

## 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 성현상\*

이영돈 · 노섬 · 고환봉 · 김동수\*\*

제주대학교 해양연구소, \*제주대학교 증식학과  
\*\*부산수산대학교 양식학과

### Sexuality of Olive Flounder, *Paralichthys olivaceus*

Young-Don Lee · Sum Rho\* · Hwan-Bong Go · Dong-Soo Kim\*\*

Marine Research Institute, Cheju National University, Cheju-do 695-810, Korea  
\*Department of aquaculture, Cheju National University, Cheju-do 690-756, Korea  
\*\*Department of aquaculture, National Fisheries University of Pusan, Pusan 608-737, Korea

Gynogenetic females of *Paralichthys olivaceus* were reared at 24°C and 27°C, from 30 to 90 days after hatching, the proportion of male were 86.6% and 90.0%, respectively. From mating between sex-reversed gynogenetic female (pseudomale) and normal female, the sex ratios of progenies were 97.8% in female, and 2.2% in male. The proportions of female in the experimental group orally administered the 1.0 and 2.0 ppm ( $\mu\text{g/g}$  diet) estradiol-17 $\beta$  were 70.0% and 80.0%, respectively, where as the proportions of male in two fish groups treated with the 1.0 and 2.0 ppm ( $\mu\text{g/g}$  dite) 17 $\alpha$ -methyltestosterone were 95.0%, respectively, from 40 to 100 days after hatching. When fish treated with estradiol-17 $\beta$ , external features of gonads were similar to those of testes. Although their external appearance of gonad was not converted, induction of sex reversal with the estradiol-17 $\beta$  seemed to be possible because the gonads were composed of ovarian cavity, ovarian lamellae, and oocytes. Therefore sex determination of *Paralichthys olivaceus* appeared to be controlled by male heterogamety, and physiological and environmental factors also affected their sex determination at the sexually undifferentiated stage.

Key words : Gynogenetic female, *Paralichthys olivaceus*, sex ratio, sex reversal and determination

## 서 론

어류의 성결정양상은 이형성염색체를 가지는 경우에 따라 용성이형배우자(male hetero-

gamety)와 자성이형배우자(female hetero-gamety)에 의하여 성결정되는 유전적 성결정(genotypic sex determination)과 수정 이후 성적미분화시기에 환경요인에 의하여 성유도

\*본 연구는 교육부 학술진흥재단 대학부설 연구소 지원에 의해 수행되었음.

되는 환경적 성결정 (environmental sex determination)이 알려지고 있다 (Bull, 1989; Conover and Fleisher, 1986).

넙치의 성결정은 웅성이형배우자형인 xx/xy이고 (Tabata, 1991), 성분화형태는 분화형 자웅이체로 보고되고 있다 (Tanaka, 1987;李와 주, 1990). 그리고 성적미분화시기에 estradiol-17 $\beta$ 와 17 $\alpha$ -methyltestosterone을 경구투여하여 성전환을 유도시키고 있다 (Tanaka, 1988; Tabata, 1991). 또한 수정시기에 염색체를 조작하여 전자성개체의 발생유도 (Tabata and Gorie, 1988; 김 등, 1993 a; 김 등 1993 b)와 3배체어생산 (Tabata et al., 1989; 김 등, 1994) 등이 보고되고 있다.

본 연구는 넙치의 성적미분화시기에 성 steroid hormone의 경구투여에 의한 성전환유도와 생식소형태변화, 그리고 24, 27 $^{\circ}$ C 사육수온 처리에 의한 전자성개체의 성전환 유도와 성전환시킨 위웅 (pseudomale)과 정상 암컷의 교배에 의한 자손의 성비에 대하여 조사하였다.

