

## 외인성 성스테로이드 호르몬에 의한 조피볼락, *Sebastes schlegeli*의 성분화 교란

권준영<sup>\*</sup> · 이찬희<sup>1</sup> · 김주영 · 김상훈 · 김대중<sup>2</sup> · 한형균<sup>2</sup> · 임한규<sup>2</sup> · 변순규<sup>2</sup>

선문대학교 응용생물과학부, <sup>1</sup>한국생명과학연구소, <sup>2</sup>국립수산과학원

## Disruption of Sex Differentiation by Exogenous Sex Steroid Hormones in Korean Rockfish, *Sebastes schlegeli*

Joon Yeong Kwon<sup>\*</sup>, Chan Hee Lee<sup>1</sup>, Juyeong Kim, Sang Hun Kim,  
Dae Jung Kim<sup>2</sup>, Hyoung Kyun Han<sup>2</sup>, Han Kyu Lim<sup>2</sup> and Sun Gyu Byun<sup>2</sup>

Division of Applied Biological Sciences, Sunmoon University, Asan 336-708, Korea

<sup>1</sup>Hankook Institute of Life Science, Jongno, Seoul 110-521, Korea

<sup>2</sup>National Fisheries Research & Development Institute, Busan 608-737, Korea

**ABSTRACT** : It is well publicized that the existence of various endocrine disrupting chemicals threatens normal sexual development of many sedentary marine fishes in the coastal areas. However, a suitable marine fish species for efficient monitoring of this threatening has yet to be identified. One of the difficulties in estimating the effect of endocrine disruption in marine fish is the absence of clear distinction between testicular and ovarian structures at the early stages of sex differentiation. In search of a potential test species, we have investigated the microscopic structures of sexually undifferentiated and differentiated gonads and the susceptibility of gonadal differentiation to exogenous sex steroids during the sex differentiation period in a sedentary marine rockfish, *Sebastes schlegeli*. Male gonads in this species contained dark pigmentation that made them distinct from female gonads. Treatment either with estradiol-17 $\beta$  (E<sub>2</sub>) or 17 $\alpha$ -methyltestosterone (MT) significantly altered the sex ratios with the complete sex changes or the occurrence of ovotestis that was easily identified by the mixed structure of dimorphic gonads (coexistence of ovarian cavity/primary oocytes and dark pigmentation/seminiferous tubules). Results in this study suggest that *S. schlegeli* can be developed as a monitoring/test fish species for endocrine disruption in marine fish in the coastal areas.

**Key words** : Estradiol-17 $\beta$ , 17 $\alpha$ -methyltestosterone, Sex differentiation, Intersex, Viviparous, Rockfish, *Sebastes schlegeli*.

**요약** : 내분비 교란물질들이 연안 어류의 정상적인 성적 발달을 위협할 수 있다는 사실은 잘 알려져 있지만, 해산 어종에 대한 이러한 위협을 파악하는 데 이용할 수 있는 적절한 시험 어종은 아직 개발되지 못했다. 그 이유 중의 하나는 성분화 초기에 어류의 생식소가 외형으로나 조직학적으로 암수 구분이 불분명한 경우가 많기 때문이다. 본 연구에서는 조피볼락 *Sebastes schlegeli*의 자연 성비, 생식소 구조, 그리고 외인성 성스테로이드 호르몬에 의한 성분화 교란 여부 등을 조사하여 이 종이 시험 어종으로 개발될 수 있는지를 조사하였다. 1년생 조피볼락 240마리의 생식소를 조사한 결과, 이들의 성비(암수 비율)는 통계학적으로 1:1을 벗어나지 않았으며, 암컷은 유백색의 두터운 생식소를, 수컷은 검은색의 가느다란 생식소를 가지고 있었다. 성분화 시기의 조피볼락 치어를 estradiol-17 $\beta$  (E<sub>2</sub>) 또는 17 $\alpha$ -methyltestosterone (MT)으로 처리하여 성분화 교란 여부를 조사한 결과, E<sub>2</sub> 처리는 93%의 암컷 유도율을 보였으나, MT 처리의 경우 수컷은 53%였고, 38%가 암수의 생식소 구조를 모두 갖는 intersex로 나타났다. 본 연구에 의하면 조피볼락은 미성숙 시기에도 암수 생식소의 형태가 뚜렷이 다르고, 외인성 성스테로이드 호르몬에 의해 뚜렷한 성분화 교란 현상이 초래되어 시험 어종으로 개발될 수 있는 가능성이 있다.

