

碩士學位論文

성스테로이드 호르몬과 고수온 사육이
조피볼락, *Sebastes schlegeli*의
성분화에 미치는 영향



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY
濟州大學校大學院
水產生物學科

李治勳

1999年 12月

**Effects of Sex Steroid Hormone and High
Water Temperature on Sex Differentiation
in Rockfish, *Sebastes schlegeli***

Chi-Hoon Lee

(Supervised by Professor Young-don Lee)



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE**

**DEPARTMENT OF MARINE BIOLOGY
GRADUATE SCHOOL
CHEJU NATIONAL UNIVERSITY**

1999. 12.

성스테로이드 호르몬과 고수온 사육이
조피볼락, *Sebastes schlegeli*의
성분화에 미치는 영향

指導教授 李 榮 教

李 治 勳

이 論文을 理學 碩士學位 論文으로 提出함



李治勳의 理學 碩士學位 論文을 認准함

審査委員長 송 춘 복



委 員 노 석



委 員 이 영 돈



濟州大學校 大學院

1999年 12月

목 차

Abstract	1
I. 서 론	3
II. 재료 및 방법	5
III. 결 과	8
1. 원시생식소의 형성	8
2. 생식소의 외부형태	8
3. 성스테로이드 호르몬과 고수온 처리에 의한 성분화	8
1) 생식소발달	9
2) 성스테로이드 호르몬 처리	9
3) 고수온 처리	9
4) 성장	9
IV. 고 찰	20
V. 요 약	25
VI. 참고문헌	26
감사의 글	32

Abstract

This study was conducted to investigate effects on sex differentiation of sexually undifferentiated rockfish, *Sebastes schlegeli* by the treatment with 17β -estradiol (E_2), 17α -methyltestosterone (MT) and high water temperature ($27\pm 0.5^\circ\text{C}$).

Experimental fish (56 days after parturition) were placed into 100 ℓ circular tank, at a concentration of 100 individuals per tank, reared from 15 April to 26 June 1998. E_2 , MT and high water temperature were treated for 21 days from 56 days to 77 days after parturition. At 56 days after parturition, gonad was composed of only gonia cell in the matrix, sexually undifferentiated. Sex ratio of all experimental groups was analyzed at 128 days after parturition by histological examination of the gonads. Ovary of female was composed of ovarian cavity and ovarian lamella. The oogonia about $10\ \mu\text{m}$ in diameter and the peri-nucleolus oocytes of $20\sim 30\ \mu\text{m}$ in diameter were distributed in the ovarian lamella. Testis of male was composed of a large number of seminiferous tubules. The Spermatogonia of $10.0\sim 13.5\ \mu\text{m}$ in diameter were distributed in the seminiferous tubules and the pigment cell was scattered in the testis. Control groups were 48.4% in the female and 51.6% in male (approximately 1 : 1, $P>0.05$). In groups treated with 20, 40 and $60\ \mu\text{g/g}$ diet of E_2 , female was 75.0, 83.3 and 91.7%, respectively. The proportion of female was significantly higher than that in the control group ($P<0.001$). All groups teated with MT were 100% males. Group treated with high water temperature was 5% in female, 95% in male. The proportion of male was significantly higher than that in the control group ($P<0.001$). At 128 days after parturition, growth between

control, high water temperature and E₂ treated group was not significantly different (P>0.05) while growth of MT treated group was significantly different (P<0.05).



I. 서 론

어류의 성결정 양상은 이형성염색체를 가지는 경우에 따라 용성이형배우자(Male Heterogamety)와 자성이형배우자(Female Heterogamety)에 의하여 성이 결정되는 유전적 성결정(Genotypic Sex Determination)과 발생과정의 특정시기에 분비되는 성스테로이드의 작용을 받아 생화학적 과정을 거쳐서 성이 결정되는 생리적인 성결정(Physiological Sex Determination) 그리고 수정 이후 성적미분화 시기에 환경 요인 즉, 수온, pH, 사육밀도 및 영양상태 등 외부 환경요인에 의하여 성이 유도되는 환경적 성결정(Environmental Sex Determination)이 알려지고 있다(Yamazaki, 1983; Abucay *et al.*, 1999).

그러나, 최근에 들어 PCBs (Polychlorinated Biphenyls), 노닐페놀, 비스페놀 및 다이옥신 등 내분비장애물질(Endocrine Disrupter Chemicals)에 노출되었을 때에도 어류의 성결정에 영향을 미친다는 연구가 보고되고 있다(Howell *et al.*, 1980; Gray, *et al.*, 1997).

어류의 생리적 성전환을 유도한 연구는 Yamamoto(1953)가 송사리, *Oryzias latipes*를 대상으로 생리적인 성전환을 유도한 이후 이에 대한 많은 연구가 보고되고 있다. 예를 들어, 나일틸라피아, *Oreochromis niloticus*와 Pejerrey, *Odontesthes bonariensis*에 17β -estradiol을 경구 투여하여 높은 비율의 암컷을 유도한 바 있고(Kim *et al.*, 1993; strüssmann, *et al.*, 1996), Demska-Zakes와 Zakes(1997)는 Pikeperch, *Stizostedion lucioperca* 성분화에 있어 17α -methyltestosterone의 영향에 대한 연구를 보고하였다. 그리고 Estrone, Estriol, 11-ketotestosterone 및 17α -ethynyltestosterone 등의 성스테로이드 호르몬을 이용하여 어류의 생리적인 성전환을 유도한 연구가 보고되고 있다(Yamanoto, 1965; Jalabert *et al.*, 1975; Guerrero, 1975; Nakamura, 1981a).

그리고 외부환경 요인에 대한 연구는 Atherinids, *O. argentinensis* 와

*Patogonina hatcheri*의 성분화에 있어 수온이 미치는 영향을 조사하였고 (Strüssmann *et al.*, 1996), 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 성분화 기간 중 수온에 의한 성결정(Kim *et al.*, 1996) 등이 보고되고 있으며, Beamish (1993)은 Southern brook lamprey, *Ichthyomyzon gagei*의 성비가 성장, 사육밀도, pH 및 연중 수온에 의해 영향을 받는다고 보고하였다.

어류는 암·수의 성에 따라 성장률, 행동양식, 번식시기, 체색, 체형 및 크기 등의 차이가 있기 때문에, 종묘생산자나 양어가들은 생산성의 극대화를 이루기 위해 번식생물학적 또는 경제적인 전략에 의거 암·수를 분리 사육하거나 단성사육을 하려고 한다(Yamazaki, 1983). 어류의 성 제어(sex control)의 장점을 이용한 양식 어종의 사례를 보면, 암·수에 따라 성장의 차이가 있고 대형어일수록 경제적인 어종(예:넙치, *P. olivaceus*)이거나, 많은 난을 얻기가 어려운 어종(예:은어, *Plecoglossus altivelis*)에서 암컷의 생산을 늘리려 한다(Berner and Sager, 1985; Matsuyama and Matsuura, 1985). 또한 연어·송어류에서는 암컷의 난소 성숙에 따른 체력소모가 많기 때문에 대형 식용어를 양성할 경우 수컷 또는 불임 암컷을 생산하는 것이 경제적 가치가 높다(Parks and Parks, 1991; Donaldson, *et al.*, 1996). 이와 같은 현실에서 성전환 기법의 체계화가 요망되고 있지만, 자·웅의 성이나 성분화 과정이 어종에 따라 다양하기 때문에 실용성이 우수한 성전환 기법을 적용하는 예는 많지 않다.

따라서, 이 연구는 성적으로 미분화된 조피볼락, *S. schlegeli* 치어에 내분비적 요인으로 자성호르몬인 17β -estradiol과 웅성호르몬인 17α -methyltestosterone을 처리하였고, 외부환경요인으로 고수온 처리를 하여 성분화에 미치는 내·외적 요인을 번식 생물학적으로 조사하였다.