### 재료 및 방법

채란에 사용한 넙치는 인공종묘 생산하여 실내수조에서 양성한 3-5년생인 전장 (암컷 58.1~63.4cm, 수컷 47.9~52.6cm), 체중 (암컷 2,300~2,400g, 수컷 1,200~1,500g) 범위의 친어로서 복부를 압박하여 채란·채정할 수 있는 성숙한 개체를 사용하였다. 전자성 개체 (gynogenetic female)의 후대검정 (progeny testing)을 하기 위해 사용한 위웅 (pseudomale)은 자성발생 암컷을 부화 후 30일 부터 90일까지 사육수온 27 $^{\circ}$ C 처리로 성전환시킨 개체들이며, 태반성성선자극호르몬 (human chorionic gonadotropin)을 위웅어체 중 kg당 1,000IU의 농도로 주사한 후 복부를 압박·채정하여 수정에 사용하였다. 성 steroid hormone의 경구투여로 성전환유도를 하기 위해, 17 $\alpha$ -methyltestosterone과 estradiol-17 $\beta$ 을 사료에

1.0ppm과 2.0ppm농도 ( $\mu$ g/g diet)로 부화 후 40일 부터 100일까지 경구투여 하였으며, 성전환 분석은 생식소의 외부형태와 haematoxylin과 eosin 염색을 행하여 조직학적으로 분석하였다. 본 연구의 성장분석 자료는 Anova test를 수행하여 유의성을 검정하였다.

### 결 과

**자성발생 넙치의 성전환** 자성발생 넙치를 17-20 $^{\circ}$ C에서 부화·사육하다가 전장 1.7cm 전 후되는 부화후 30일부터 사육수온 24 $^{\circ}$ C와 27 $^{\circ}$ C로 조정된 항온조 ( $\phi$ 60 $\times$ 높이34cm pvc수조)에서 300미씩 수용하여 90일까지 사육하였다. 그 결과 Fig 1과 Fig. 2와 같이 수컷이 27 $^{\circ}$ C 사육수조에서 90%, 24 $^{\circ}$ C 사육조에서는 86.6%였다.

**자성발생개체 후대의 성비 및 성장** 자성발생 넙치를 고수온처리하여 수컷으로 전환된 위웅과 정상암컷을 수정시킨 결과 Table 1과 같이 조사된 개체중 45마리가 암컷이고 수컷은 단지 1마리였다. 자성발생 넙치와 대조군 넙치

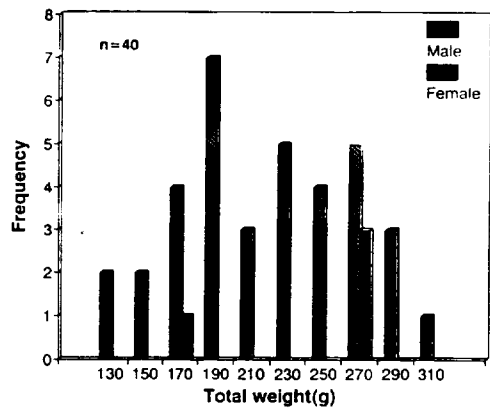


Fig. 1. Frequency of male and female of gynogenetic deploids in olive flounder, cultured at the temperature of 27 $^{\circ}$ C from 30 to 90 days after hatching.

Table 1. The sex ratio progenies from the mating between normal female and pseudomale

Days after hatching	No. of fish examined	T.L		T.W		Female	Male	%Female
		(mean ± SD)						
112	46	12.51 ± 1.00	12.51 ± 1.00	22.85 ± 5.81	22.85 ± 5.81	45	1	97.8

TL: total length, TW: total weight

의 초기 성장단계는 Fig. 3과 Fig. 4와 같다. 자성발생 넙치와 대조군 넙치의 부화자어는  $2.3 \pm 0.13\text{mm}$ 였으며, 부화 후 25일째 자성발생

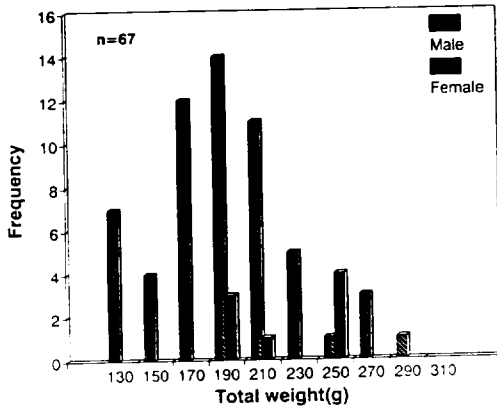


Fig. 2. Frequency of male and female of gynogenetic deoids in olive flounder, cultured at the temperature of 24°C from 30 to 90 days after hatching.

