

산천어, *Oncorhynchus masou*의 성분화

박인석·이영돈*·정의영

군산대학교 해양자원육성학과, *제주대학교 해양연구소

Gonadal sex differentiation in cherry salmon, *Oncorhynchus masou*

In-Seok Park, Young-Don Lee* and Ee-Yung Chung

Department of Marine Living Resources, Kunsan National University, Kunsan 573-701, Korea

*Marine Research Institute, Cheju National University, Cheju-do 695-810, Korea

Determining the initial treatment time and duration of treatment for sex reversal in fish is important. In this study the formation of gonad and their manner of sex differentiation in cherry salmon, *Oncorhynchus masou* was histologically examined. Primordial germ cell in mean total length 2.24 cm fry (24 days after hatching, accumulated temperature 194°C) appeared between mesonephric duct and gut. Genital ridge development was predominant in larva (36 days after hatching, accumulated temperature 294°C) with primordial germ cells (mean diameter of 14.2 μm) in active mitosis. Sex differentiation initiated at 40 days after hatching (mean total length 2.87 cm, accumulated temperature 326°C) and ovarian cavity and efferent duct appeared in larva (mean total length of 3.25 cm) 44 days after hatching. Larva with a mean total length of 5.90 cm in 104 days after hatching (accumulated temperature 890°C) showed differentiated gonad and female and male sex ratio in this stage is 1:1.04 (P<0.01). Above result revealed that gonad differentiation pattern of cherry salmon is differentiated gonochorism.

Key words : *Oncorhynchus masou*, sex differentiation, differentiated gonochorism

서론

자웅이체(gonochoristic) 어류의 성분화(sex differentiation)는 미분화된 생식소(indifferent gonad)가 암컷형으로 우선 형성되어 정소, 난소로 분화되는 미분화형(undifferentiated type)과 미분화된 생식소가 중간 단계인 암컷형을 거치지 않고 직접 정소, 난소로 분화되는 분화형(differentiated type)으로 구분될 수 있다(Yamamoto, 1969). 대부분의 경골어류는 미분화형에 속하나 잉어, *Cyprinus carpio*를 비롯한 *Tilapia* 속, *Oreochromis*

속 및 *Oncorhynchus* 속 등의 일부 어류에서는 분화형으로 나타나고 있다(Davis and Takashima, 1980; Nakamura and Takahash, 1973; Takashima et al., 1980; 김 등, 1988).

어류에서의 성전환(sex reversal)은 성장 및 외형, 체색 등의 형질이 암·수 중 어느 한쪽이 월등할 경우 월등한 한쪽의 성으로 시도되고 있으며 또한 일정 종의 생식생리학적 연구의 방편으로 사용되고 있다. 아울러 어류의 성전환은 호르몬에 의한 생리적 성전환된 개체와 정상 개체와의 교배

에 의한 자손군의 성비 측정에 의해 일정 종에서 암·수간 heterogametic sex 존재유무 판별도 가능케 한다(Hickling, 1960; Hunter and Donaldson, 1983). 어류에서 호르몬에 의한 성전환은 성전환 대상어류 및 처리호르몬의 선택, 처리호르몬의 농도, 처리경로 등이 중요한 요인으로서 특히, 처리호르몬의 대상어류에 최초 처리시기 및 그 처리 지속기간의 결정이 중요시 된다(Hunter and Donaldson, 1983; Kim *et al.*, 1990). 이러한 최초 처리시기 및 그 처리 지속기간은 대상어류의 성분화과정을 조사함으로써 정확하게 결정된다.