II. 재료 및 방법

실험어 및 사육

이 연구에 사용된 조피볼락 치어는 제주대학교 해양연구소에서 인위적 환경제어에 의해 1998년 2월 19일에 출산된 자어로서, 원뿔형 중앙 배수 장치를 한 FRP 원형수조(ϕ 300×90 cm)에서 사육하였으며, 먹이는 Rotifer, *Artemia nauplii* 및 배합사료를 성장 단계에 따라 조절하여 공급하였다.

실험어는 1998년 4월 5일(출산 후 46일)에 100 l (ϕ 60×30 cm) 원형수조로 옮겨 4월 14일까지 10일간 예비 사육하였고, 예비 사육기간 중 체형이 비정상적인 개체와 성장차이가 뚜렷한 개체를 선별 제거하였다. 실험어는 1998년 4월 15일(출산 후 56일)에 100 l (ϕ 60×30 cm) 원형수조에 각 실험구 당 100마리씩 수용하여 6월 26일까지 72일간 사육하였고, 실험은 2회 반복 수행하였다.

실험기간동안의 사육수온은 14~17.5℃이었다. 배설물은 원뿔형 중앙 배수 장치를 이용하여 우수 되는 동안 자동 배출되도록 하였고, 잔류물은 수시로 저면 청소를 하여 완전히 제거하였다.

성스테로이드 호르몬과 고수온 처리

성스테로이드 호르몬과 고수온 처리시기는 Lee 등(1996)의 성분화 결과를 참고하여 성분화가 일어나기 전 출산 후 56일(전장 2.71 ± 0.30 cm, 체중 0.28 ± 0.07 g)부터 출산 후 77일(전장 5.09 ± 0.41 cm, 체중 1.87 ± 0.42 g)까지 21일간이었다.

성스테로이드 호르몬은 17 β -estradiol (E_2 : Sigma, USA)과 17 α -methyltestosterone (MT: Sigma, USA)을 사용하였다. E_2 처리구는 각 처리구별로 사료 100 g에 E_2 2, 4, 및 6 mg을 혼합하여 경구 투여하였다. MT 처리구는 각 처리구별로 사료 100 g에 MT 2와 5 mg을 혼합하여 경구 투

여하였다. 호르몬 투여 방법은 각 처리구별로 호르몬을 99.9% ethyl alcohol (Hayman Ltd., U.K.) 10 mg에 용해한 후 사료에 흡착시켜 약 1시간 냉건시킨 후 냉장 보관하여 공급하였다. 대조구는 사료에 호르몬을 첨가하지 않은 동일량의 ethyl alcohol을 흡착시켜 공급하였다. 실험 사료 공급은 각 실험구별로 하루 13~15 g씩 일주일에 100 g을 유실되는 사료 없이 모두 공급하였고, 3주간 행하였다. 그 후에는 각 실험구별로 동일량의 일반 시판용 사료를 공급하였다.

고수온 처리구는 수온 변화에 대한 스트레스를 최소화하기 위해 처리 개시 이틀 전부터 사육 수온을 시간당 1~2℃씩 전기히터(1 kw)로 서서히 조절하여 27±0.5℃에서 사육하였다. 처리종료 후 6월 26일(출산 후 128일)까지 조직학적분석을 위해 수온 14~17.5℃로 계속 사육하였다.

성비분석

모든 실험구들의 성비는 출산 후 128일된 개체의 생식소를 조직학적으로 관찰하여 분석하였다. 생식소는 조직학적 관찰을 위해 Bouin's solution으로 고정시켰고, 자동조직파라핀유도기(Richertjung, Histokinett 2000)를 이용하여 파라핀 유도과정을 거쳐 5 μm로 절편을 만든 후 Hansen's Haematoxyline과 0.5% Eosin에 비교 염색하였다. 암·수는 생물현미경(Carl Zeiss, HBO 50)을 이용, 생식세포를 관찰하여 구분하였다.

성장

성장은 성스테로이드 호르몬과 고수온 처리시작(출산 후 56일), 처리종료(출산 후 77일) 그리고 성비분석(출산 후 128일) 시에 조사하였다. 측정 표본 수는 처리시작과 처리종료 시에 각 실험구마다 20마리씩, 성비분석 시에는 각 실험구마다 50마리씩 무작위 추출하여 전장과 체중을 각각 0.1 cm, 0.01 g 단위까지 측정하였다. 전장은 모눈종이를 이용하여 자체 제작한 측정 판을 이용하였고, 체중은 전자저울(Sartorius, BP 3100S)을 이용하여 측정하였다.

통계분석

실험결과의 성장은 Statistical Analysis (SAS Institute North Caroline, USA)를 이용하여 ANOVA-test를 실시한 후, Tukey's multiple range test로 평균간의 유의성을 검정하였으며, 성비는 χ^2 -test를 실시하였다.



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

Ⅲ. 결 과

1. 원시생식소의 형성

출산 후 56일된 전장 2.71 ± 0.3 cm, 체중 0.28 ± 0.07 g 개체들의 생식소는 후 복막 쪽에 체세포들의 무리가 곧봉상을 이루며 원시생식소(primitive gonad)를 형성하고 있다(Fig. 1-A). 그리고 직경 $11.25 \sim 13.75$ μm 크기의 생식원세포(gonial cell)들이 원시생식소 기질의 섬유성 간층직 사이에 분포하고 있다(Fig. 1-B).

2. 생식소의 외부형태



제주대학교 중앙도서관
JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRARY

출산 후 128일된 전장 8.6 ± 0.45 cm, 체중 9.8 ± 1.43 g 개체들의 생식소를 절취하여 처리구와 대조구를 비교 관찰하였을 때, 생식소의 외부형태가 기형인 개체들은 없었고, 흑색색소가 침착된 생식소와 침착 안된 생식소로 구분되었다. 생식소를 조직학적으로 관찰한 결과 흑색색소가 침착된 것은 정소, 흑색색소가 없는 것은 난소로 분화되어 육안으로 암·수의 식별이 가능하였다(Fig. 1-C).

3. 스테로이드 호르몬과 고수은 처리에 의한 성분화

1) 생식소발달

출산 후 128일된 전장 8.6 ± 0.45 cm, 체중 9.8 ± 1.43 g 개체들의 생식소를 조직학적으로 관찰한 결과 처리구와 대조구의 생식소 발달양상이 유사하였다. 정소는 많은 곡정세관으로 이루어 졌고, 이들 세관 내에는 10~13.5 μm 의 정원세포들이 무리를 지어 분포하고 있다. 그리고 정소의 수질층과 기부에는 흑색 색소포들이 드문드문 분포하고 있다(Fig. 1-D). 난소는 난소박판이 여러 개로 분기하여 발달하고 있으며 이들 난소박판의 용기부에는 10 μm 내외의 난원세포 무리들과 난경 20~30 μm 의 주변인기단계의 초기 난모세포들이 분포하고 있다(Fig. 1-E).

2) 성스테로이드 호르몬 처리

성스테로이드 호르몬 처리에 의한 성비 결과는 Fig. 2와 Table 1, 2와 같다. 대조구는 암컷이 48.4%, 수컷이 51.6%로 1 : 1이었다($P > 0.05$). 반면에, E₂ 20, 40 및 60 $\mu\text{g/g}$ diet 처리구에서 암컷이 각각 75.0, 83.0 및 91.7%로 대조구에 비해 우세하였고($P < 0.001$), 암컷의 비율이 호르몬의 처리농도가 증가할수록 높게 나타났다. 모든 MT 처리구는 전 개체가 수컷으로 분화되었고, 호르몬 처리농도에 따른 수컷 비율의 차이는 없었다.

3) 고수온 처리

고수온 처리에 의한 성비 결과는 Fig. 2와 Table 3과 같다. 17.5°C에서 사육한 대조구는 암컷과 수컷의 성비가 각각 48.4와 51.6%로 1 : 1이었다($P > 0.05$). 반면에, $27 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 사육한 처리구는 암컷과 수컷의 성비가 각각 5.0과 95.0%로 대조구에 비해 수컷이 우세하였다($P < 0.001$).