## 서론

내분비 교란물질은 정착성 연안 생물들의 정상적인 성적 발달을 위협하고 있으며(Shim *et al.*, 2000; Horiguchi *et al.*, 2004; Janer *et al.*, 2006; Janer & Porte, 2007), 이러한 위협은 어류에게까지 확대되고 있다(Arukwe, 2001). 이에 따라 이러한 위협을 적절히 파악하는데 필요한 감시 대상 어종 또는 시험 어종의 발굴이 요구되어진다.

\* 본 연구는 한국과학재단 목적기초연구(RO1-2002-000-00568-0) 지원으로 수행되었습니다.

<sup>†</sup> 교신저자: Division of Applied Biological Life Sciences, Sunmoon University, Asan 336-708, Korea. Tel: 82-41-530-2284, Fax: 82-41-530-2917, E-mail: jykwon@sunmoon.ac.kr

조피볼락, *Sebastes schlegeli*은 양볼락과(Family Scorpaenidae), 볼락속(Genus *Sebastes*)에 속하며, 한국, 중국, 일본 및 동남아 연안의 암초지대에 서식하는 연안정착성 어종이다(Chyung, 1977). 볼락속 전체를 보면 그 분포 범위가 전 세계 연안으로 확대되는데, 북아메리카 서부 연안에 약 69종, 한중일 및 대만 연안에 약 32종, 북대서양 4종, 남반구에 1종 이상 등이 분포하는 것으로 알려져 있다(Boehlert & Yamada, 1991). 볼락류의 자원량은 1970년대 이후 지속적으로 감소되고 있는 것으로 추정되고 있으며, 어획량의 감소(1976년 768,481톤에서 1986년 483,733톤으로 감소, FAO, 1977, 1988)는 이러한 자원 감소 추세를 잘 반영하고 있다. 우리나라에서도, 종묘 방류 실시 중인 조피볼락을 제외한, 다른 볼락류의 어획량(1993년 4,246톤, 1998년 2,510톤, 2003년 2,222톤, 해양수산통계연보, 2004)은 근년 들어 지속적으로 감소하고 있다. 이러한 자원량의 감소 추세는 연안정착성 어종이라는 생태학적 측면을 고려하여 볼 때, 생활오수 및 공장폐수 등의 유입으로 야기된 환경오염과 밀접한 연관이 있을 가능성이 높다. 오염된 환경은 생물의 성장을 둔화시키고, 질병에 대한 저항력을 감소시킬 뿐만 아니라, 기관 분화 및 형태 형성이 이루어지는 어린 시기에는 비정상적인 발생을 초래하기도 한다. 발생 초기에 이루어지는 성의 분화(sex differentiation)도 오염된 환경의 영향을 받을 수 있고, 그에 따라 한 개체군내에 성의 불균형 현상이 일어나면 점차적인 자원량 감소로 이어질 수 있다.