현재 국내 산천어, *Oncorhynchus masou* 사육시 산천어는 미성숙기에 암·수간 성장에 차이가 있고, 성숙기에는 수컷의 검은 체색 및 하악의 상승과 아울러 수컷간의 공격적 행위, 수컷이 암컷에 대한 공격 등의 산란행위에 기인된 사망율이 높게 나타나며, 그리고 암·수간에 동시적인(synchronous) 산란이 일어나지 않은 문제들로 인해 단성집단(monosex population)의 사육이 요구된다. 이와 같은 단성사육을 위한 산천어의 성전환은 17β -estradiol에 의한 암컷화, 17α -methyltestosterone에 의한 수컷화에 관한 보고는 있으나(Nakamura, 1981; 박 등, 1993), 호르몬 처리에 의한 효과적인 어류 성전환은 최초 처리시기 및 처리지속기간에 의해 좌우 되기 때문에 산천어의 정확한 최초 성분화시기와 성분화 완료까지의 기간에 관한 연구가 필요시 된다. 이러한 관점에서 이 연구에서는 산천어의 초기생식소를 조직학적으로 조사하여 그 생식소 형성 및 성분화양상을 규명하였다.

재료 및 방법

인공수정에 의해 생산된 산천어, *Oncorhynchus masou*의 부화 자어를 실험에 사용하였다. 부화후 성장에 따른 생식소형성 및 생식소 성분화과정을 조사하기 위하여 수온을 $8.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 로 유지하며 부화직후 부터 부화후 48일까지는 4일 간격으로, 부화후 48일 부터 부화후 104일까지는 8일 간격으로 각각 30마리씩을 무작위로 표본 하였으며, 아울러 각 표본시 수온 측정과 아울러 적산온도

를 계산하였다. 각각의 표본은 10°C 의 200ppm lidocaine-HCl/NaHCO₃로 마취후 전장은 버어니 어캘리퍼스로 mm 단위까지, 체중은 전자저울(Yamato Sci. Co., Japan)을 사용하여 mg 단위까지 측정하였다.

전장 및 체중을 측정한 후 부화후 48일까지의 모든 표본은 10% 중성포르말린으로 고정하였으며 부화후 56일 부터 부화후 104일까지의 비교적 큰 표본은 생식소와 신장을 제외한 내장괴를 제거하고 두부와 항문 이후의 꼬리부위 절개후 10% 중성포르말린으로 고정하였다. 고정된 모든 표본은 조직학적 분석을 위해 Bouin's 용액에 24시간 재고정하였으며 기존의 microtechnique 방법에 따라 $4\ \mu\text{m}$ 혹은 $6\ \mu\text{m}$ 로 조직절편을 만들어 Harris's hematoxylin과 eosin-phloxin B로 염색후 생식소 성분화과정을 조사하였다.

산천어의 성비를 측정하기 위하여 3회에 걸쳐 부화후 104일의 자어 100마리를 대상으로 생식소를 적출한 후 슬라이드 위에서 압착한 후 저배율($\times 40$ 및 $\times 100$)의 생물현미경(Zeiss, Germany) 하에서 난소 및 정소를 판별하였으며 이들 성비의 유의성은 χ^2 -test로 검정하였다.

결 과

부화후 104일 까지의 산천어 전장 및 체중 성장은 Table. 1과 같다. 부화직후의 자어는 초기생식소가 형성되지 않았고, 부화하여 24일(부화후 적산온도 19.4°C)된 평균전장 2.24 cm, 평균체중 0.15 g의 자어에서는 증신관(mesonephric duct)과 장관(gut) 사이에 체벽판 상피를 따라 원생식세포(primordial germ cell)가 위치하였다. 원생식세포는 세포질이 hematoxylin에 얇게 염색되고, 그 크기는 평균 $12.4\ \mu\text{m}$ 로 다른 세포와 구별되었다(Table. 1, Plate I-A).

부화후 28일(부화후 적산수온 22.9°C)된 평균전장 2.28 cm, 평균체중 0.16 g의 미분화 생식소는 원생식세포와 체세포들이 다수 모여있었으며, 초기생식소로 판별 할 수 있는 genital ridge를 형성하였다(Table. 1, Plate I-B).