4)성장

성스테로이드 호르몬과 고수온 처리시작(출산 후 56일), 처리종료(출산 후 77일) 그리고 성비분석(출산 후 128일) 시에 성장을 측정된 결과는 Fig. 3, 4와 Table 4, 5와 같다. 각 실험구별로 성장 결과를 비교해 보면, 처리시작(출산 후 56일) 시에 전장은 E₂ 20, 40 및 60 $\mu\text{g/g}$ diet 처리구에서 각각

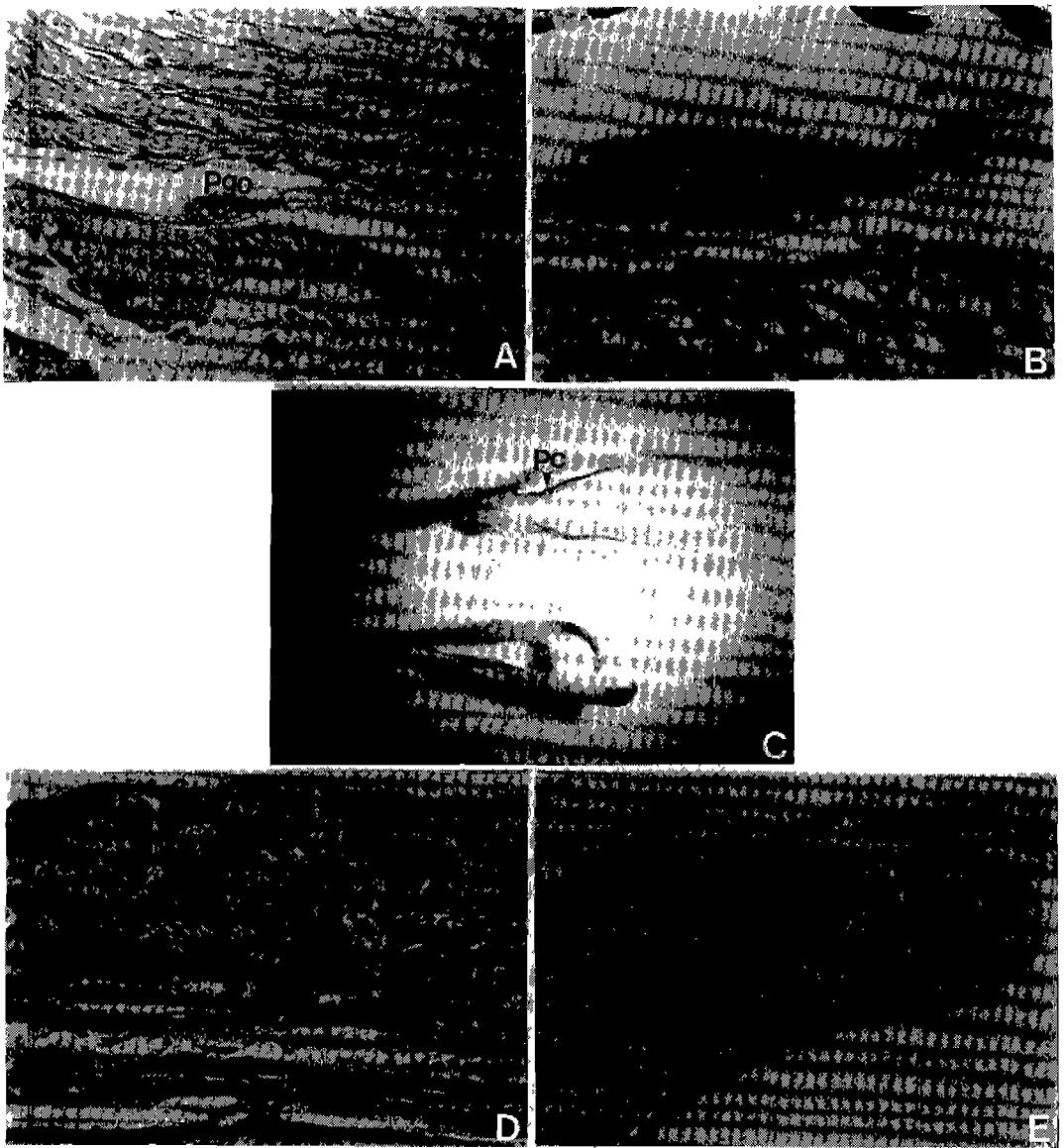


Fig. 1 Sagittal section and external appearance gonad of the rockfish, *S. schlegeli*.

(A) The larva, 56 days after parturition. The gonial cell (Gc) and clubbed primitive gonad (Pg) formed to the retro-peritonium. Scale bar=100 μm . (B) This micrograph magnified the gonial cell (Gc) of the primitive gonad. Scale bar=25 μm . (C) The juvenile, 128 days after parturition. External appearance of gonad (top; testis, bottom; ovary). Testis was covered on the exterior with pigment cell (Pc). Scale bar=1.7 mm. (D) The juvenile, 128 days after parturition. A number of spermatogonia (Sg) and seminiferous tubules (St) appeared in the testis. The pigment cell (Pc) was scattered through testis. Scale bar=25 μm . (E) The juvenile, 128 days after parturition. The early growing oocytes (Oc) were distributed in the ovarian lamella. Scale bar=100 μm .

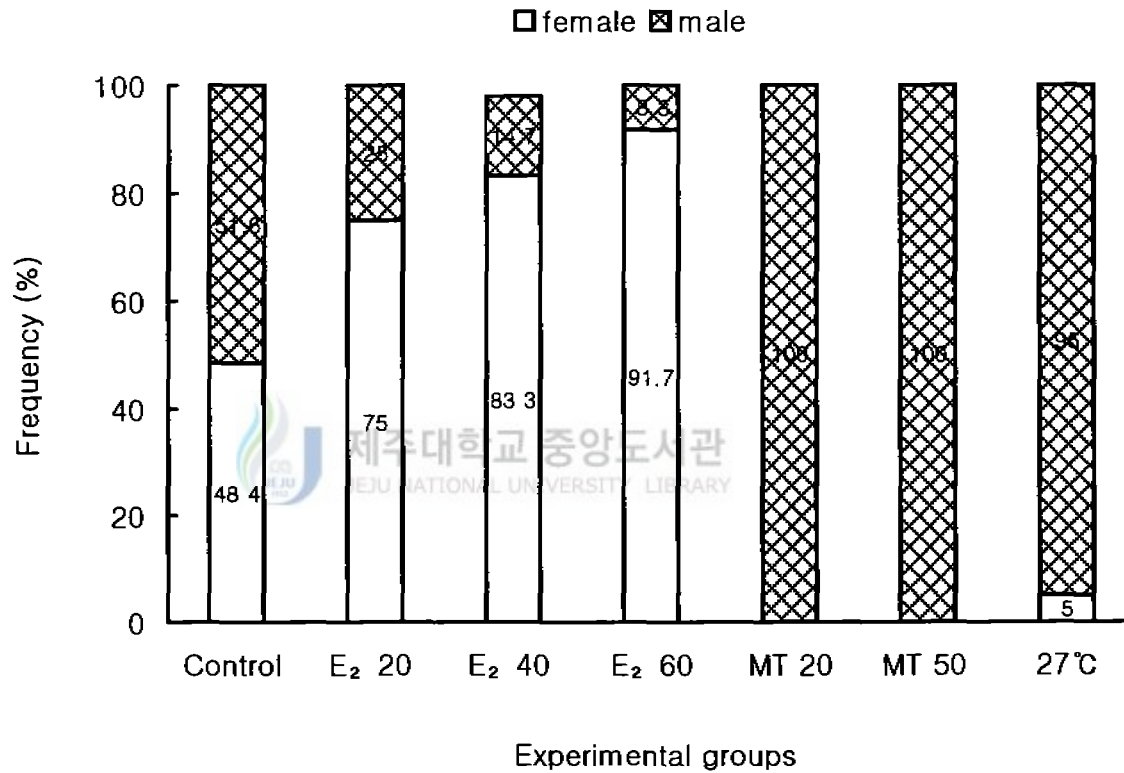


Fig. 2. Effects of sex steroid hormone ($\mu\text{g}/\text{g}$ diet) and high water temperature (27°C) on the resulting sex proportion in juvenile rockfish, *S. schlegeli*.

