Parsons and Thorgaard (1985)에 의해 이루어졌다. 감수분열 억제성 자성발생성 2배체 유도시, 근친교배시 완전한 동형접합성 계통이 10세대 이상에서 이루어지는데 반해 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체와 융성발생성 2배체는 2세대 에서 이루어진다(Nagy and Csanyi, 1982). 동계집단(inbred line)은 교잡에 의해 우수 계통의 생산, 단일유전자효과의 연구에 널리 사용될수 있어 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체 zebra danios는 치사돌연변이(lethal mutation), 일정 유전자 에서의 유도 돌연변이(induced mutation) 연구에 사용되어 지고있다(Chakrabarti *et al.*, 1983; Walker and Streisinger, 1983). 융성발생성 2배체는 Thorgaard (1986)가 지적한 바와같이 미토콘드리아와 같은 세포구성 소기관의 표현형적 효과를 연구 하는데 사용되어 질수있다. 정자는 난과는 달라 냉동 보존이 될수있으므로, 냉동보존된 정자와 수정시 융성발생성 2배체는 유전자 자원의 보존수단이 될수있다(Stoss, 1983).

결 론

배수체 유도시 처리종류, 최초처리시간(time of

application), 처리지속시간(length of application)에 의한 배수체 유도율이 좌우되는 것으로 자성발생성 개체(gynogen)과 배수체에 관한 더욱 효과적인 유도법의 개발이 필요시 된다.

감수분열 억제성 자성발생성 2배체(meiotic gynogenetic diploid), 특히 3배체(triploid) 유도시의 제2 감수분열 억제는 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체(mitotic gynogenetic diploid) 및 4배체(tetraploid) 유도 시의 제1 체세포분열 억제에 비해 훨씬 더 성공적이다. 일반적으로 수압처리에 비해 훨씬 더 성공적이다. 일반적으로 수압처리는 저온, 고온처리 보다는 일관된 결과를 보이고 있어 약 562kg/cm²의 수압을 몇 분간 처리시 감수분열 억제성 자성발생성 2배체, 3배체가 높은 비율로 반복적으로 생산되었다. 수압처리를 온도처리와 비교시 수압처리는 값비싼 기구, 매우 적은 분량의 난 만이 처리되는 단점이 있다. 저온, 고온처리가 냉수성, 온수성어류에 효과적이라 판명되고 있으며 전반적으로 연어과 어류와 같은 냉수성어류에서는 고온처리가 더욱 효과적이다. UV 조사는 정자의 생존력은 감소 시키지 않고 효과적으로 유전적 불활성화를 시키는 것으로 자성발생성 2배체의 생존력을 증가시키기 위해서는 감수분열시 처리되는 온도처리가 더욱 정확해 져야한다. 자성발생성 2배체 생산저해의 또 한가지 요소는 부분적으로 불활성화된 정자로서 이러한 불활성화된 정자의 염색체조각은 자성발생성 2배체 생존력을 저하시킨다(Chourrout, 1984).

체세포분열 억제성 자성발생성 2배체, 융성발생성 2배체는 순계생산에 유용하며 4배체는 2배체와 교배시 3배체 생산을 위해 사용 될수있다. 이런 개체들 에서는 온도처리가 염색체조작에 비효과적이며 더욱이 이런 개체는 대량으로 필요한 것이 아니므로 수압처리가 온도처리 보다 더 좋은 방법 일수 있다. 감수분열 억제성 자성발생성 2배체의 주된 적용은 유전자지도 작성과 아울러 동유전자계(isogenic strain)의 생산이다.

3배체 성어가 성공적인, 경제성 있는 어류 인지는 종마다 연구보고가 일치하지 않아 명확하지는 않으며 일부 종의 수컷 3배체에서 산란기에 나타나는 2차성징과 정자형성 및 산란기에 2배체 암컷에서 높은 GSI지수를 보임을 고려시 3배체는 암컷에서 더욱 효과적이다(Lincoln and Scott, 1984). 3배체의 불임효과를 보기 위하여는 전3배체의 사육이 기본적으로 필요시 되며 외래도입 3배체는 그

들이 불임이기 때문에 도입이 허용될 수 있다. 세포 및 핵 크기 측정, flowcytometry로의 DNA 함량 측정 등으로 배수화 수준을 판별 가능하며 생활사의 초기단계에 대량의 집단은 염색체 조사, 인염색 분석에 의해 배수화 판별이 가능하다. 4배체와 2배체의 교배는 낮은 빈도의 이수체를 나타내지만 완전한 3배체만을 생산한다 (Chourrout and Nakayama, 1987).