부화후 32일(부화후 적산수온 26.3°C)된 평균전

Table 1. Growth of cherry salmon, *Oncorhynchus masou* from just hatching to 104 days after hatching at $8.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$

Days after hatching	Total length (cm)*	Body weight (g)*	Days after hatching	Total length (cm)*	Body weight (g)*
0	1.83 ± 0.12	0.06 ± 0.01	40	2.87 ± 0.26	0.48 ± 0.07
4	1.86 ± 0.10	0.07 ± 0.01	44	3.25 ± 0.30	0.57 ± 0.09
8	1.91 ± 0.12	0.09 ± 0.01	48	3.54 ± 0.32	0.69 ± 0.10
12	1.96 ± 0.10	0.11 ± 0.02	56	4.27 ± 0.46	1.16 ± 0.13
16	2.12 ± 0.11	0.12 ± 0.02	64	5.09 ± 0.26	1.25 ± 0.20
20	2.16 ± 0.12	0.14 ± 0.03	72	5.32 ± 0.30	1.30 ± 0.30
24	2.24 ± 0.20	0.15 ± 0.03	80	5.65 ± 0.40	1.48 ± 0.36
28	2.28 ± 0.27	0.16 ± 0.04	88	5.72 ± 0.40	1.69 ± 0.40
32	2.43 ± 0.22	0.24 ± 0.04	96	5.83 ± 0.46	1.83 ± 0.42
36	2.56 ± 0.27	0.31 ± 0.05	104	5.90 ± 0.52	1.87 ± 0.47

* Means ± SD.

장 2.43 cm, 평균체중 0.24 g의 자어에 있어서, 미분화 생식소의 genital ridge는 부화후 28일의 genital ridge보다 신장 발달하였으며 원생식세포의 분열상이 보였다(Table. 1, Plate I-C).

부화후 36일(부화후 적산수는 294°C)된 평균전장 2.56 cm, 평균체중 0.31 g의 미분화 생식소 원생식세포 크기는 평균직경 $14.2 \mu\text{m}$ 로 다수 존재하였으며 이들세포의 분열(mitotic activity)은 생식소 끝부분에서 활발히 일어났고 somatic cell은 원생식세포를 지지하고 생식소 자체를 만들고 있다(Table. 1, Plate I-D).

평균전장 2.87 cm, 평균체중 0.48 g인 부화후 40일(부화후 적산수는 326°C)된 자어기에 처음으로 성분화가 관찰되었다(Table. 1). 초기 난소는 체세포분열 중인 크기가 큰 원생식세포와 염색인기(chromatin nucleolus stage)의 1차 난모세포(primary oocyte)로 구성되어 있었다(Plate II-A). 초기 정소는 정원세포(spermatogonia), 정모세포(spermatocyte) 그리고 Sertoli-like cell로 구성되어 있었다(Plate II-C & D). 일부 초기 난소에는 난소강이 존재하였으며, 핵주변부에 인이 배열된 난모세포가 존재하였다(Plate II-B).

부화후 44일(부화후 적산수는 360°C)된 평균전장 3.25 cm, 평균체중 0.57 g의 자어 정소는 생식소 발달이 진전되어 피질부에는 정소소낭(spermatogenic

cyst)으로 구성되고 기질부에는 정소관이 존재하였다(Table 1, Plate II-E). 생식소 발달이 진전된 개체에서, 난소내 난경 $90 \mu\text{m}$ 전후의 주변인기(perinucleolus stage)난모세포들로 구성되어 있었다(Plate III-A & B).

Table. 1과 같이 부화후 104일(부화후 적산수도 890°C)의 평균전장 5.90 cm, 평균체중 1.87 g인 산천어의 생식소 조직을 대상으로 압착법으로 생식소 발달단계를 조사한 결과 압컷은 Plate III-C와 같이 다수의 주변인기 상태의 난모세포로 이루어졌으며, 수컷은 Plate III-D와 같이 섬유상의 결체조직(connective tissue)으로 이루어져 암·수 구별이 가능하였다. 부화후 105일에서의 암·수의 성비는 49:51(p<0.01)로 암·수가 거의 동일한 비율로 나타났다.