Table 1. Effect of oral administration of 17β -estradiol (E_2) on sex differentiation of rockfish, *S. schlegelii*

Steroid Conc. ($\mu\text{g/g}$ diet)	No. of fish treated	No. of fish survived	No. of fish examined	ovary	testis	Frequency of female(%)
Control	200	171	60	29	31	48.4
E_2 20	200	164	60	45	15	75*
E_2 40	200	170	60	50	10	83*
E_2 60	200	171	60	55	5	91.7*

Asterisks indicates significant differences in the proportion of females ($P < 0.001$) of treated groups with respect to the control group.

Table 2. Effect of oral administration of 17α -methyltestosterone (MT) on sex differentiation of rockfish, *S. schlegelii*

Steroid Conc. ($\mu\text{g/g}$ diet)	No. of fish treated	No. of fish survived	No. of fish examined	ovary	testis	Frequency of male(%)
Control	200	171	60	29	31	51.6
MT 20	200	164	60	-	60	100*
MT 50	200	174	60	-	60	100*

Asterisks indicates significant differences in the proportion of males ($P < 0.001$) of treated groups with respect to the control group.

Table 3. Effect of high water temperature on sex differentiation of rockfish, *S. schlegeli*

Rearing temperature	No.of fish treated	No. of fish survived	No. of fish examined	ovary	testis	Frequency of male(%)
17.4℃	200	171	60	29	31	51.6
27℃	200	164	60	3	57	95*

Asterisks indicates significant differences in the proportion of males ($P < 0.001$) of treated groups with respect to the control group.

2.72±0.39, 2.76±0.30 및 2.67±0.28 cm, MT 20과 50 µg/g diet 처리구에서 2.76±0.31과 2.77±0.31 cm, 고수온 처리구에서 2.68±0.21 cm, 대조구에서 2.66±0.27 cm로 유의차가 없었다(P>0.05). 그리고 처리종료(출산 후 77일) 시에 전장은 E₂ 20, 40 및 60 µg/g diet 처리구에서 각각 4.89±0.42, 5.34±0.42 및 5.24±0.31 cm, MT 20과 50 µg/g diet 처리구에서 각각 5.06±0.43과 5.11±0.38 cm, 고수온 처리구에서 4.96±0.35 cm, 대조구에서 5.06±0.52 cm로 처리시작 시와 마찬가지로 유의차가 없었다(P>0.05). 그러나 성비분석(출산 후 128일) 시에 전장은 E₂ 20, 40 및 60 µg/g diet 처리구에서 각각 8.76±1.03, 9.12±0.92 및 8.95±1.08 cm, MT 20과 50 µg/g diet 처리구에서 7.95±0.89와 8.02±1.03 cm, 고수온 처리구에서 8.56±0.94 cm, 대조구에서 8.86±0.77 cm로 E₂ 40 µg/g diet 처리구를 제외하고는 대조구, 고수온 처리구 및 E₂ 처리구간 개체들 전장에는 유의차가 없었지만(P>0.05), MT 처리구는 모든 실험구들간에 유의차가 있었다(P<0.05).

처리시작(출산 후 56일) 시에 체중은 E₂ 20, 40 및 60 µg/g diet 처리구에서 각각 0.29±0.09, 0.29±0.07 및 0.28±0.06 g, MT 20과 50 µg/g diet 처리구에서 각각 0.28±0.07과 0.28±0.07 g, 고수온 처리구에서 0.27±0.06 g, 대조구에서 0.27±0.06 g으로 유의차가 없었다(P>0.05). 처리종료(출산 후 77일) 시에 체중은 E₂ 20, 40 및 60 µg/g diet 처리구에서 각각 1.69±0.31, 2.05±0.56 및 2.07±0.42 g, MT 20과 50 µg/g diet 처리구에서 각각 1.83±0.44와 1.79±0.36 g, 고수온 처리구에서 1.85±0.38 g, 대조구에서 1.83±0.48 g으로 유의차가 없었다(P>0.05). 그러나 성비분석(출산 후 128일) 시에 체중은 E₂ 20, 40 및 60 µg/g diet 처리구에서 각각 10.78±3.09, 11.19±3.05 및 10.71±3.48 g, MT 20과 50 µg/g diet 처리구에서 각각 7.83±2.58과 7.74±2.21 g, 고수온 처리구에서 9.97±3.18 g, 대조구에서 10.51±2.67 g으로 E₂ 처리구, 고수온 처리구 및 대조구에서는 유의차가 없었지만(P>0.05), MT 처리구는 전장과 마찬가지로 모든 실험구들간에 유의차가 있었다(P<0.05).

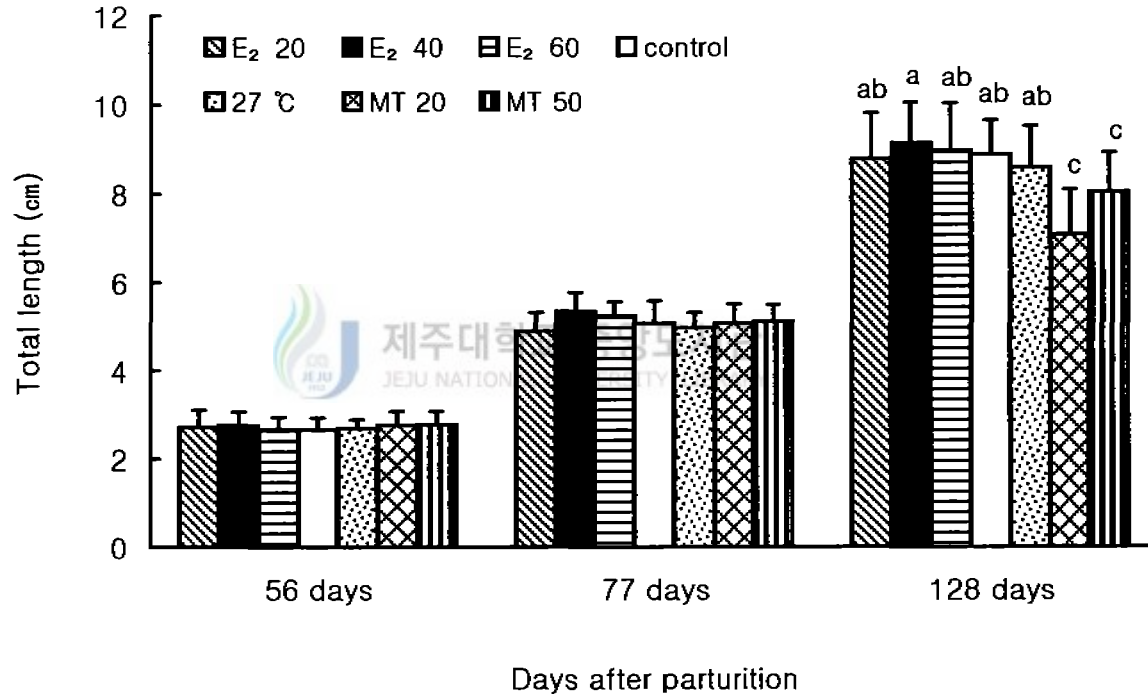


Fig. 3. Change of the total length of the sex steroid hormone ($\mu\text{g/g}$ diet) and high water temperature (27°C) treated groups and untreated control group. Within each sampling, groups with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