지난 50년간 세계 각지에서 지속적으로 이루어진 많은 연구가 어류 성분화에 관한 이해를 돕는데 크게 기여하였다. 그러나 지금까지 연구들은 담수산 난생어류(oviparous fish) (예, 틸라피아, 잉어, 무지개 송어 등)(Baroiller *et al.*, 1999; Kwon *et al.*, 2000; Kwon *et al.*, 2001)를 대상으로 진행되어 왔다. 근년, 저서성 해산 어종인 넙치의 성분화에 관한 연구가 분자내분비학적 수준(Kitano *et al.*, 2000)까지 진행되기는 하였으나, 국제적으로 해산 태생 어류(viviparous fish)의 성분화 과정을 설명할 수 있는 기초 자료는 많지 않다. 조피볼락은 난생 어류들과는 달리, 약 50일간의 임신기간을 거친 후(Yamada & Kusakari, 1991) 작은 새끼 물고기들을 출산하는 태생 어류이다. 이 종은 국내의 대표적인 해산 양식 어류의 하나일 뿐만 아니라, 전 연안역에 분포하는 중요한 수산자원으로 산업적 그리고 환경생태학적 중요성이 매우 높다. 지금까지 이 종의 성분화와 관련하여 조사된 내용은 조직학적 방법을 이용하여 추정된 성분화 시기(Lee *et al.*, 1996) 및 스테로이드 호르몬과 고수온에 의한 성전환 유도(Lee *et al.*, 2000)이다. 그러나 이 종을 내분비 교란물질의 영향을 감

시하는 시험 어종으로 개발하거나, 이 종을 위한 새로운 단성 양식기술을 개발하기 위해서는 이 종의 성분화 관련 생물학적 현상에 대한 보다 많은 정보의 축적이 요구된다.

일반적으로 유성생식을 하는 많은 생물의 경우, 자연 성비(natural sex ratio)가 1:1일의 균형을 이루고 있지만, 어종에 따라 암수의 성비가 한쪽으로 치우쳐 있는 경우가 있다. 예를 들면, 유럽산 농어의 경우 암수의 비가 1:3으로 수컷이 훨씬 많다(Blazquez *et al.*, 1998). 따라서 성분화 연구 이전에 자연성비의 사전 조사는 매우 중요하다. 본 연구에서는 조피볼락 *S. schlegeli*의 자연 성비, 생식소 구조, 그리고 외인성 성스테로이드 호르몬에 의한 성분화 교란 여부 등을 조사하여 이 종이 시험 어종으로 개발될 수 있는 지를 조사하였다.

## 재료 및 방법

조피볼락의 자연 성비를 알아보기 위하여 1년생 조피볼락 240마리(전장 11.1±1.2cm)를 구입하여 선문대학교 어류관 리실에서 사육하면서 이중 110마리를 해부하여 이 종의 자연 성비를 조사하였다. 조사방법을 간단히 정리하면, 각각의 어체를 해부하여 생식소를 채취한 다음, gonad-squashing technique 및 acetocarmine stain법(Guerrero & Shelton, 1974)을 이용하여 생식소 표본을 제작하고 현미경 하에서 관찰하였다. 또한 동일연령 그룹 내에서 암수 개체간의 크기차이가 있는 지를 알아보기 위하여 어체를 해부하기 전에 각 개체를 50 ppm의 benzocaine 용액에 마취시킨 후 전장(cm)과 체중(g)을 측정하였으며, 측정된 어체는 해부하여 전술한 방법에 의해 성별을 판정하였다.

Gonad-squashing technique에 의해 판별된 암수 구분이 정확한지, 그리고 미성숙 상태에서 생식소의 외형상의 차이가 실질적으로 암수의 차이를 명확하게 반영하는 것인지를 알아보기 위하여 암컷과 수컷으로 판정된 생식소를 10% 중성 포르말린에 고정된 후 조직 표본을 제작하여 재검사하였다. 조직표본의 제작 방법은 paraffin 상법에 의하였는데, 먼저 포르말린에 고정된 조직을 Bouin 용액으로 후고정한 후, 수세 및 일련의 탈수과정을 거친 다음 paraffin으로 포매하였다. 그리고 나서 포매된 조직을 마이크로톰으로 5~8 μm 두께로 자른 다음 hematoxylin과 eosin으로 이중염색하여 광학 현미경으로 관찰하였다.