이상의 결과 산천어의 성분화 양상은 분화형 작용이체(differentiated gonochorism)임이 확인되었다.

고 찰

어류의 성분화 과정의 조사는 생물학적 관점 및 어류양식에 있어 성전환시 호르몬의 정확한 최초 처리시간 및 그 처리지속기간을 결정케한다는 관점에서 중요시 되고있다(Nakamura and

Takahashi, 1973; 박 등, 1993).

현재까지 국내에서의 어류 성분화에 관한 연구가 주로 양식 대상종인 메기, *Parasilurus astus* (김 등, 1988), 참돔, *Pagrus major* (김, 1989), 넙치, *Paralichthys olivaceus* (이, 1990)에 대하여 이루어졌고, 김 등이 나일틸라피아, *Oreochromis niloticus*와 미꾸라지, *Misgurnus mizolepis*에 대하여 성분화를 조사한 바 있다(Kim et al., 1990; 김 등, 1988).

산천어에서 생식소의 체세포분열과 원생식세포의 증식은 부화후 36일(부화후 적산수온 294°C)의 평균전장 2.56 cm 자어에서 현저하였으며 정소, 난소로의 성분화는 부화후 40일(부화후 적산수온 326°C)의 평균전장 2.87 cm 자어에서 시작되었다. 산천어에서 부화후 40일은 난황이 거의 흡수되고 첫먹이를 먹기 시작하며 부상을 시작하는 부상자어기로, 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss*인 경우 수정후 67일에 첫 부상자어의 44%가 1차 난모세포를 가졌다(Takashima et al., 1980).

이러한 난황흡수가 거의 이루어지고, 먹이섭취 시작 부상자어에 첫 먹이 섭취 이후 17 α -methyltestosterone을 먹이에 혼합처리하여 수컷화를 이룬 보고로는, 박 등(1993)이 산천어에서 5~20mg/kg diet 로 첫 먹이섭취 시작후 87일간(첫 먹이섭취후 적산수온 605°C) 처리하여 64.0~93.2%의 수컷화를 이루었으며, 연어, *Oncorhynchus keta*와 *O. gorbusha*에서 methyltestosterone을 50~100mg/kg diet 로 첫 먹이섭취 시작후 14일 처리하여 수컷화를 이룬바 있다(Yamazaki, 1972).

연어 및 무지개송어와 동일하게 산천어의 성분화 양상은 분화형 자용이체로 생식세포분열(meiotic activity)은 정소에서 보다 난소에서 먼저 이루어졌다(Robertson, 1953; Takashima et al., 1980).

본 실험에서 수온을 8.5 \pm 0.5°C로 유지하며 산천어의 성분화과정을 조사하였다. 대서양연어, *Salmo salar*의 부상자어를 다양한 수온에서 사육시 적정수온 범위내에서 고온일수록 부상자어의 전장의 성장이 높게 나타나며(Peterson et al., 1977), 연어 부상자어의 생존을 조사시 수온 8°C에서 생존율이 가장 높게 나타난 바 있다(Beachman and Murray, 1985). 따라서 본 연구에서는 비록 일정 적산수온 하에서 일정크기의

산천어를 대상으로 성분화를 조사하였으나 수온 차이 및 수온 이외의 환경적 요소에 기인된 성장에 따른 성분화 조사와 아울러 본 실험에서 사용된 일일 평균수온과 다른 일일 평균수온 하의 적산수온도 조건에서의 암·수 성비 파악이 필요하리라 사료된다.