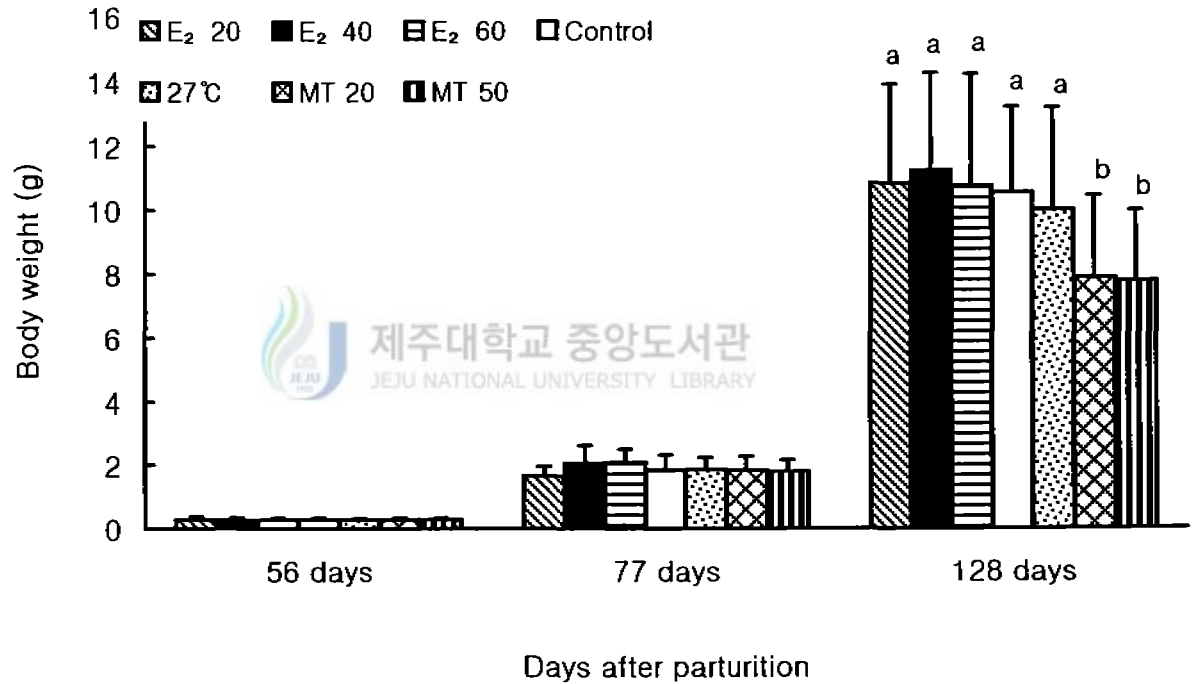


Fig. 4. Change of the body weight of the sex steroid hormone ($\mu\text{g}/\text{g}$ diet) and high water temperature (27°C) treated groups and untreated control group. Within each sampling, groups with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

Table 4. Effect of sex steroid hormone ($\mu\text{g/g}$ diet) and high water temperature (27°C) total length of rockfish, *S. schlegeli*

Exp. groups	No. of fish teated	No. of fish survived	parturition 56d ays	parturition 77 days	prrturition 128 days
Control	200	171	2.66 ± 0.27	5.06 ± 0.52	8.86 ± 0.77^{ab}
E ₂ 20	200	164	2.72 ± 0.39	4.89 ± 0.42	8.76 ± 1.03^{ab}
E ₂ 40	200	170	2.76 ± 0.30	5.34 ± 0.42	9.12 ± 0.92^a
E ₂ 60	200	171	2.67 ± 0.28	5.24 ± 0.31	8.95 ± 1.08^{ab}
27°C	200	164	2.68 ± 0.21	4.96 ± 0.35	8.56 ± 0.94^b
MT 20	200	164	2.76 ± 0.31	5.06 ± 0.43	7.95 ± 0.89^c
MT 50	200	174	2.77 ± 0.31	5.11 ± 0.38	8.02 ± 1.03^c

Mean within a column superscripted with different letters are significantly different($P < 0.05$).

Table 5. Effect of sex steroid hormone ($\mu\text{g/g}$ diet) and high water temperature (27°C) on body weight of rockfish, *S. schlegelii*

Exp. groups	No. of fish teated	No. of fish survived	parturition 56d ays	parturition 77 days	prrturition 128 days
control	200	171	0.27 ± 0.06	1.83 ± 0.48	10.51 ± 2.67^a
E ₂ 20	200	164	0.29 ± 0.09	1.69 ± 0.31	10.78 ± 3.09^a
E ₂ 40	200	170	0.29 ± 0.07	2.05 ± 0.56	11.19 ± 3.05^a
E ₂ 60	200	171	0.28 ± 0.06	2.07 ± 0.42	10.71 ± 3.48^a
27°C	200	164	0.27 ± 0.06	1.85 ± 0.38	9.97 ± 3.18^a
MT 20	200	164	0.28 ± 0.07	1.83 ± 0.44	7.83 ± 2.58^b
MT 50	200	174	0.28 ± 0.07	1.79 ± 0.36	7.74 ± 2.21^b

Mean within a column superscripted with different letters are significantly different ($P < 0.05$).

IV. 고 찰

이 연구는 조피볼락의 성분화에 미치는 내·외적 요인을 조사하기 위해 성적 미분화시기에 내분비적 요인으로 자성호르몬인 17β -estradiol (E_2)와 옹성호르몬인 17α -methyltestosterone (MT)를 사료에 혼합 경구투여 하였고, 외부 환경요인 중 수온에 의한 영향을 분석하기 위해 고수온 처리($27\pm 0.5^\circ\text{C}$)를 하였다. .

Yamamoto(1953)가 송사리, *O. latipes*의 성전환에 관한 일련의 연구 결과를 발표한 후, 어류의 성전환 연구가 많이 이루어지고 있다. 현재 어류의 성 제어는 연어, *Oncorhynchus keta*, 송어, *Oncorhynchus kisuth* 및 넙치, *P. olivaceus* 등에서 산업적 응용이 가능한 단계에 이르고 있다(Jalaber *et al.*, 1975; Yamazaki, 1976; Goetz *et al.*, 1979). 그리고 현재까지 개발된 어류의 성전환 유도 방법은 성스테로이드 호르몬을 사료에 섞어 경구 투여하는 방법(oral administration)과 사육수에 호르몬을 희석하여 처리하는 방법(Immersion method) 및 호르몬을 복강내 주입하는 방법 그리고 수온 조작에 의한 방법 등이 있다(Blázquez, *et al.*, 1995; Tan-Fermin, 1994; Patiño, 1996).

어류의 성전환에 영향을 미치는 여러 요인 중 호르몬의 처리 개시 시기와 처리기간, 처리하는 호르몬의 종류, 농도 및 처리 방법 등은 성분화와 관계되어 매우 중요시되고 있다(Yamazaki, 1983; Hunter and Donaldson, 1983). 수컷을 유도하는 옹성호르몬 종류는 크게 생체내 대사계에 존재하는 11-ketotestosterone, testosterone, androstendion 및 androsterone 등의 천연호르몬과 생체내 대사계에 존재하지 않는 methylandrostenodil, 17α -methyltestosterone 및 19-morethynyltestosterone 등의 합성호르몬이 있다. 많은 연구자들은 송사리, *O. latipes*를 대상으로 AD_{50} (처리 시 50% 수컷으로 성전환 되는 먹이 1 g중의 호르몬 농도)을 구하여 양자의 성전환 효과를 비교하였다. 이 연구 결과에 따르면 17α -methyltestosterone과 19-