요 약

어류 염색체조작은 금세기 초부터 시작된다. 초기의 실험들은 방사, 화학물질처리에 의한 불활성된 정자로 자성발생을 유도 하는 것이다. 수정후 온도 및 압력처리는 제2극체 방출 억제 즉 제2 감수분열을 억제시켜 자성발생성 2배체(meiotic gynogenetic diploid)를 형성하며 3배체(triploid)는 정상 정자와 수정된 어류난에 충격을 가함으로 형성된다. 더욱이 근간에는 제1 난할기에 고온 혹은 고압을 처리 함으로서, 제1체세포 분열을 억제시켜 체세포분열 억제성 자성발생성 2배체(mitotic gynogenetic diploid)와 4배체(tetraploid)를 생산 할수있다. 용성발생은 조사(irradiation)된 난을 정상 정자와 수정후 고압처리로 제1 체세포분열을 억제시켜 성공적으로 유도되고있다. 자성발생성 2배체는 감수분열현상과 유전자지도 작성등의 세포유전학적 연구에 이용되고 있다. 자성발생성 2배체의 연속적인 근친교배는 과도한 유전자-중심체 간의 교차와 chiasma 간섭으로 인해 예상과 같이 빠르지는 않다. 그렇지만 순계는 정상 2배체의 근친계통에서 보다는 자성발생성 2배체에서 더욱 빨리 생산될수 있으며 아울러 여러 세대에 걸친 근친교배가 요구된다. 체세포 분열 억제성 자성발생성 2배체와 용성발생성 2배체는 완전한 동형접합성 으로서 근친교배계, 순계와 유사하다. 이들은 어류에서 환경적인 요소에 대한 유전적인 요소를 연구 하는데 사용 될수있다. 3배체는 불임으로서 성적성숙기에 2배체에 비해 성장이 높으며, 생식과 연관된 생물학적 대가로 2배체에 비해 수명이 연장된다. 3배체 성체의 성장은 일부 종에서는 2배체를 능가하지만 일부 종에서는 2배체에 비해 낮게 나타나고 있다.

참고문헌

- 김동수, 노충환, 남윤권, 1993. 4배체 미꾸리 (*Misgurnus anguillicaudatus*)의 유도. 한국양식학회지 6(1) : 55-62.
- 김동수, 최경철, 박인석, 1990. 3배체 나일틸라피아 생산에 관하여. 한국양식학회지 3(2) : 135-144.
- 박인석, 1992. 미꾸리와 미꾸라지의 잡종 및 잡종 3배체에 관한 연구. 부산수산대학교 대학원 박사학위 청구논문, 85pp.
- 한국산업개발연구소, 1993. 생명공학 기법을 이용한 어류의 유전육종. 수산양식개발 연구부 제 1회 세미나, 부산수산대학교 해양산업개발 연구소, 부산. 7월 27일. 138pp.
- Allen, S. K., Jr. and J. G. Stanley, 1979. Polyploid mosaics induced by cytochalasin B in landlocked Atlantic salmon *Salmo salar*. Trans. Amer. Fish. Soc. 108 : 462-166.
- Allen, S. K., Jr., R. G. Thiery, and N. T. Hagstrom, 1986. Cytological evaluation of the likelihood that triploid grass carp will reproduce. Trans. Am. Fish. Soc. 115 : 841-848.
- Allendorf, F. W., J. E. Seeb, K. L. Knudson, G. H. Thorgaard, and R. F. Leary, 1986. Genecentromere mapping of 25 loci in rainbow trout. J. Hered. 7 307-312.
- Anonymous, 1989. Draft protocols dealing with ecological concerns respecting Atlantic salmon due to introductions and transfers of fishes. North Atlantic Salmon Conservation Organization, Commission Paper WAC (89) 16, Edinburgh. UK.
- Arai, K., H. Onozato, and F. Yamazaki, 1979. Artificial androgenesis induced with gamma irradiation in masu salmon. *Oncorhynchus masou*. Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ. 30 : 181-186.
- Artom, C. 1925. Gigantismoe costituzioni