요 약

어류의 생식소 발달 및 성분화에 관한 연구는 성전환 호르몬에 의한 성전환시의 한정요인인 최초 처리시기와 처리기간을 결정한다는 관점에서 매우 중요시 되고있다. 본 연구는 산천어, *Oncorhynchus masou* 성전환을 위하여 우선 본 종의 성장에 따른 생식소형성 및 그의 분화과정을 조직학적으로 조사하였으며 아울러 생식소 암착법에 의한 성비를 측정하였다. 부화후 24일(부화후 적산수온 194°C)의 평균전장 2.24 cm 부상자어에서 원생식세포가 중신관과 장관 사이에서 형성되었다. Gential ridge은 부화후 36일(부화후 적산수온 294°C)의 평균전장 2.56 cm 부상자어에서 형성하였다. 이때의 원생식세포의 크기는 평균직경 14.2 μ m로 다수 존재하였으며 분열증식이 왕성하였다. 성분화는 부화후 40일의 평균전장 2.87 cm(부화후 적산수온 326°C)의 자어에서 시작되었으며 난소강과 정소소관은 부화후 44일(평균전장 3.25 cm, 부화후 적산수온 360°C)에 나타났다. 부화후 104일 자어의 모든 생식소는 미성숙 상태의 정소와 난소를 나타내었으며 이때 암수의 성비는 1:1.04(P<0.01)이었다. 이상의 결과 산천어의 성분화 양상은 분화형자용이체(differentiated gonochorism)이었다.

참고문헌

- Beachman, T. D. and C. B. Murray, 1985. Comparative developmental biology of chum salmon(*Oncorhynchus keta*) from the Fraser River, British Columbia. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 43: 252-262.
- Davis, P. R. and F. Takashima, 1980. Sex

differentiation in common carp, *Cyprinus carpio*. J. Tokyo Univ. Fish. 66: 191-199.

Hickling, C. F., 1960. The Malacca *Tilapia* hybrids. J. Genet. 57: 1-10.

Hunter, G. A. and E. M. Donaldson, 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture. In "Fish Physiology, Vol. 9B" (W.S. Hoar, D.J. Randall, and E.M. Donaldson, eds), Academic Press, New York, pp. 223-291.

Kim, D. S., K. -Y. Lee, and T. -Y. Lee, 1990. Gonadal sex differentiation in *Misgurnus mizolepis*. Korean J. Ichthyol. 2: 95-105.

Nakamura, M., 1981. Feminization masu salmon *Oncorhynchus masou* by administration of estradiol-17 β . Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 47: 1529.

Nakamura, M. and H. Takahashi, 1973. Gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica* with special regard to the time of estrogen treatment effective in inducing complete feminization of genetic males. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 24: 1-13.

Peterson, R. H., H. C. E. Spinney, and A. Sreedharan, 1977. Development of Atlantic salmon (*Salmo salar*) eggs and alevins under varied temperature regimes. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 34: 31-43.

Robertson, J. G., 1953. Sex differentiation in the Pacific salmon *Oncorhynchus keta* (Walbaum). Can. J. Zool. 31: 1-72.

Takashima, F., R. Patino, and M. Nomura, 1980. Histological studies on the sex differentiation in rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. 46: 1317-1322.

Yamamoto, T., 1969. Sex differentiation. In "Fish Physiology, Vol. 3." (W.S. Hoar and D.J. Randall, eds), Academic Press, New York, pp. 117-175.

Yamazaki, F., 1972. Effects of methyltestosterone on the skin and the gonads of salmonids. Gen. Comp. Endocrinol. Suppl. 3. 741-750.

김동수 · 박인석 · 김형배 · 이택열, 1988. 한국산 매기, *Parasilurus asotus*의 성분화에 관한 연구. 한국수산학회 춘계학술발표 논문요지.

김동수 · 방인철 · 김인배, 1988. 나일틸라피아의 성분화와 호르몬에 의한 성전환. 한국양식학회지 1: 53-66.