morethynyltestosterone의 AD₅₀은 각각 15와 1 μg 인데 반해, 천연호르몬인 androstendion과 androsterone의 AD₅₀은 각각 500과 580 μg 으로 합성호르몬이 천연호르몬보다 강한 성전환 효과를 보였다. 이처럼 합성호르몬이 천연호르몬보다 강한 성전환 효과가 나타나는 이유는 합성호르몬을 분해하는 효소가 간장내에 존재하지 않는 것으로 보고되고 있으나 아직까지 확실히 밝혀지지 않고 있다(Hishida and Kawamoto, 1970; Kawamoto, 1969; Yamamoto and Onitake, 1975). 이외에도 MT를 이용하여 음성화를 유도한 연구에서는 금붕어, *Carassius auratus*, *Tilapia mossambica* 및 *T. aurea*에 각각 25, 30 및 60 mg/kg diet의 농도로 MT를 경구 투여하였을 때 100% 수컷으로 전환되었다는 결과가 보고되고 있다(Yamamoto and Kajishima, 1968; Clemens and Inslee, 1968; Guerrero, 1975). 이처럼 MT가 수컷 유도자(male inducer)로 널리 사용되어 효과가 있는 것으로 보고되고 있으나, 고농도의 MT 처리시 aromatase효소에 의해 자성화 현상이 나타난다는 연구도 보고되고 있다(Goudie *et al.*, 1983). 그리고 Nakamura(1975)는 *T. mossambica*에 1,000 $\mu\text{g/g}$ 의 고농도로 MT를 처리한 경우 100% 수컷이 유도되지 않았고, 반면에 50 $\mu\text{g/g}$ 의 저농도로 MT를 처리한 경우 100% 수컷이 유도되었다. 그러나 Hackmann(1974)는 *Hemihaplochromis multicolor*에 11-ketotestosterone을 250, 500 및 1,000 $\mu\text{g/l}$ 의 저농도로 침적 처리하였을 때, 생식소의 음성화가 일어나지 않았다고 보고하였다. 이 연구에서 조피볼락, *S. schlegeli*을 대상으로 MT 20과 50 $\mu\text{g/g}$ diet의 농도로 경구 투여하였을 때, 처리구 전 개체가 수컷으로 유도되었다. 이런 연구 결과의 차이는 호르몬의 종류, 처리 방법 및 처리 농도 또는 종 특이적인 차이에 의한 것이라 사려된다.

Yamamoto(1969)는 자성호르몬의 종류별로 송사리에 처리하여 암컷을 유도하는데 필요한 유효농도를 구하여 비교하였다. 이 연구 결과에 따르면 합성호르몬의 일종인 hexestrol, euvestin 및 ethynylestradiol를 처리하였을 때, 송사리의 반수가 암컷으로 성전환 되는데 필요한 사료 1 g중의 호르몬 농도가 각각 0.4, 0.8 및 1.7 μg 이었다. 그런데, 생체내에서 합성되는 17 β -estradiol, estron 및 estriol은 각각 5.8, 20.0 및 13.0 μg 으로 음성호르몬과

마찬가지로 합성호르몬이 천연호르몬보다 자성화에 효과가 높다고 보고하고 있다. 그 이유로서 옹성호르몬과 마찬가지로 합성 자성호르몬이 생체내에서 분해되기 어렵기 때문이라고 생각되지만 확실히 밝혀지지는 않고 있다. 이외에도 E₂를 처리하여 자성화를 유도한 연구에서는 *Salvelinus fontinalis*에 20 mg/kg diet 농도로 경구 투여한 결과 100% 암컷이 유도되었으며 (Johnstone *et al.*, 1978), Goetz 등(1979)은 *Coho salmon*에 침적처리와 10 mg/kg diet 농도로 경구 투여를 병행하여 효과적인 자성개체를 만들었다. Nakamura (1981b)는 *Masu salmon*의 자어를 0.5~5 µg/l 농도에 18일 동안(부화 후 5일부터) 침적처리 한 결과 100% 암컷을 유도하였고, Kim 등(1993)은 부화 후 7일된 나일틸라피아, *O. niloticus*의 자어에 30일간 E₂를 60, 120, 240 및 480 mg/kg diet의 농도로 경구 투여하였을 때, 90% 이상의 높은 암컷 유도를 보였고, 특히 480 mg/kg diet의 농도에서는 조사된 모든 어류가 암컷으로 나타났다. 그리고 480 mg/kg diet 농도에서 처리 시간 10, 20 및 30일에 따른 성전환 유도율은 각각 64.2, 84.3 및 100%를 보여 처리 시간이 길어질수록 암컷 유도율이 높게 나타났다고 보고하였다. 이 연구에서도 조피볼락, *S. schlegeli*을 대상으로 E₂를 20, 40 및 60 µg/g diet의 농도로 경구 투여한 결과 암컷이 각각 75.0, 83.3 및 91.7%로 Kim 등(1993)의 연구와 마찬가지로 호르몬의 농도가 증가할수록 암컷비가 높게 나타났다.

어류의 성결정에 영향을 미치는 외부 환경요인 중 수온에 관한 연구로 넓치, *P. olivaceus*를 대상으로 부화 후 35일부터 100일까지 사육 수온을 18, 21, 24 및 27℃로 조절하였을 때, 암컷의 비율이 수온이 증가할수록 일정하게 낮아지는 결과를 보였고(Kim *et al.*, 1996), 특히 Pejerrey, *O. bonarienses*의 경우 성분화의 임계시기에 저수온 혹은 고수온으로 사육한 결과, 각각 100% 암컷과 수컷이 생산되었다(Strüssmann and Patiño, 1995; Strüssmann *et al.*, 1996). 그리고 Atlantic silverside, *Menidia menidia*에서도 알에서부터 전장 30 mm까지 수온조건을 달리하여 사육한 결과 저수온 사육시 암컷비가 높고, 역으로 고수온 사육시 수컷비가 높은 결과를 보였다(Conover and Fleisher, 1986). 이 연구에서도 출산 후 56일부터 77일까

지 조피볼락을 대상으로 $27 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 사육한 결과, 95.0% 수컷이 유도되었다. Hunter 와 Donaldson (1983)은 이러한 이유를 고수온 처리와 같은 외부환경의 쇼크가 정상적인 성분화의 발달을 방해하거나 호르몬의 활성이나 호르몬의 구조에 영향을 미쳐 성비의 차가 난다고 보고하고 있다. 그러나 Strüssmann 등(1996)은 *P. hatcheri*을 18, 21 및 25°C 로 사육하였을 때 성비가 정확히 1 : 1의 비율은 보이지 않았지만, 각 처리구마다 유의차가 없다고 보고하고 있어, 어류의 성결정이 환경적인 성결정을 보이는 어종도 있는 반면에 강력한 유전적 성결정을 하는 어종도 있다는 것을 시사하고 있다.

이 연구의 각 실험구들 성장에 있어 E_2 40 $\mu\text{g/g}$ diet의 처리구가 전장 9.12 ± 0.92 로 가장 컸지만 대조구와 E_2 처리구간에는 유의차가 없었고($P > 0.05$), 고온 처리구의 경우 대조구와 E_2 20과 60 $\mu\text{g/g}$ diet의 처리구에서는 유의차가 없었지만($P > 0.05$), E_2 40 $\mu\text{g/g}$ diet 처리구와는 유의차가 있었다($P < 0.05$). 그리고 MT 처리구는 모든 실험구와 유의차가 있었다($P < 0.05$). 체중의 경우 전장과 마찬가지로 E_2 40 $\mu\text{g/g}$ diet 처리구가 11.19 ± 3.05 로 가장 컸지만, E_2 처리구, 대조구 및 고온처리구간에는 유의차가 없었고($P > 0.05$), MT 처리구는 모든 실험구와 유의차가 있었다($P < 0.05$). Pheleps 등(1992)은 나일틸라피아에 fluoxymesterone 처리시 성장이 저해되었다는 결과를 보고하였고, 또 Kim 등(1993)은 나일틸라피아에 E_2 처리시 농도가 높을수록 성장이 둔화되었다고 보고하고 있다. 그러나 이 연구에서는 E_2 처리구와 대조구간에는 유의차가 없어 E_2 가 조피볼락의 성장에 나쁜 영향을 끼치지 않는 것으로 사려된다. 그리고 Demaska-Zakes와 Zakes(1997)는 Pikeperch, *S. lucioperca*에 MT를 처리하였을 때, 대조구보다 낮은 성장률을 보인다고 보고하였으며, 이 연구에서도 MT 처리구가 대조구와 비교시 낮은 성장을 보였다. 이처럼 MT 처리구가 E_2 처리구와 고온처리구간에 성장에 있어 유의차가 있는 것은 암·수에 따른 성장 차이보다 호르몬에 의한 영향 때문이라 생각된다.