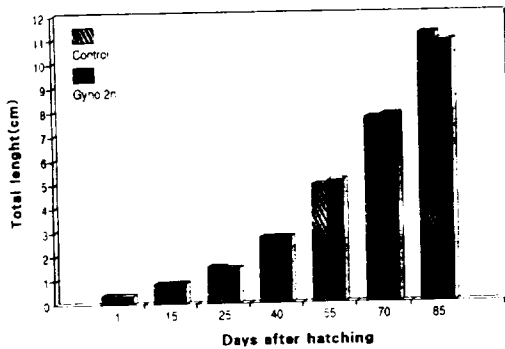


Fig. 3. Frequency of the total length of gynogenetic and control deoids in olive flounder.

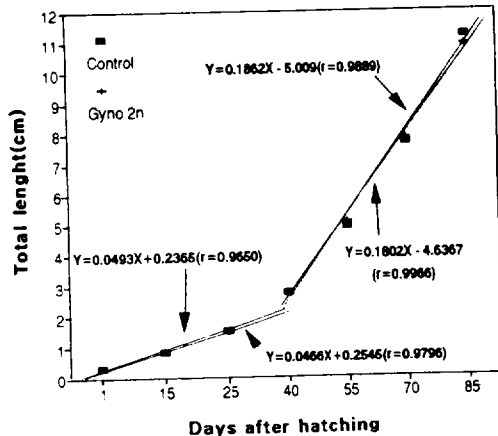


Fig. 4. Growth of the total length of gynogenetic and control deoids in olive flounder for 85 days after hatching.

넙치의 전장은  $1.48 \pm 0.23\text{cm}$ , 대조군은  $1.54 \pm 0.22\text{cm}$ 로 성장하였다. 그리고 부화 후 85일에는 자성발생 넙치의 전장은  $10.85 \pm 0.76\text{cm}$ , 대조군은  $11.15 \pm 0.88\text{cm}$ 였다. 부화 후 경과일수에 따른 성장관계는 부화 후 25일까지 자성발생과 대조군 넙치는 각각  $Y = 0.0466x + 0.2545$  ( $r = 0.9796$ ),  $Y = 0.0493x + 0.2365$  ( $r = 0.9650$ ), 부화 후 40일부터 85일까지는 각각  $Y = 0.1802x - 4.6367$  ( $r = 0.9966$ ),  $Y = 0.1862x - 5.009$  ( $r = 0.9889$ )였다. 자성발생 넙치와 대조군 넙치의 비교 성장에서 유의차는 인정되지 않았다 ( $P > 0.05$ ).

성steroid hormone 처리에 의한 성전환 성숙한 암·수친어에서 채란·채정하여 부화·사육하면서 부화 후 40일부터 estradiol- $17\beta$ 와  $17\alpha$ -

Table 2. Dosage level of steroid and sex ratio in each group at 186 days after hatching

Experimental group with different dose of hormone ( $\mu\text{g/g}$ diet)	No. of fish examined	Male	Female
Control	20	16	4
ET-1.0	20	6	14
ET-2.0	20	4	16
MT-1.0	20	19	1
MT-2.0	20	19	1

Table 3. Dosage level of steroid hormone and growth in each group

Days after hatching	Control	ET-1.0	ET-2.0	MT-1.0	MT-2.0
	Total length(mm, mean $\pm$ SD)				
40	2.79 $\pm$ 0.28	2.77 $\pm$ 0.26	2.79 $\pm$ 0.26	2.77 $\pm$ 0.40	2.77 $\pm$ 0.29
109	7.39 $\pm$ 1.20	7.59 $\pm$ 0.56	8.43 $\pm$ 0.6	7.35 $\pm$ 1.05	6.84 $\pm$ 0.88
186	14.78 $\pm$ 1.09 <sup>c</sup>	17.98 $\pm$ 1.56 <sup>a</sup>	17.67 $\pm$ 1.49 <sup>ab</sup>	17.25 $\pm$ 3.31 <sup>a</sup>	16.59 $\pm$ 1.40 <sup>b</sup>