한편, 외인성 성스테로이드 호르몬이 조피볼락의 성분화를 교란하는 지를 알아보기 위하여, 출산 후 52일된 전장 4 cm 전후의 조피볼락 치어를 경북 울진군 소재 대하수산으로부터 구입하여, estradiol-17β(E<sub>2</sub>) 또는 17α-methyltestosterone

(MT)으로 4주간 처리하였다. 사육 실험은 국립수산물연구원 어류연구센터(경북 울진)의 원형 유수식 실험수조 시스템을 이용하여 실시하였다. 호르몬은 사료에 섞어 경구투여하였으며, 처리농도는 각각 E<sub>2</sub> 50 mg/kg diet, MT 50 mg/kg diet였다. 실험어는 500 L 유수식 수조에 160마리씩 수용하였으며, 실험구는 대조구(CON) 포함하여 3개구, 각 처리별 3반복하여 총 9개 수조를 이용하였다. 실험어는 호르몬 처리 기간 중 일주일 간격으로, 처리 후에는 3개월간 2주일 간격으로 sampling하여 성비 변화를 분석하였으며, 전 실험기간 동안 사육 수온은 14~18°C 범위였다.

호르몬 처리 전과 후 실험어 체내의 실질적 호르몬 농도 변화를 파악하기 위하여, 어체 내 성스테로이드 호르몬 농도 (ng/g)를 측정하였다. 이 과정을 간략하게 요약하면 다음과 같다. 각 개체를 생리식염수와 함께 homogenize한 후 원심 분리(3,000 rpm, 10분)하여 상등액을 얻어 내고, 이 상등액을 hexane으로 2회 반복 추출하여 지질을 제거하였으며 이어서 diethylether로 2회 추출한 다음, 0.1% gel-PBS 500 µL에 용해하고 radioimmunoassay (RIA)에 의하여 호르몬을 분석하였다. RIA시 intra 및 interassay coefficients는 E<sub>2</sub>에 대해 각각 3.4%(n=3), 11.5%(n=6)이었으며, testosterone에 대해 각각 2.3%(n=3), 12.5%(n=6)이었다.

### 결과 및 고찰

#### 1. 조피볼락의 자연성비(Natural Sex Ratio)

조피볼락 1년생 치어 110마리에 대해 암수 성비를 조사한 결과 암컷 53마리, 수컷 57마리로 암수간 비율 1:1.1의 균형을 이루고 있었다. 따라서 조피볼락의 자연 성비는 일반적 예측치인 1:1에서 벗어나지 않는 것으로 나타났다. 자연 성비의 균형은 환경생태학적 측면에서는 아주 바람직한 현상이지만, 산업적으로 한쪽 성이 다른 성에 비해 높은 경제적 가치를 가질 경우는 양식시 인위적인 성체어의 필요성이 있음을 의미한다. 따라서 앞으로의 연구에서 조피볼락의 경우 암수간에 산업적 가치의 차이가 존재하는 지를 조사해 볼 필요가 있다.

#### 2. 암수 크기 분포

많은 어종에서 암수간 다형 현상이 나타난다는 사실은 잘 알려져 있다. 육안으로 바로 확인할 수 있는 외적인자를 중심으로 한 다형현상은 주로 체색(body color), 형태, 크기, 성장속도 차이로 나타난다. 어류 양식과 관련하여 관심을 모으는 부분은 암수간의 크기 및 성장속도 차이인데, 연어과 어류

(Bye & Lincoln, 1986), 틸라피아(Lowe-McConnell, 1987), 넵치류(Tabata, 1991) 등에서는 이미 경제적 가치가 높은 성별이 파악되어, 단성 양식(monosex culture)을 위한 기술 개발이 시작되었다.