- genetiche nelle r azze e nelle specie tetraploidi. Rivista di Biologia (Perugia) 7 : 533-555.
- Bataillon, E., 1910. L'embryog en ese compl ete provoqu ee chez les amphibiens par piqure de l'oeuf vierge, larve parth enog en etiques de *Rana fusca* Comptes Rendus des Scances de l'Academie des Sciences Serie III, Sciences de la Vie 150 : 996-998.
- Bataillon, E., 1911. La parth enog en ese experimentale chez *Bufo vulgaris*. Comptes Rendus des Scances de l'Academie des sciences Serie III, Sciences de la Vie 152 : 1120-1122.
- Beatty, R. A. and M. Fischberg, 1951. Cell number in haploid, diploid and polyploid mouse embryos. J. Exp. Biol. 28 : 54-552.
- Beck, M. C. and C. J. Biggers. 1983. Erythrocyte measurements of diploid and triploid *Ctenopharyngodon idella* X *Hypophthalmichthys nobilis* hybrids. J. Fish Biol. 22 : 497-502.
- Beck, M. C., C. J. Biggers. and H. K. Dupree. 1980. Karyological analysis of *Ctenopharyngodon idella*, *Aristichthys nobilis*, and their F1 hybrid. Trans. Amer. Fish. Soc 109 : 433-438.
- Beney, T. J., 1989. A bibliography of triploid fish, 1943 to 1988. Can. Tech. Rep. Fish. Aquat. Sci. 1682 : 33pp.
- Beney, T. J. and A. M. Sutterlin, 1984a. Triploidy iduced by heat shock and hydrostatic pressure in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Aquaculture 36 : 359-367.
- Beney, T. J. and A. M. Sutterlin, 1984a. Growth and gonadal development in triploid landlocked Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 41 : 1387-1392.
- Beney, T. J., A. M. Sutterlin, and R. J. Thompson, 1984. Use of erythrocyte measurements to identify triploid salmonids. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 41 : 980-984.
- Beney, T. J. and E. M. Donaldson, 1988. Triploidy in the culture of Pacific salmon. p. 549-554. In : Proc. Aquaculture International Congress, Vancouver, Canada; Sept. 6-9, 1988, British Columbia Pavilion Corp., Vancouver.
- Beney, T. J., I. I. Solar, G. de Jong, and E. M. Donaldson. 1986. Flowcytometric confirmation of aneuploidy in sperm from triploid rainbow trout. Trans. Amer. Fish. Soc. 115 : 838-840.
- Bidwell, C. A., C. L. Chrisman, and G. S. Libey. 1985. Polyploidy induced by heat shock in channel catfish. Aquaculture 51 : 25-32.
- Blanc, J. -M., D. Chourrout, and F. Krieg. 1987. Evaluation of juvenile rainbow trout survival and growth in half-sib families from diploid and tetraploid sires. Aquaculture 65 : 215-220.
- B ock, J. A., 1941. Induction of haploidy in a cold treatment experiment with egg cells of the salamander *Triton taeniacus*. Kungliga Fysiografiska Sallskapet Lund Forhandlingar 11 : 1-16.
- Bye, V. J. and R. F. Lincoln, 1986. Commercial methods for the control of sexual maturation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Aquaculture 57 : 299-309.
- Cassani, J. R. and W. R. Caton. 1985. Induced triploidy in grass carp, *Ctenopharyngodon idella* Val. Aquaculture 46 : 37-44.
- Chakrabari, S., G. Streisinger, F. Singer, and C. Walker. 1983. Frequency of r-ray induced specific locus and recessive lethal mutation in mature germ cells of the zebrafish *Brachydanio rerio* Genetics 103 : 109-123.
- Cherfas, N. B., 1975. Investigation of