최근 몇몇 연구자들은 비포유류종의 성분화시 aromatase 효소의 기능에 대한 연구를 보고하였다. 이들 연구 결과에 따르면 생식소 성분화의 임

제시기에 자성화 유도를 위한 수은노출 그리고 인자형 암컷에 있어 효소의 활성이 증가되며, 성결정 기작에 상관없이 생식소 성분화 조절에 관여한다고 제시하고 있다(Chardard *et al.*, 1995; Desvages *et al.*, 1993; Pieau *et al.*, 1994). 특히, 이 효소는 정소의 분화에 직접 작용하는 androgen의 생산을 방해하거나(Yu *et al.*, 1993), 난소의 분화에 직접 작용하는 estrogen을 생산해 낸다고 제시하고 있다(Rhen and Lang, 1994). 그러나 어류에 있어 생식소 성은 성스테로이드 호르몬 처리에 의해 쉽게 변화되며, 몇몇 경골 어류에서 용성화 호르몬의 효력과 관계 있는 특이 스테로이드와 결합하는 androgen 수용체가 난소 내에 있다고 보고하고 있다. 그리고 이들은 어류의 양성이 성스테로이드 호르몬의 직접적인 작용에 의해 조절된다고 제시하고 있다(Fitzpatrick *et al.*, 1994). 따라서, 어류의 성결정 기작에 대한 정확한 규명을 위해 외부환경요인과 성스테로이드 호르몬이 미분화 생식소의 어떤 세포에 어떻게 작용하는지 앞으로 더 많은 연구가 이루어져야 될 것으로 사려된다.



V. 요약

이 연구는 조피블락, *S. schlegeli*의 성적미분화 시기에 17β -estradiol (E_2)과 17α -methyltestosterone (MT) 그리고 고수온($27\pm 0.5^\circ\text{C}$)을 처리하여 성분화에 미치는 영향을 번식생물학적으로 조사하였다.

실험어는 출산 후 56일된 개체를 100 l 원형수조에 100 마리씩 수용하여 4월15일부터 6월 26일까지 72일간 사육하였고, E_2 와 MT 그리고 고수온 처리는 출산 후 56일에서 77일까지 21일간 처리하였다. 출산 후 56일된(전장 2.71 ± 0.3 cm, 체중 0.28 ± 0.07 g) 개체들의 생식소는 기질에 생식원세포들만이 분포하고 있어 성적으로 미분화 상태였다. 모든 실험구들의 성비는 출산 후 128일된 개체들의 생식소를 조직학적으로 관찰하여 분석하였다. 암컷의 난소는 난소강과 난소박판이 여러 개로 분기하였고 이들 난소박판의 융기부에는 약 10 μm 의 난원세포의 무리들과 20~30 μm 의 주변인기단계의 초기 난모세포들이 분포하고 있다. 수컷의 정소는 많은 곡정세관으로 이루어 졌고, 이들 세관내에 10.0~13.5 μm 의 정원세포들이 무리를 지어 분포하고 흑색 색소포들이 정소의 수질층과 기부에서 드문드문 분포하고 있었다. 대조구는 암컷 48.4%, 수컷 51.6%로 1 : 1 ($P > 0.05$)이었다. 반면에, 20, 40 및 60 $\mu\text{g/g}$ diet의 E_2 처리구에서 암컷이 각각 75.0, 83.3 및 91.7 %로 대조구에 비해 우세하였다 ($P < 0.001$). 모든 MT 처리구는 전 개체가 수컷으로 되었고, 고수온 처리구($27\pm 0.5^\circ\text{C}$)에서는 암컷 5.0%, 수컷 95.0%로 수컷이 대조구에 비해 우세하였다 ($P < 0.001$). 출산 후 128일된 개체에서, E_2 처리구, MT 처리구, 고수온 처리구 그리고 대조구의 성장을 비교하면, MT 처리구가 유의하게 성장이 낮았다($P < 0.05$).

VI. 참고문헌

- Abucay, J. S., G. C. Mair, D. O. F. Skibinski and J. A. Beardmore. 1999. Environmental sex determination: the effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 173 : 219-234.
- Beamish, F. W. H. 1993. Environmental sex determination in southern brook lamprey, *Ichthyomyzon gagei*. *Can. J. Fish. Aqua. Sci.*, 50(6) : 1299-1307.
- Berner, M. and G. Sager. 1985. Investigations of growth in length and weight, growth increase and weight-length relationship of the sexes of the flounder (*Paralichthys flesus* L.) in the Bornholm Basin after data series from Berner. *Fisherei-Forschung*, 23(1) : 36-42.
- Blázquez, M., F. Piferrer, S. Zanuy, M. Carrillo and E. D. Donaldson. 1995. Development of sex control techniques for European sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. aquaculture: effects of dietary 17 α -methyl-testosterone prior to sex differentiation. *Aquaculture*, 135 : 329-342.
- Chardard, D., G. Desvages, C. Pieau and C. Dournon. 1995. Aromatase activity in larval gonads of *Pleurodeles waltl* (Urodele Amphibia) during normal sex differentiation and during sex reversal by thermal treatment. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 99 : 100-107.
- Clemens, H. P. and T. Inslee. 1968. The production of unisexual broods by *Tilapia mossambica* sex-reversed with methyltestosterone. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 97(1) : 18-21.
- Conover, D. O. and M. H. Fleisher. 1986. Temperature-sensitive period of sex determination in Atlantic silverside, *Menidia menidia*, *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 43 : 514-520.

- Demaska-Zakes, K. and Z. Zakes. 1997. Effect of 17α -methyltestosterone on gonadal differentiation in pikeperch, *Stizostedion lucioperca* L. Aquaculture Research, 28 : 59-63.
- Desvages, G., M. Girondot and C. Pieau. 1993. Sensitive stages for the effects of temperature on gonadal aromatase activity in embryos of the marine turtle *Dermochelys coriacea*. Gen. Comp. Endocrinol., 92 : 54-61
- Donaldson, E. M., R. H. Devlin and F. Piferrer. 1996. Hormones and sex control in fish with particular emphasis on salmon. Asian fisheries science. Metro Manila [Asian Fish. Sci.], 9(1) : 1-8.
- Fitzpatrick, M. S., W. L. Gale and C. B. Schreck. 1994. Binding characteristics of an androgen receptor in the ovaries of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Gen. Comp. Endocrinol., 95 : 399-408.
- Goetz, F. W., E. M., Donaldson, G. A. Hunter and H. M. Dye. 1979. Effects of estradiol- 17β and 17α -methyltestosterone on gonadal differentiation in the coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Aquaculture, 17 : 267-278.
- Goudie, C. A., B. D. Render, B. A. Simco and K. B. Davis. 1983. Feminization of channel catfish by oral administration of steroid sex hormones. Trans. Am. Fish. Soc., 112 : 670-672.
- Gray, M. A. and C. D. Metcalf. 1997. Induction of testis-ova in Japanese medaka, *Oryzias latipes* exposed to *p*-nonylphenol. Environ. Toxicol. Chem. 16 : 1082-1086.
- Guerrero III, R. D. 1975. Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). Trans. Am. Fish. Soc., 2 : 342-348.
- Hackmann, E. and R. Reinboth. 1974. Delimitation of the critical stage of hormone-influenced sex differentiation in *Hemihaplochromis multicolor* (Hilgendorf) (Cichlidae). Gen. Comp. Endocrinol., 22 : 42-53.
- Hishida, T. and N. Kawamoto. 1970. Androgenic and male-inducing