해산 태생 어류인 조피볼락에 있어서 성장속도나 크기 차이는 아직 잘 밝혀져 있지 않다. 본 연구에서 조사한 결과 1년생 치어 그룹에서는 암수의 크기 차이가 뚜렷하지 않았다. 전장의 경우, 암수 모두 10 cm를 정점으로 유니모드의 안정된 종형분포(Uni-modal Bell-shaped distribution)를 보였으며(Fig. 1A), 중량의 경우 11~15 g을 정점으로 역시 유사한 분포를 나타냈다(Fig. 1B). 이상의 결과는 조피볼락의 경우 적어도 1년생까지는 암수간의 크기 차이나 성장속도 차이가 나타나지 않는다는 사실을 의미한다. 하지만 이 사실이 조피볼락 암수가 양식이라는 측면에서 동일한 가치를 갖는다는 것을 의미하지는 않는다. 번식활동이 진행되는 성성숙 시기에는 암컷이 알을 만들기 위하여 체성장보다는 생식소 성장에 더 많은 에너지를 소모하여 체성장 속도가 수컷에 비하여 둔화될 가능성이 있다. 또한 암컷의 경우 새끼를 품고 있는 임신기 동안 먹이를 거의 섭취하지 않아 성장이 둔화되고 출산 후에는 체중이 급격히 감소한다. 따라서 앞으로 성숙연령에 도달한 개체들을 대상으로 암수간 차이를 재검정해 볼 필요가 있다.

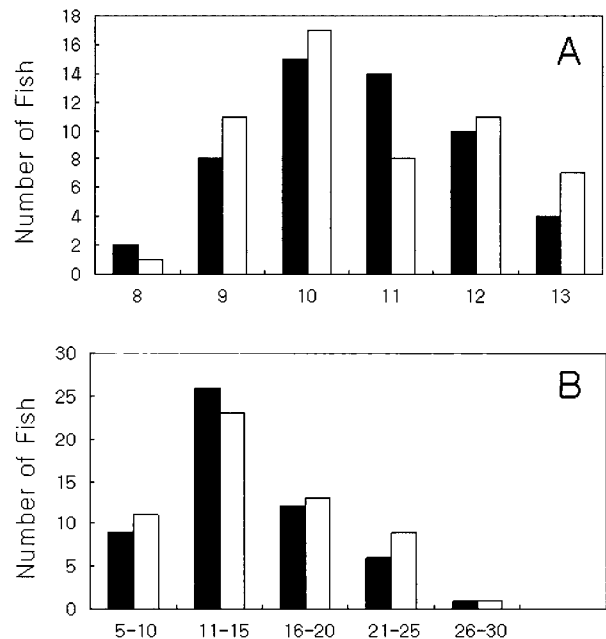


Fig. 1. Size distribution of female (■) and male (□) juvenile rockfish (1-year old) *Sebastes schlegeli*. A: Total length (cm), B: Body weight (g).

### 3. 조피볼락 자치어 암수 판별 방법

어류의 암수를 판정하는 가장 손쉬운 방법은 외관상의 특징을 이용하는 것이지만, 조피볼락을 포함한 대부분의 어류는 암수 간에 외관상의 특징이 명확히 구분되지 않아 이 방법의 사용에 어려움이 있다. 특히 성적으로 성숙하기 이전의 미성숙 개체들은 외관으로 암수를 판정하는 것이 거의 불가능하다. 따라서, 미성숙한 어체의 암수를 판정하는 여러 가지 방법이 개발되어 있다. 대표적인 것으로는 어체를 해부하여 암컷과 수컷의 생식소를 조직학적으로 조사하는 방법이다. 이 방법은 미성숙 개체 암수 판별을 위한 가장 확실한 방법으로 인정되고 있지만, 많은 시간과 경비가 소요된다는 단점을 가지고 있다. 혈액학적 방법으로 혈중 vitellogenin을 측정하는 방법이 있는데, 이 역시 성성숙이 시작되기 이전의 어체에서는 명확한 결과를 얻기 힘들다는 단점이 있다. 세포학적 접근 방법으로 세포분열중 metaphase 단계에 성염색체를 조사하는 karyotyping이 있는데, 불행하게도 대부분의 어류에서 암수 성염색체의 형태적 구분이 어려워 이 방법이 적용될 수 있는 어종은 소수에 불과하다. 따라서 신속하며 비용이 많이 들지 않고 비교적 정확성이 높은 간이 조직학적 방법인 gonad-squashing technique이 널리 이용되어지고 있다. 본 연구에서도 이 방법을 이용하여 암수를 판정하였으나, 조사과정중 조피볼락은 암컷과 수컷의 생식소가 미성숙 상태에서도 외관상으로 뚜렷이 구분될 수 있다는 사실을 발견하였다.