- radiation-induced diploid gynogenesis in the carp (*Cyprinus carpio* L.). I. Experiments on obtaining the diploid gynogenetic progeny in mass quantities. *Genetika* 11 : 78-86.
- Cherfas, N. B and V. A. Ilyasoav, 1980. Induced gynogenesis in silver Crucian carp and carp hybrids. *Genetika* 16 : 1260-1269.
- Chevassus, B. R. Guyomard, D. Chourrout, and E. Quillet, 1983. Production of viable hybrids in salmonids by triploidization. *Genetique, Selection, Evolution* 15 : 519-532.
- Chourrout, D., 1980. Thermal induction of diploid gynogenesis and triploidy in the eggs of the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Reproduction, Nutrition, Developpement* 20 : 727-733.
- Chourrout, D., 1982. Tetraploidy induced by heat shocks in the rainbow trout. *Reproduction, Nutrition, Developpement* 22 : 569-574.
- Chourrout, D., 1984. Pressure-induced retention of second polar body and suppression of first cleavage in rainbow trout : production of all-triploids, alltetraploids and heterozygous and homozygous diploid gynogenetics. *Aquaculture* 36 : 111-126.
- Chourrout, D., 1988. Induction of gynogenesis, triploidy, and tetraploidy in fish. *ISI Atlas of Science (Animal and Plant Sciences)* 65-70.
- Chourrout, D. and E. Quillet, 1982. Induced gynogenesis in rainbow trout : sex and survival of progenies. Production of all-triploid populations. *Theor. Appl. Genet.* 63 : 201-205.
- Chourrout, D. and I. Nakayama, 1987. Chromosome studies of progenies issued from tetraploid females of rainbow trout. *Theor. Appl. Genet.* 74 : 687-692.
- Chourrout, D., B. Chevassus, F. Krieg, A. Happe, G. Burger, and P. Renard, 1986. Production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid males and diploid females-potential of tetraploid fishes. *Theor. Appl. Genet.* 72 : 193-206.
- Dehorne, A., 1910. Le nombre des chromosomes chez les batraciens et chez les larves parthénogénétiques de grenouille. *Comptes Rendus des Seances de l'Academie des Sciences Serie III, Sciences de la Vie* 150 : 1451-1453.
- Diter, A., R. Guyomard, and D. Chourrout, 1988. Gene segregation in induced tetraploid rainbow trout : genetic evidence of preferential pairing of homologous chromosomes. *Genome* 30 : 547-553.
- Don, J. and R. R. Avtalion, 1988. Production of viable tetraploid tilapias using the cold shock technique. *Bam-dgeh* 40 : 17-21.
- Frankhauser, G., 1945. The effects of changes in chromosome number on amphibian development. *Quart. Rev. Biol.* 20 : 20-78.
- Frankhauser, G. and D. Godwin, 1948. The cytological mechanism of the triploidy inducing effect of heat on eggs of the newt *Triturus viridescens*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* 34 : 544-551.
- F. A. O., 1972. Report of the first meeting of the F. A. O. ad hoc working party on genetic selection and the conservation of genetic resources of fish. *F. A. O. Fish Rep. No. 119*, 9pp.
- Fischberg, M., 1944. Veränderungen der Chromosomenzahl bei *Triton alpestris* nach Kältebehandlung der Eier. *Rev. Suisse Zool.* 51 : 430-436.
- Fischberg, M., 1948. Bestehen in der Ausbildung der Artmerkmale. Unter-

- schiede zwischen der *Triton palmatus* ♀ und *Triton alpestris* ♂. Rev. Suisse Zool. 55 : 304-310.
- Gervai, J., S. Péter, A. Nagy, L. Horváth, and V. Csányi, 1980. Induced triploidy in carp, *Cyprinus carpio* L. J. Fish Biol. 17 : 667-671.
- Gillespie, L. L. and J. B. Armstrong. 1980. Production of androgenetic diploid axolotls by suppression of first cleavage. J. Exp. Zool 213 : 423-425.
- Gjdrem, T., 1990. Genetics in aquaculture III. Proceeding of third international symposium on genetics in aquaculture, Institute of Aquaculture Research (AKV-AFORSK) and the International Association for Genetics in Aquaculture. Trondheim, Norway, 20-24, June 1988, 340pp.
- Gold, J. R. and J. C. Avise. 1976. Spontaneous triploidy in the California roach *Hesperoleucus symmetricus* (Pisces : Cyprinidae). Cytogenet. Cell Genet. 17 : 144-149.
- Golovinsakya, K. A., 1986. Genetics and selections of fish and artificial gynogenesis of the carp (*Cyprinus carpio*). FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nation) Fisheries Report 44 (4) : 215-222.
- Golovinsakya, K. A., 1969. Artificial gynogenesis in carp. P. 74-98. In B. I. Cherfas, editor. Genetics, selection, and hybridization of fish. Ministry of Fisheries, Russian Soviet Federated Socialist Republic. U.S. National Marine Fisheries Service, Washington, D. C., 1972.
- Golovinsakya, K. A. and D. D. Romashov, 1966. Segregation for the scaling pattern during diploid gynogenesis in the common carp. Trudy Vsesoyuznogo Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Prudovogo Rybnogo Khozyaistva 14 : 227-235.
- Golovinsakya, K. A., D. D. Romashov, and N. B. Cherfas. 1963. Radiation-induced gynogenesis in the common carp. Trudy Vsesoyuznogo Nauchno-Issledovatel'skogo Instituta Prudovogo Rybnogo Khozyaistva 12 : 149-167.
- Guyomard, R., 1984. High level of residual heterozygosity in gynogenetic rainbow trout, *Salmo gairdneri*; Richardson. Theor. Appl. Genet. 67 : 307-316.
- Hertwig, O., 1911. Die Radiumkrankheit tierischer Keimzellen. Archiv für Mikroskopische Anatomie 77 : 97.
- Ihssen, P. E., L. R. McKay, I. McMillan, and R. B. Phillips, 1990. Ploidy manipulation and gynogenesis in fishes : Cytogenetics and fisheries applications. Trans. Amer. Fish. Soc. 119 : 698-717.
- Johnstone, R., 1985. Induction of triploidy in Atlantic salmon by heat shock. Aquaculture 49 : 133-139.
- Kasansky, W. J., 1934. Die parthenogenetische Entwicklung der Hechteier (*Esox lucius* L.). Zool. Anz. 106 : 161-163.
- Kasansky, W. J., 1935. Parthenogenetisch entwickelte junge Karpfen (*Cyprinus carpio* L.). Zool. Anz. 110 : 191-196.
- Kawamura, T., 1939. Artificial parthenogenesis in the frog. I. Chromosome numbers and their relation to cleavage histories. J. Sci. Hiroshima Univ., Series B, Division 1 (Zoology) 6 : 115-217.
- Kim, D. S., G. C. Choi, and J. -Y. Jo, 1990. Induced triploid in channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Teleostomi : Siluriformes). Kor. J. Genet. 12 : 229-235.
- Kim, D. S., I. -B. Kim, and Y. G. Baik, 1986. A report of triploid rainbow trout production in Korea. Bull. Kor. Fish. Soc. 19 : 575-580.
- Kim, D. S., I. -B. Kim, and Y. G. Baik, 1988. Early growth development of

- triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri* J. Aquat. 1 : 41-51.
- Lestage, T. A., 1934. Notes de limnologie. V. L'industrialisation de la parthénogenèse artificielle chez l'agone (Clupeidae ; *Paralosa lacustris lariana* Pir.). Annales de la Société Royale Zoologique de Belgique 64 : 69.
- Levy, F., 1913. Über künstliche Entwicklungserregung bei Amphibien. Archiv für Mikroskopische Anatomie 82 : 65-79.
- Lieder, U., 1955. Männchenmangel und natürliche Parthenogenese bei der Silka-rausche *Carassius auratus gibelio* (Vertebrate, Pisces). Naturwissenschaften 42 : 590.
- Lieder, U., 1964. Polyploidisierungsversuche bei Fischen mittels Temperaturschock und Colchizinbehandlung. Zeitschrift für Fischerei und deren Hilfswissenschaften 12 : 247-257.
- Lincoln, R. F., 1981. The growth of female diploid and triploid plaice (*Pleuronectes platessa*) and plaice × flounder (*Platichthys flesus*) hybrids over one spawning season. Aquaculture 25 : 259-268.
- Lincoln, R. F. and A. P. Scott, 1984. Sexual maturation in triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Biol. 25 : 385-392.
- Lincoln, R. F. and V. Bye, 1984. Triploid rainbows show commercial potential. Fish Farmer 7 : 30-32.
- Lou, Y. D. and C. E. Purdom, 1984a. Diploid gynogenesis induced by hydrostatic pressure in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Biol. 24 : 665-670.
- Lou, Y. D. and C. E. Purdom, 1984b. Polyploidy induced by hydrostatic pressure in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Biol. 25 : 345-351.
- Makino, S. and Y. Ozima. 1943. Formation of the diploid egg nucleus due to suppression of the second maturation division, induced by refrigeration of eggs of the carp, *Cyprinus carpio*. Cytologia (Tokyo) 13 : 55-60.
- Maximovich, A. A. and G. A. Petrova, 1980. Production of radiation-induced diploid gynogenetic pink salmon. Proceedings of the first international conference on biology of Pacific salmon. TINRO, Vladivostok, USSR : 151-155.
- May, B., K. J. Henley, C. C. Krueger, and S. P. Gross, 1988. Androgenesis as a mechanism for chromosome set manipulation in brook trout (*Salvelinus fontinalis*). Aquaculture 75 : 57-70.
- Morgan, L. V. 1925. Polyploidy in *Drosophila melanogaster* with two attached chromosomes. Genetics 10 : 148-178.
- Myers, J., 1986. Tetraploid induction in *Oreochromis spp.* Aquaculture 57 : 281-287.
- Nagy, A., and V. Csányi, 1982. Changes in genetic parameters in successive gynogenetic generations and some calculations for carp gynogenesis. Theor. Appl. Genet. 63 : 105-110.
- Nagy, A., K. Rajki, L. Horváth, and V. Csányi. 1978. Investigation on carp, *Cyprinus carpio* L., gynogenesis. J. Fish Biol 13 : 215-224.
- Nagy, A., Z. Monostory, and V. Csányi, 1983. Rapid development of the clonal state in successive gynogenetic generations of carp (*Cyprinus carpio*). Copeia, 1983 : 745-749.
- Ohno, S. 1974. Animal Cytogenetics : Protochordata, Cyclostomata, and Pisces, volume 4, Chordata 1, Gebrüder Bornträger, Berlin.
- Ohno, S., J. Muramoto, J. Klein, and N. B. Atkin. 1969. Diploidtetraploid relationship in clupeoid and salmonid fishes. Chromosomes Today 21 : 139-147.
- Ojima, Y. and S. Makino, 1978. Triploidy