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

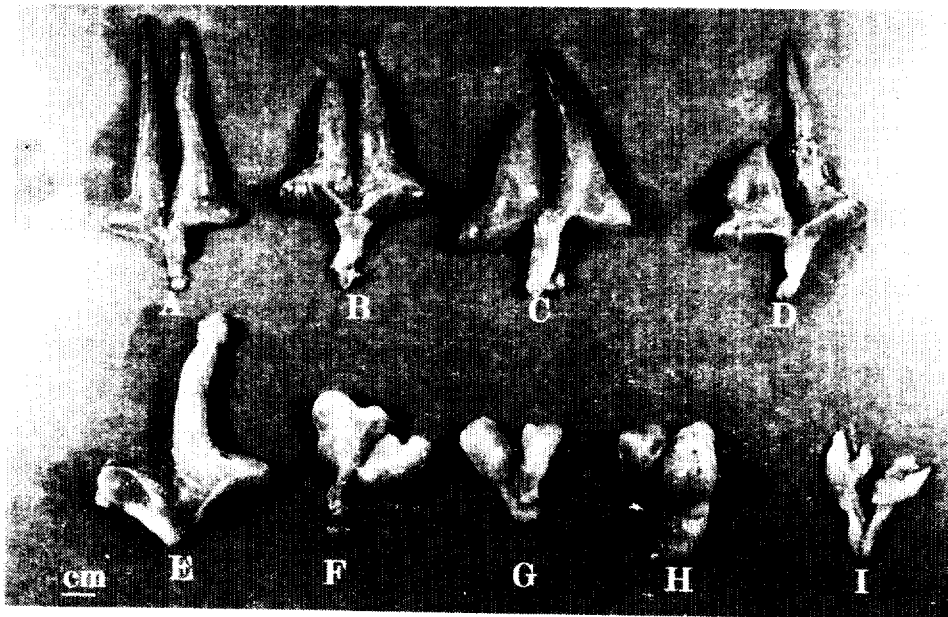


Fig. 5. External appearance of ovary (A) and testis (I) in control; abnormally shaped ovaries (B, C, D, E); ovaries (F, G, H) from the sex-reversed fish with the estradiol-17 $\beta$ .

methyltestosterone을 각각 1-2 ppm( $\mu\text{g/g}$  diet) 농도로 100일까지 경구투여한 결과 Table 2와 같다. 대조군의 성비는 암수 각각 20%, 80%로 수컷이 비율이 높았다. estradiol-17 $\beta$ 를 1, 2ppm 처리한 시험구에서 암컷의 비율이 각각 70%, 80%였다. 17 $\alpha$ -methyltestosterone을 1, 2ppm 처리한 시험구에서 수컷이 차지하는 비율은 각각 95%였다.

성steroid hormone 처리구와 대조군간의 성장은 Table 3과 같이 부화 후 186일째에 성steroid hormone 처리구의 개체성장이 대조군보다 높았다( $P < 0.05$ ). estradiol-17 $\beta$ 을 투여한 실험군에서 Fig. 5와 같이 생식소 외부형태가 기형인 개체가 출현하였다. Fig. 5의 B, C, D, E는 좌우비대칭형의 난소형태를 가지고 있으나 F, G, H는 정소의 외부형태와 유사하다. 그러나 외부형태는 기형으로 나타나지만, 조직학적 관찰에서 정상형태의 난소와 같이 난소강, 난소박판 그리고 난모세포의 발달양상은 유사하였다.

## 고 찰

정상넙치의 성숙한 암컷과 자성개체의 암컷을 수컷으로 전환시킨 위웅의 교배에서 후대의 성비는 암·수 각각 45:1이었다. Tabata (1991)에 의하면 넙치의 성결정은 웅성이형배우자형인(male heterogamety)xx/xy로 이루어진다고 보고하고 있다. 본 연구에서도 전자성개체의 자손에서 대부분 암컷이 차지하고 있어서 웅성이형배우자의 유전적성결정으로 나타나고 있다. 그러나 김 등(1993 b)이 자성발생성 이배체를 유도하였으나 암컷 92.1%, 수컷 7.9%로 넙치의 성이 단지 웅성이형배우자에 의한 성결정기작이 아닐 가능성을 제시하고 있다. 또한 Tabata(1991)도 넙치의 성결정기작은 기본적으로 웅성이형배우자이나, 성분화시기에 환경요인인 사육수온이 그 기작에 영향을 미칠 수도 있다고 하고 있다. 본 연구

에서 전자성개체를 부화 후 30일부터 90일까지 60일간 사육수온 24 $^{\circ}\text{C}$ 와 27 $^{\circ}\text{C}$ 로 처리한 결과 각각 86.6%와 90%의 수컷전환이 일어나고 있다. 또한 자성발생개체를 부화 56일부터 17 $\alpha$ -methyltestosterone을 경구투여하여 수컷으로 전환시켰으며(Tabata, 1991), Tanaka (1988)는 정상개체의 부화자어를 부화 후 56일부터 estradiol-17 $\beta$ 경구투여하여 전 암컷개체를 생산하였다. Kakimoto *et al.*(1994)은 문치가자미, *Limanda yokohamae*의 전자성발생개체를 부화 후 21일부터 17 $\alpha$ -methyltestosterone의 농도별에 침적시켜 수컷으로 전환시켰다.