조피볼락의 성비를 조사하기 위하여 1년생 치어를 해부하였을 때 형태적으로 뚜렷이 구분되는 두 가지 종류의 생식소를 관찰할 수 있었다. 이 중 한 종류의 생식소는 두신(head kidney) 뒤쪽에서 시작되어 부레의 옆면을 따라 좌우 하나씩의 가는 실과 같은 형태로 미완성된 생식공까지 뻗어 있었는데, 생식소에 흑색 소포가 조밀하게 뒤덮여 있어 전반적으로 검은색을 띠었다(Fig. 2A). 이 생식소에 gonad-squashing technique을 적용하여 현미경하에서 관찰하였지만 명확하게 어떤 조직인지 구분이 되지 않았다. 보다 정확한 판정을 위하여 조직 표본을 만들어 200배로 검경하자 다수의 정소세관과 정소세관 내 정원세포들이 발견되었다(Fig. 2C). 따라서 이를 근거로 이 생식소를 정소로 판정하였다. 한편 다른 한 종류의 생식소는 정소가 발견된 곳과 같은 부위에 쌍으로 존재하고 있었지만 그 형태와 색깔이 정소와는 완전히 구분되었다. 이 생식소의 색깔은 유백색이었으며 정소보다 훨씬 두텁고 두신 쪽으로 향한 부분이 둥근 곡선을 이루고 있었다. 그리고 생식소 중앙부분으로 혈관이 지나가고 있는 모습이 유백색 바탕과 대비되어 선명하게 관찰되었다(Fig. 2B). 이 생식소에 gonad-squashing technique을 적용하여 현미경하에서 관찰하

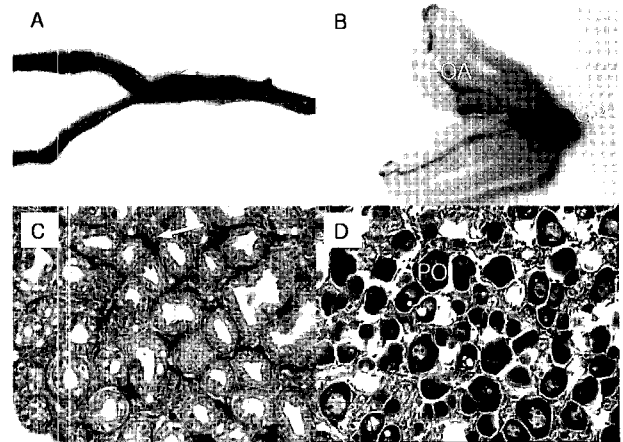
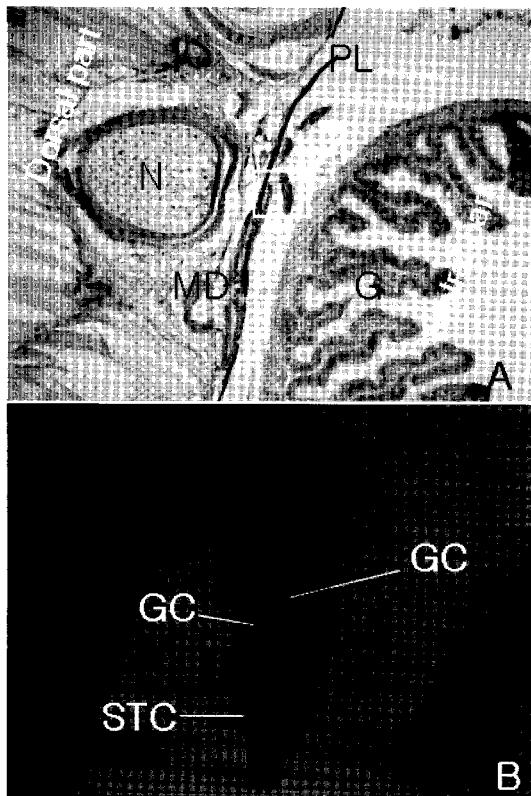