- induced by clod shock in fertilized eggs of the carp. Proceedings of the Japan Academy Series B, Physical and Biological Sciences 54 : 359-362.
- Onozato, H., 1984. Diploidization of gynogenetically activated salmonid eggs using hydrostatic pressure. Aquaculture 43 : 91-97.
- Oppermann, K., 1913. Die Entwicklung von Forelleneiern nach Befuchtung mit radiumbestrahlten Samenfäden, Archiv für Mikroskopische Anatomie 83 : 141-189.
- Papazian, H. P., 1952. The analysis of tetrad data. Genetics 37 : 175-188.
- Park, I. -S., J. -K. Son, and H. T. Huh. 1992. Preservation and utilization of genetic resources of fish. The 1st Internal. Sympo. The develop. Nat. Resour. Environ. Preser. Seoul, 13-18 October 1992, p. 369-381.
- Parmenter, C. L., 1920. The chromosomes of parthenogenetic frogs. J. Gen. Physiol. 8 : 1-20.
- Parmenter, C. L., 1933. Haploid, diploid, triploid and tetraploid chromosome number and their origin in parthenogenetically developed larvae and frogs of *Rana pipiens* and *Rana palustris* J. Exp. Zool. 66 : 409.
- Parsons, J. E. and G. H. Thorgaard, 1984. Induced androgenesis in rainbow trout. J. Exp. Zoo. 231 : 407-412.
- Parsons, J. E. and G. H. Thorgaard, 1985. Production of androgenetic diploid rainbow trout. J. Hered. 76 : 177-181.
- Penman, D. J., D. O. F. Skibinski, and J. A. Beardmore, 1987. Survival, growth rate and maturity in triploid tilapia. EIFAC (European Inland Fisheries Advisory Commission) Technical Paper 50 : 266-276.
- Phillips, R. B. and P. E. Ihssen. 1985. Chromosome banding in salmonid fishes : nucleolar organizer regions in *Salmo* and *Salvelinus* Can. J. Genet. Cytol. 27 : 433-440.
- Phillips, R. B. and K. D. Zajicek, P. E. Ihssen, and O. Johnson. 1986. Application of silver staining to the identification of triploid fish cells. Aquaculture 54 : 313-319.
- Purdom, C. E., 1969. Radiation-induced gynogenesis and androgenesis in fish. Heredity 24 : 431-444.
- Purdom, C. E., 1972. Induced polyploidy in plaice (*Pleuronectes platessa*) and its hybrid with the flounder (*Platichthys flesus*). Heredity 29 : 11-24.
- Purdom, C. E. and R. F. Lincoln, 1974. Gynogenesis in hybrids within the Pleuronectidae. P. 537-544. In J. H. S. Blaxter, editor. The early life history of fish. Springer-Verlag, Berlin.
- Purdom, C. E., D. Thompson, and Y. D. Lou, 1985. Genetic engineering in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson, by the suppression of meiotic and mitotic metaphase. J. Fish Biol. 27 : 72-79.
- Refstie, T., 1981. Tetraploid rainbow trout produced by cytochalasin B. Aquaculture 25 : 51-58.
- Refstie, T., J. Stoss, and E. Donaldson, 1982. Production of all female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) by diploid gynogenesis using irradiated sperm and cold shock. Aquaculture 29 : 67-82.
- Refstie, T., Y. Vassvik, and T. Gjedrem, 1977. Induction of polyploidy in salmon by cytochalasin B. Aquaculture 10 : 65-74.
- Romashov, D. D. and V. N. Belyaeva, 1964. Cytology of radiation gynogenesis and androgenesis in the loach (*Misgurnus fossilis* L.). Doklady Akademii Nauk SSSR Biological Science Section 157 : 503-506.
- Romashov, D. D. and V. N. Belyaeva,