김형배, 1988. 참돔, *Pagrus major*의 성분화와 생식소 발달. 부산수산대학교 박사학위논문 59pp.

박인석 · 김형배 · 허형택 · 김성철, 1993. 17 α -methyltestosterone 처리에 의한 산천어 (*Oncorhynchus masou*)의 수컷화. 해양연구 15: 29-36.

이영돈 · 이택열, 1990. 넙치, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel)의 성분화와 생식소 발달. 제주대학교 해양연보 14: 61-86.

Explanation of Plates

- Plate I-A. Gonadal development in the cherry salmon, *Oncorhynchus masou*. Primordial germ cells at the base of the genital ridge of a 24 days after hatching larva. Inset: high power view of primordial germ cell. Abbreviations: MD, mesodermal duct; PGC, primordial germ cell; GR, genital ridge; SG, spermatogonia; SC, spermatocyte; ED, efferent duct; K, kidney; OC, ovarian cavity; PO, previtellogenic oocyte.
- B. Undifferentiated gonad of larva 28 days after hatching. Note the presence of cluster of primordial germ cells and somatic cells in genital ridge. See also Plate I-A.
- C. Undifferentiated gonad of larva 32 days after hatching. See also Plate I-A.
- D. Undifferentiated gonad of larva 36

days after hatching with nest of primordial germ cells showing some mitotic figures (arrow). The covering epithelium is well developed. See also Plate I-A.

Plate II-A. Gonadal development in the cherry salmon, *Oncorhynchus masou*. Gonad of larva 40 days after hatching showing large-sized primordial germ cell in mitotic division (arrow). The rest of the cells in the cyst are primary oocytes in the chromatin nucleolus stage. See also Plate I-A.

- B. Ovary with ovarian lamellae of larva 40 days after hatching female. Note the presence of small previtellogenic oocytes with peripherally arranged nucleoli in their nucleus (arrows).
- C. Testis of larva 40 days after hatching male with spermatogonia and Sertoli-like cells (arrows). See

also Plate I-A.

- D. Testis of larva 40 days after hatching with spermatogonia, spermatocyte and blood vessel (arrows). See also Plate I-A.
- E. Testis of larva 44 days after hatching with efferent duct lined by spermatogenic cysts. See also Plate I-A.

Plate III-A. Gonadal development in the cherry salmon, *Oncorhynchus masou*. Ovary of larva 44 days after hatching showing oocytes in the perinucleolus stage. See also Plate I-A.

- B. Ovary of larva 44 days after hatching with endogenous vesicles. See also Plate I-A.
- C. Squash preparation of the ovary in 104 days after hatching.
- D. Squash preparation of the testis in 104 days after hatching.