Fig. 2. External morphology (A, B) and histology (C, D) of immature *S. schlegeli* testis (A, C) and ovary (B, D) at one year old. Tissues for histology were cut into 5~8  $\mu\text{m}$  section, stained with hematoxylin & eosin and observed under microscope at  $\times 200$ . Arrows indicate dark pigmentation in the testis. GP: genital pore, OA: ovarian artery, PO: primary oocytes, ST: seminiferous tubules.

였을 때, 타원형의 많은 난모세포를 관찰할 수 있었다. 조직 표본을 제작하여 고배율로 검경하자 전형적인 주변인기의 난모세포들이 뚜렷이 관찰되었다(Fig. 2D). 따라서 이를 근거로 이 생식소를 난소로 판정하였다. 이상의 관찰 결과는 조피볼락의 경우 1년생 이하의 미성숙 개체의 경우도 해부 후 바로 생식소의 외부 형태로 쉽게 암수를 판정할 수 있다는 사실을 제시한다.

### 4. 외인성 스테로이드 호르몬에 의한 성분화 교란

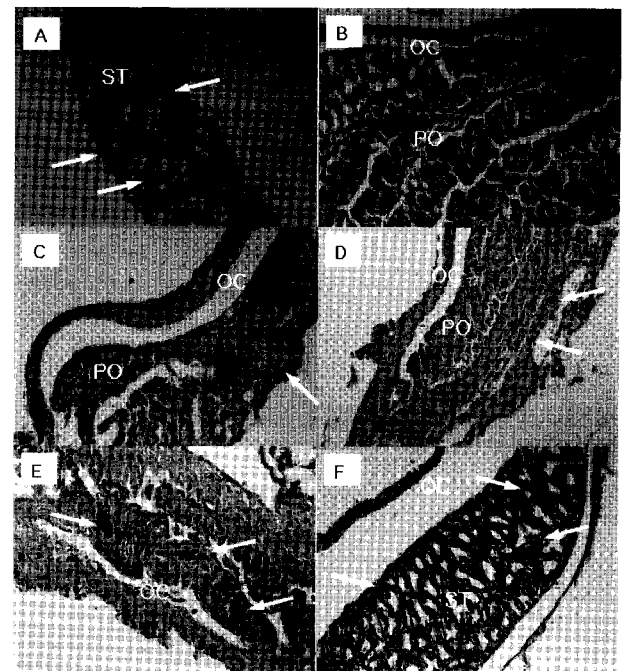
실험개시시 출산후 일령 52일된 조피볼락에서 생식소는 신장조직(중신관-mesonephric duct) 아래에서 발견되었다(Fig. 3A). 이 시기의 생식소는 아직 뚜렷한 성의 분화 흔적을 형태학적으로 파악할 수 없는 상태였으며, 소수의 생식시원 세포(germ cells)와 간질세포(stromal cells)가 존재하고 있었는데, 생식시원 세포는 둥근 형태로 투명한 세포질과 hematoxylin에 짙게 염색되는 한 개의 큰 핵을 가지고 있었다. 간질세포는 가장자리에 모여 있었는데 이는 형태적으로 확실히 구분이 되지는 않지만, 성분화가 이미 시작되었음을 시사한다(Fig. 3B). 초기정소에서는 생식시원세포 및 난원세포와 크기가 비슷한 정원세포(spermatogonia)들이 관찰되었다. 분화가 진행되면서 정소세관 seminiferous tubule들이 관찰되기 시작하였고 흑색 소포의 침착이 관찰되었다(Fig. 4A). 초기 난소에서는 간질세포 집단이 응집되어 난소강(ovarian



**Fig. 3. Undifferentiated gonads of rockfish *S. schlegeli* at 52 days post parturition.** A: a pair of primitive gonads (arrows) are located under the mesonephric ducts ( $\times 100$ ), B: an enlarged view ( $\times 1,000$ ) of the white rectangle within A. G: gut, GC: gonial cell, MD: mesonephric ducts, N: notochord, STC: stromal cell.