1965. Increased yield of diploid gynogenetic loach larvae (*Misgurnus fossilis* L.) induced by temperature shock. Byulleten' Moskovskogo Obshchestva Ispytatelei Prirody Otdel Biologicheskii 70 : 93-104.
- Romashov, D. D., K. A. Golovinskaya, V. N. Belyaeva, E. D. Bakulina, G. L. Pokrovskaya, and N. B. Cherfas, 1960. Diploid radiation gynogenesis in fish. Biofizika 5 : 461-467.
- Romashov, D. D., N. I. Nikolyukin, V. N. belyaeva, and N. A. Timofeeva, 1963. Possibilities of producing diploid radiation-induced gynogenesis in sturgeons. Radiobiology 3 : 145-154.
- Romashov, D. D., V. N. Belyaeva, K. A. Golovinskaya, and A. A. Prokofeva-Belgovskaya, 1961. Radiation damage of fishes. P. 247-266 Radiation genetics. Publishing House of the Academy of Sciences USSR, Moscow.
- Rostand, J., 1934. Gynogenèse du crapaud par refroidissement de l'oeuf. Comptes Rendus des Seances de la Société de Biologie et de ses Filiales 115 : 1680-1681.
- Rostand, J., 1938. La parthénogenèse des vertébrés. Actualités Scientifique et Industrielles 651.
- Scheerer, P. D., G. H. Thorgaard, and J. E. Seeb. 1987. Performance and developmental stability of triploid tiger trout (brown trout ♀ × brook trout ♂). Trans. Amer. Fish. Soc. 116 : 92-97.
- Scheerer, P. D., G. H. Thorgaard, 1983. Increased survival in salmonid hybrids by induced triploidy. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 40 : 2040-2044.
- Scott, A. G., D. J. Penman, J. A. Beardman, and D. O. F. Skibinski. 1989. The "YY" supermale in *Oreochromis niloticus* (L.) and its potential in aquaculture. Aquaculture 78 : 237-251.
- Seiler, J., 1938. Ergebnisse aus der Kreuzung einer diploid parthenogenetischen *Solenokia triquetrella* mit Männchen einer bisexuellen Rasse. Revue Suisse de Zoologie 45 : 405-412.
- Sezaki, K., H. Kobayasi, and M. Nakamura, 1977. Size of erythrocytes in the diploid and triploid specimens of *Carassius auratus langsdorf*. Jap. J. Ichthy. 24 : 135-140.
- Shelton C. J., A. G. MacDonald, and R. Johnston, 1986. Induction of triploidy in rainbow trout using nitrous oxide. Aquaculture 58 : 155-159.
- Smith, L. T. and H. L. Lemoine. 1979. Colchicine-induced polyploidy in brook trout. Prog. Fish Cult. 41 : 86-88.
- Solar, I. I., E. M. Donaldson, and G. A. Hunter, 1984. Induction of triploidy in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) by heat shock, and investigations of early growth. Aquaculture 42 : 57-67.
- Stanley, J. G., 1976a. Production of hybrid androgenetic and gynogenetic grass carp and carp. Trans. Amer. Fish. Soc. 105 : 10-16.
- Stanley, J. G., 1976b. Female homogametry in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) determined by gynogenesis. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 33 : 1372-1374.
- Stanley, J. G. and K. E. Sneed, 1974. Artificial gynogenesis and its application in genetics and selective breeding of fishes. P. 526-536. In J. G. S. Blaxter, editor. The early life history of fish. Springer-Verlag, Berlin.
- Streisinger, G., C. Walker, N. Dower, D. Knauber, and F. Singer, 1981. Production of clones homozygous diploid zebra fish (*Brachydanio rerio*). Nature (London) 291 : 293-296.
- Streisinger, G., F. Singer, C. Walker, D. Knauber, and N. Dower, 1986. Segregation analyses and genecentromere