본 연구에서 조사된 대조군의 경우 수컷 80%, 암컷 20%로 수컷의 비율이 높게 나타나고 있다. Tabata(1991)는 자연조건 또는 인위적으로 성전환되어 XY pseudofemale과 XX pseudomale이 출현할 경우, 이들의 교배에 따라 수컷 또는 암컷이 출현율이 높을 수 있다고 보고하고 있다.

Conover and Fleisher(1986)에 의하면 *Menidia menidia*의 성결정은 유전적인 요소와 환경적인 요소에 의해서 이루어지고, 저온사육에서는 암컷비율이 높고, 고온사육에서는 수컷비율이 높다고 보고 하고 있다. 또한 *M. menidia*에서 온도감수가 민감한 시기(temperature-sensitive period)가 다른 어류에서 호르몬 감수가 민감한 시기(hormone-sensitive period)와 유사하다.

호르몬에 의한 성전환 유도는 성결정되기전 미분화시기에 행하는 것이 효과적이다(隆島·畠田, 1984). 성분화시기는 사육환경에 따라 다소 상이하게 나타날 수 있으나, 넙치의 조직형태적인 성분화시기는 암컷인 경우 부화후 46일(전장 2.2cm), 수컷인 경우 부화후 80일(전장 7.1cm)에서 일어나고 있다(李와 李, 1990).

본 연구에서는 넙치를 부화 후 40일부터

100일까지 성 steroid hormone을 경구투여하여 성전환을 유도하였고, 부화 후 30일부터 고수 온사육 처리에 의하여 성전환을 유도할 수 있어 각각의 감수시기가 유사한것으로 사려된다. Tanaka(1988)는 estradiol-17 $\beta$ 를 경구투여하여 전 암컷개체를 생산하였다. 그러나 성전환된 개체의 생식소 외부형태는 정상난소의 외부형태와 상이하고 정소의 형태와 유사하나, 내부구조는 정상난소와 비슷하다. 이러한 현상은 *Perca flavescens*에서도 보고 되고 있다 (Malison et al., 1986). 성steroid hormone에 의하여 성은 전환되나 생식소의 외부형태의 전환은 어려운 것으로 보고되고 있다(Tanaka, 1988). 따라서 녀치의 성결정은 유전적인 요소에 지배되고 있으나, 생리적·환경적인 요소도 성결정에 영향을 주고 있다고 생각된다.

본 연구에서 자성발생생 녀치와 대조군 녀치의 성장은 부화 후 85일까지 유의한 차이 없이 비슷하였다. 그러나 Tabata와 Gorie (1988)는 자성발생 녀치가 대조군에 비해 떨어진다고 보고하고, 김 등(1993 a)은 부화 후 3개월까지는 성장차이가 없었으나 4개월 부터는 대조군보다 빠른 성장율을 나타내고 있고, 김 등(1993 b)은 부화 후 100일까지 자성발생 녀치군의 성장과 생존율이 대조군에 비하여 낮았으나, 부화 후 300일째에는 대조군에 비하여 높게 나타나고 있다고 보고하고 있다.

자성발생 녀치와 정상녀치의 성장관계는 각각의 사육환경에 대한 적응력차이와 성장속도의 발현시기 차이등 앞으로 보다 많은 연구가 진행되어져야 할것으로 사려된다.

## 요 약

부화 후 30일부터 90일까지 사육수온 24 $^{\circ}$ C와 27 $^{\circ}$ C에서 자성발생 녀치를 사육한 결과 수컷이 각각 86.6%, 90.0%였다. 자성발생 녀치로부터 성전환된 위웅과 정상암컷의 교배결과 후대의 성비는 암컷이 97.8%, 수컷 2.2%였다.