PLATE I

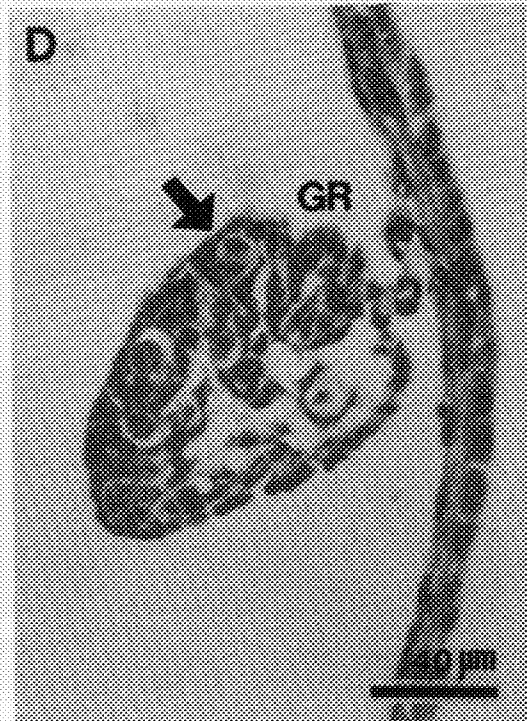
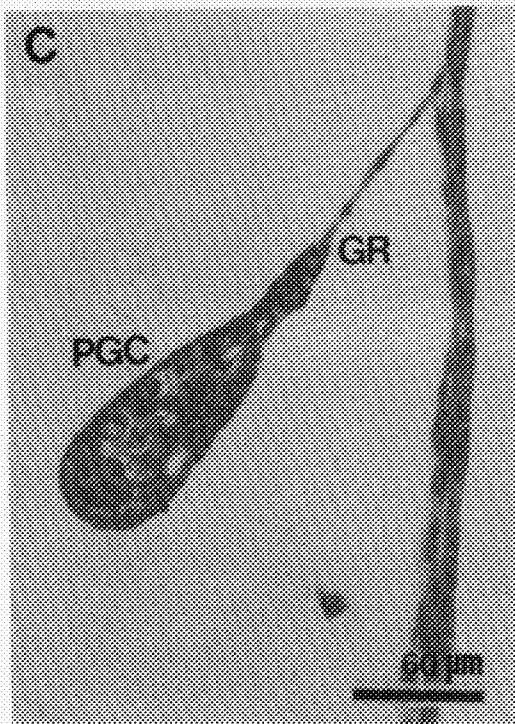
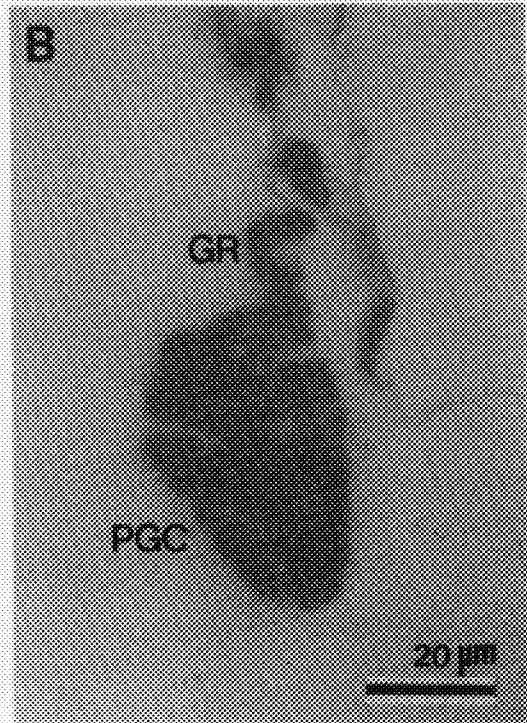
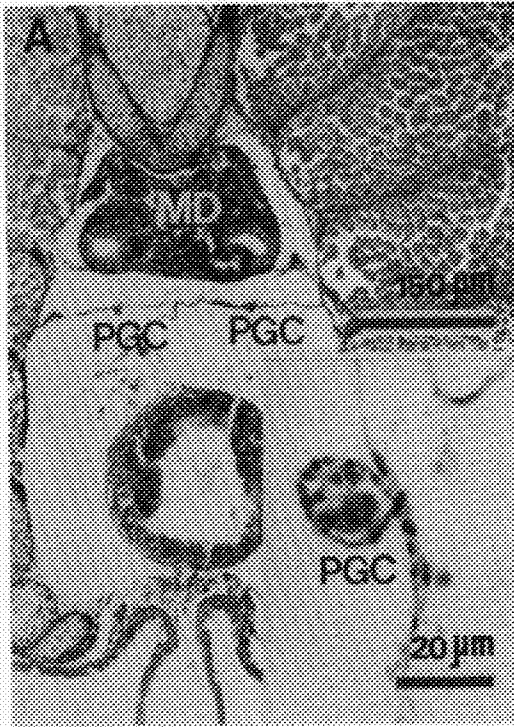