- effects of 11-ketotestosterone on a teleost, the medaka, *Oryzias latipes*. J. Exp. Zool., 173 : 279-283.
- Howell, W. M., D. A. Black and S. A. Bortone 1980. Abnormal expression of secondary sex characters in a population of mosquitofish, *Gambusia affinis holbrooki* : Evidence for environmentally-induced masculinization. Copeia, 4 : 676-681.
- Hunter, D. A. and E. M. Donaldson. 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture. In : Fish Physiology (Hoar *et al.*, eds.), Vol. IX(B), pp. 203-303. Academic Press, New York.
- Jalabert, B., R. Billard and B. Chevassus. 1975. Preliminary experiments on sex control in trout: production of sterile fishes and simultaneous self-fertilizable hermaphrodites. Ann. Biol. Anim. Biochim. Biophys., 15 : 19-28.
- Johnstone, R., T. H. Simpson and A. F. Walker. 1978. Sex reversal in salmonid culture. Part III. The reproduction and performance of all-female populations of brook trout. Aquaculture, 18 : 242-252.
- Kawamoto, N. 1969. Effects of androstenedione, 19-norethynyltestosterone, progesterone, and 17 α -hydroxyprogesterone upon the manifestation of secondary sex characters in the medaka, *Oryzias latipes*. Development, Growth, Differentiation, 2 : 89-103.
- Kim, D. S., J. Y. Jo and I. C. Bang. 1993. Effects of 17 β -estradiol on the sex reversal of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. J. Aquacult., 6 (2) : 125-132 (In Korean).
- Kim, K. K., I. C. Bang and Y. Kim. 1996. Studies on the production of all-female populations of olive flounder, *Paralichthys olivaceus*. IV. sex determination by water temperature during sex differentiation period. J. Aquacult., 9(4) : 429-435 (In Korean).
- Lee, Y. D., S. Rho, Y. J. Chang, H. J. Baek and C. M. An. 1996. Sex differentiation of the rockfish, *Sebastes schlegeli*. J. Korean Fish.

- Soc., 29(1) : 44-50 (In Korean).
- Matsuyama, M. and S. Matsuura. 1985. On the ovarian maturation and spawning of the landlocked large type ayu, *Plecoglossus altivelis* in Lake Biwa. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish./Nissuish., 51(5) : 691-698.
- Nakamura, M. 1975. Dosage-dependent changes in the effects of oral administration of methyltestosterone on gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 26 : 99-108.
- Nakamura, M. 1981a. Effects of 11-Ketotestosterone on gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 47(10) : 1323-1327.
- Nakamura, M. 1981b. Feminization of masu salmon, *Oncorhynchus masou* by administration of estradiol-17 β . Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 47 : 1529.
- Parks, L. M. and J. W. Parks. 1991. Sterilization and feminization of brook trout (*Salvelinus fontinalis*) by androgen and estrogen treatment. Annual meeting of the aquaculture association of canada., 1991, 34-35, Bull. Aqu. Assoc. Canada, 91(3).
- Patiño, R., K. Davis, J. E. Schoore, C. Ugus, C. Strüssmann and N. C. Parker, B. A. Simco and C. A. Goudie. 1996. Sex differentiation of channel catfish gonads: Normal development and effects of temperature. J. Exp Zool., 276 : 209-218.
- Phelps, R. P., W. Cole and T. Katz. 1992. Effect of fluoxymesterone on sex ratio and growth of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquat. Fish. Manage., 23 : 405-410.
- Pieau, C., M. Girondot, N. Richard-Mercier, G. Desvages, M. Dorizzi and P. Zaborsik. 1994. Temperature sensitivity of sexual differentiation of gonads in the European pond turtle : Hormonal involvement. J. Exp. Zool., 270 : 86-94.
- Rhen, T. and J. W. Lang. 1994. Temperature-dependent sex determination

- in the snapping turtle : Manipulation of the embryonic sex steroid environment. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 96 ; 243-254.
- Strüssmann, C. A., F. Takashima and K. Toda. 1996. Sex differentiation and hormonal feminization in pejerrey, *Odontesthes bonariensis*. *Aquaculture*, 139 : 31-45.
- Strüssmann, C. A., J. C. Calsina-Cota, G. Phonor, H. Higuchi and F. Takashima. 1996. Temperature effects on sex differentiation of two South American atherinids, *Odontesthes argentinensis* and *Patagonina hatcheri*. *Environmental Biology of Fishes*, 47 : 143-154
- Strüssmann, C. A. and R. Patiño. 1995. Temperature manipulation of sex differentiation in fish. In *Proceedings of the Fifth International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*. F. Goetz and P. Thomas, eds. *Fish Symp 95*, Austin, Texas, pp. 153-157.
- Strüssmann, C. A., S. Moriyama, E. F. Hanke, I. C. Calsina-Cota and F. Takashima. 1996. Evidence of thermolabile sex determination in pejerrey, *Odontesthes bonariensis*. *J. Fish. Biol.*, 48 : 634-651.
- Tan-Fermin, J. D., L. M. B. Garcia and A. R. Jr. Castillo. 1994. Induction of sex inversion in juvenile grouper, *Epinephelus suillus* (Valenciennes) by injection of 17 α -methyltestosterone. *Jap. J. Ichthyol.*, 40(4) : 413-420.
- Yamamoto, T. 1953. Artificially induced sex-reversal in genotypic males of the medaka, *Oryzias latipes*. *J. Exp. Zool.*, 123 : 571-594.
- Yamamoto, T. 1965. Estriol-induced XY females of the medaka, *Oryzias latipes* and their progenies. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 5 : 527-533.
- Yamamoto, T. 1969. Sex differentiation. In: W. S. Hoar and D. J. Rordall (Editors). *Fish Physiology*. Vol. III. Academic Press, New York, pp. 117-175.
- Yamamoto, T. and K. Onitake. 1975. A preliminary note on methylandrostenediol induced XX male and reduction of anal fin-rays

- the medaka, *Oryzais latipes*. Proc. Jpn. Acad., 51 : 136-139.
- Yamamoto, T. and T. Kajishima. 1968. Sex hormone induction of sex reversal in the goldfish and evidence for male heterogamety. J. Exp Zool., 1968 : 215-222.
- Yamazaki, F. 1976. Application of hormones in fish culture. J. Fish. Res. Board Can., 33 : 948-958.
- Yamazaki, F. 1983. Sex control and manipulation in fish. Aquaculture, 33 : 329-354.
- Yu, N. W., C. Y. Hsu, H. H. Ku, L. T. Chang and H. W. Liu. 1993. Gonadal differentiation and secretions of estradiol and testosterone of the ovaries of *Rana Catesbiana* tadpoles treated with 4-hydroxyandrostedione. J. Exp. Zool., 265 : 252-257.



감사의 글

이 연구를 수행하고 논문을 완성하기까지 부족함이 많았던 저를 늘 변함없는 배려와 따뜻한 격려로 이끌어 주신 이영돈 교수님께 깊은 감사를 드립니다. 그리고 바쁘신 중에도 잊지 않고 미흡한 저의 논문을 정성껏 다듬어 주신 노섭 교수님과 송춘복 교수님께 진심으로 감사의 말씀을 올립니다.

많은 관심과 자상한 충고를 아끼지 않으셨던 이정재 교수님, 정상철 교수님, 이기완 교수님, 최광식 교수님, 이제희 교수님, 허문수 교수님, 여인규 교수님께도 깊은 감사를 드립니다.

실험과 자료정리를 위해 많은 시간을 동고동락하며 성심 성의껏 도와주신 발생학 실험실의 오성립, 나오수, 송영보, 박성보, 김봉원, 서정표, 김봉래 선배님과 문순주, 진숙자, 최정권, 고희진, 김진완, 박창범, 김한준, 고범호, 한성민에게 감사를 드리며, 멀리 이국 땅에서 항상 격려를 아끼지 않았던 김병호, 임봉수, 박용주 선배님께도 감사를 드립니다. 아울러 늘 옆에서 많은 조언을 해준 변수철 선배님을 비롯한 대학원 선후배님들과 항상 성원을 해주신 주위 모든 분들께 감사드립니다.

끝으로 오늘이 있기까지 어려운 여건에서도 항상 사랑과 희생으로 뒷바라지에 고생하신 사랑하는 부모님과 형, 동생께 마음 속 깊이 감사드리며 이 작은 결실로 대신하고자 합니다.

이 연구는 제주대학교 해양연구소의 시설과 기자재를 이용하여 수행하였고, 연구수행에 큰 도움을 주신 해양연구소 직원 여러분들께 진심으로 사의를 표합니다.