부화 후 40일부터 100일까지 estradiol-17 $\beta$  1.0과 2.0 ppm( $\mu$ g/g diet)로 경구투여한 실험군에서 암컷의 비율은 각각 70.0%, 80.0%였고, 17 $\alpha$ -methyltestosterone 1.0과 2.0 ppm( $\mu$ g/g dite)로 처리한 실험군에서 수컷의 비율은 각각 95.0%였다. 그리고 estradiol-17 $\beta$ 를 경구투여한 실험군에서 생식소의 외부형태는 정소의 외부형태와 유사하나, 생식소 내부는 난소강·난소박판 그리고 난모세포로 구성되어 있다. estradiol-17 $\beta$ 로 성전환유도는 가능하나 외부형태의 전환은 일어나지 않고 있다. 따라서 녀치의 성결정은 웅성이형배우자에 의하여 지배되고 있으며, 성적미분화시기에 생리적·환경적 요소도 성결정에 영향을 주고 있다.

## 사 사

본 연구를 수행하는데 많은 조언을 해주신 제주대학교 증식학과 송춘복 박사님께 깊은 감사를 드립니다.

## 참 고 문 헌

- Bull, J. J., 1989. Evolution and variety of sex determining mechanisms in amniote vertebrates. In Evolutionary mechanisms in sex determination, ed. by Stephen S. Wachel. CRC press, p. 57-65.
- Conover, O. O., and M. H. Fleisher, 1986. Temperature-sensitive period of sex determination in the Atlantic silverside, *Menidia menidia*. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 43: 514-520.
- Kakimoto, Y., Aida, S., Arai, K., and R. Suzuki, 1994. Production of gynogenetic diploids by temperature and pressure treatments and sex reversal by immersion in methyltestosterone in marbled sole, *Limanda yokohamae*. J. Fac. Appl. Biol.

넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 성현상

- Sci. Hiroshima Univ. 33: 113-124. (In Japanese with English abstract)
- 김동수 · 김종현 · 조재윤 · 문영봉 · 조기채, 1993a, 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 자성 발생성 이배체 유도. Korea J. Genetics 15(3): 179-186.
- 김동수 · 정창화 · 이영돈 · 노섬, 1994. 3배체 넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 유도에 관한 연구. 韓國養殖學會誌, 7(1): 55-61.
- 김윤 · 김경길 · 방인철 · 이종관, 1993 b. 넙치 전암컷 집단 생산을 위한 연구, I. 자성 발생성 이배체 유도 및 성장, 韓國養殖學會誌, 6(4): 285-293.
- 李榮敦 · 李澤烈, 1990. 넙치, *Paralichthys olivaceus*의 性分化和 生殖巢 發達. 濟州大 海洋研報, 14: 61-86.
- Malison, J. A., Bayes, T. B., Best C. D., and C. H. Amundson, 1986. Sexual differentiation and use of hormones to control sex in yellow perch (*Perca flavescens*). Can. J. Fish. Aquat. Sci. 43:26-35.
- Tabata, K., and S. Gorie, 1988. Comparison of growth of gynogenetic diploids with control diploids in Hiramé *Paralichthys olivaceus* reared in the same tank. Nippon Suisan Gakkaishi, 57(7): 1143-1147. (In Japanese with English abstract)
- Tabata, K., and Gorie, S., and Y. Kawamura, 1989. Growth, survival and maturation in the induced triploids Hiramé *Paralichthys olivaceus*. Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture, 36(4): 267-276. (In Japanese with English abstract)
- Tabata, K., 1991. Induction of gynogenetic diploids males and presumption of sex determination mechanism in the Hiramé *Paralichthys olivaceus*. Nippon Suisan Gakkaishi, 57(5): 845-850.
- 隆島史夫 · 會田勝美, 1984. 性分化 とホルモン, 日本比較内分泌學會, 學會出版 センタ, p. 77-97.
- Tanaka, H., 1987. Gonadal sex differentiation in Flounder, *Paralichthys olivaceus*. Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture, 11: 7-9.
- Tanaka, H., 1988. Effects of estradiol-17 $\beta$  on gonadal sex differentiation in Flounder, *Paralichthys olivaceus*. Bull. Natl. Res. Inst. Aquaculture, 13: 17-23. (In Japanese with English abstract)