PLATE II

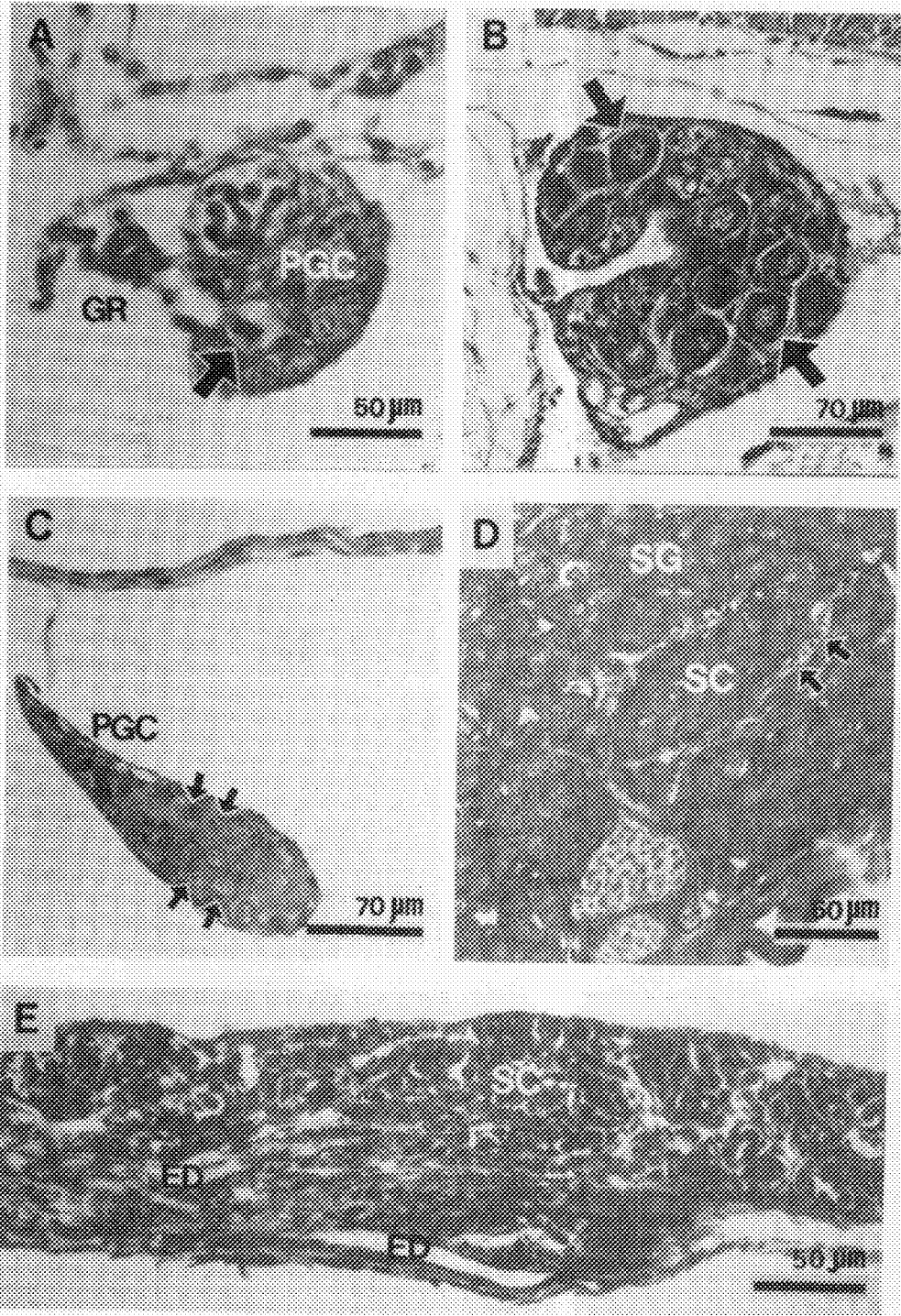


PLATE III