- distances in zebra fish. *Genetics* 112 : 311-319.
- Subteiny, S., 1958. The development of haploid and homozygous diploid frog embryos obtained from transplantation of haploid nuclei. *J. Exp. Zool.* 139 : 263-306.
- Svärdson, G., 1945. Chromosome studies on Salmonidae. Report of the Swedish state Institute of Freshwater Fisheries 23 : 1-151.
- Swarup, H. 1959a. Production of triploidy in *Gasterosteus aculeatus*. *J. Genet.* 56 : 129-142.
- Swarup, H. 1959b. Effect of triploidy on the body size, general organization and cellular structure in *Gasterosteus aculeatus* (L.). *J. Genet.* 56 : 143-155.
- Taniguchi, N., A. Kijima, T. Tamura, K. Takegami, and I. Yamasaki, 1986. Color, growth and maturation in ploidy-manipulated fancy carp. *Aquaculture* 57 : 321-328.
- Thorgaard, G. H., 1983. Chromosome set manipulation and sex control in fish. p.405-434 in: W. S. Hoar, D. J. Randall, and E. M. Donaldson, editors. *Fish physiology*, volume 9, part B. Academic Press, New York.
- Thorgaard, G. H. and G. A. E. Gall, 1979. Adult triploids in a rainbow trout family. *Genetics* 93 : 961-971.
- Thorgaard, G. H. and S. K. Allen, Jr., 1987. Chromosome manipulation and markers in fishery management. p.319-331 in N. Ryman and F. M. Utter, editors. *Population genetics and fisheries management*. University of Washington Press, Seattle.
- Thorgaard, G. H., F. W. Allendorf, and K. L. Knudsen, 1983. Gene-centromere mapping in rainbow trout : high interference over long map distances. *Genetics* 103 : 771-783.
- Thorgaard, G. H., M. E. Jazwin, and A. R. Stier, 1981. Polyploidy induced by heat shock in rainbow trout. *Trans. Amer. Fish. Soc.* 110 : 546-550.
- Thorgaard, G. H., P. D. Scheerer, and J. E. Parsons, 1985. Residual paternal inheritance in gynogenetic rainbow trout : implications for gene transfer. *Theor. Appl. Genet.* 71 : 119-121.
- Thorgaard, G. H., P. S. Rabinovitch, M. W. Shen, G. A. E. Gall, J. Propp, and F. M. Utter, 1982. Triploid rainbow trout identified by flow cytometry. *Aquaculture* 29 : 305-309.
- Trifonowa, A., 1931. Zur Frage der Parthenogenese und Hybridisation der Fische. *Zool. Anz.* 96 : 193.
- Trifonowa, A., 1934. Parthenogenese der Fische. *Acta Zool. (stockhl)* 15 : 183.
- Tsoy, R. M., 1972. Chemical gynogenesis of *Salmo irideus* and *Coregonus peled*. *Genetika* 8 : 185-188.
- Ueda, T., M. Kobayashi, and R. Sato, 1986. Triploid rainbow trout induced by polyethylene glycol. *Proc. Japan Acad.* 62B : 161-164.
- Ueda, T., R. Sato, and J. Kobayashi, 1988. Triploid rainbow trout induced by high-pH · high-calcium. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.* 54(11) 2045.
- Utter, F. M., O. W. Johnson, G. H. Thorgaard, and P. S. Rabinovich, 1983. Measurement and potential applications of induced triploidy in Pacific salmon. *Aquaculture* 35 : 125-135.
- Uyeno, T., and G. R. Smith, 1972. Tetraploid origin of the karyotype of catostomid fishes. *Science (Washington, D. C.)* 175 : 644-646.
- Valenti, R. J. 1975. Induced polyploidy in *Tilapia aurea* Steindachner by means of temperature shock treatment. *J. Fish Biol.* 7 : 519-528.
- Vasetzky, S. G. 1967. Change in the ploidy level of sturgeon larvae under temper-

- perature treatment of the eggs at different developmental stages. Doklady Akademii Nauk SSSR 172 : 1234-1237.
- Vasil'ev, V. D., A. P. Makeeva, and I. N. Ryabov, 1975. On the triploidy of remote hybrids of carp, *Cyprinus carpio* L., with other representatives of Cyprinidae. Genetika 11 : 49-56.
- Vassileva-Dryanovska, O. and R. Belcheva. 1965. Radiation gynogenesis in *Salmo irideus* Gibb. Comptes Rendus de l'Académie Bulgare des Sciences 18 : 359-362.
- Walker, C. and G. Streisinger, 1983. Induction of Mutations by γ -rays in pregonial germ cells of zebrafish embryos. Genetics 103 : 125-136.
- Walttendorf, R. J. 1986. Rapid identification of triploid grass carp with a coulter counter and channelyzer. Prog. Fish Cult. 48 : 125-132.
- Wiley, M. J., and L. D. Wike, 1986. Energy balances of diploid, triploid, and hybrid grass carp. Trans. Amer. Fish. Soc. 115 : 853-863.
- Wolters, W. R., C. L. Chrisman, and G. S. Libey, 1982a. Erythrocyte nuclear measurements of diploid and triploid channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Rafinesque). J. Fish Biol. 20 : 253-258.
- Wolters, W. R., G. S. Libey, and C. L. Chrisman, 1981. Induction of triploidy in channel catfish. Trans. Amer. Fish. Soc. 110 : 310-312.
- Wolters, W. R., G. S. Libey, and C. L. Chrisman, 1982. Effects of triploidy on growth and gonad development of channel catfish. Trans. Amer. Fish. Soc. 111 : 102-105.
- Wright, J. E., Jr., K. Johnson, A. Hallister, and B. May, 1983. Meiotic models to explain classical linkage, pseudolinkage, and chromosome pairing in tetraploid derivative salmonid genomes. p. 239-260 in : M. C. Rattazi, J. G. Scandalios, and G. S. Whitt. editors. Isozymes : current topics in biological and medical research. A. R. Liss, New York.