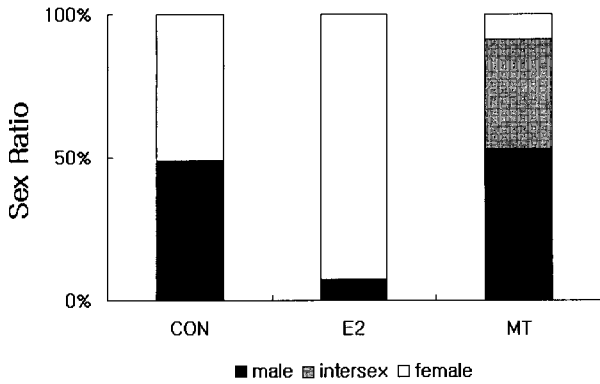
cavity)을 형성하였다. 또한 분화가 더 진행되면서 주변인기의 난모세포가 관찰되기 시작하였다(Fig. 4B).

어류의 성전환과 연관된 환경생태학적 문제(Jobling *et al.*, 1995; Gimeno *et al.*, 1996) 그리고 어류 양식 분야에 있어서 단성양식 그룹 생산 기술 확보(McAndrew, 1993) 등이 지난 반세기 동안 학계 및 산업 분야로부터 주목을 받으면서, 성스테로이드 호르몬의 어류 성분화에 대한 영향에 관한 연구가 해야될 수 없이 많이 진행되었다. 그리고 축적된 연구 자료들은 많은 어종에서 인위적 성전환을 유도하는데 필요한 가이드 라인들을 제시하고 있다. 해산 태생 어류인 조피볼락에 대해서도 Lee *et al.*(2000)에 의한 연구 결과가 발표되어 있는데, 이들의 연구 결과는 본 연구에서 얻어진 결과와 일부 차이를 보이고 있다. 본 연구에서도 성스테로이드 호르몬의 처리는 뚜렷한 성전환 현상을 유도하여 E<sub>2</sub> 처리의 경우 93%의 암컷 유도를 보였다. 그러나 MT 처리의 경우, 수컷은 53%였고, 38%가 암수의 생식소 구조를 모두 갖는 intersex



**Fig. 4. Histology of juvenile *S. schlegeli* gonads after sex differentiation at 4 months old.** Normally differentiated testis (A) and ovary (B) are distinct from each other in their structures. Various types of ovotestes (C, D, E and F) were found in MT-treated groups. Tissue sections were stained with hematoxylin and eosin and observed under microscope at  $\times 200$ . Arrows indicate dark pigmentation in the testis and ovotestes. OC: ovarian cavity, PO: primary oocytes, ST: seminiferous tubules.

로 나타났다(Fig. 4C, D, E and F; Fig. 5). 본 연구와 동일한 농도의 MT로 처리한 Lee *et al.*(2000)의 실험 결과에서는 조사된 60마리의 조피볼락 치어가 100% 수컷으로 성분화 하였다. 반면, 본 연구에서는 MT 처리한 163마리의 생식소를 조직학적으로 정밀조사하여 본 결과 38% 달하는 개체들에서 여러 형태의 intersex를 발견하였다(Fig. 4C, D, E and F). Lee *et al.*(2000)에 의한 선행 연구와 본 연구의 가장 명확한 차이점은 그들의 실험에서는 개시시 개체 크기가 전장 2.7 cm 전후 였는데, 본 연구의 경우 일령은 비슷하였지만 개체크기가 4.0 cm 전후로 더 크다는 점이다. 이는 본 연구에서 사용한 집단이 동일 연령의 다른 집단보다 성분화를 포함한 전반적 개체 발생 단계가 앞서 가고 있었을 가능성을 내포하고 있다. 이 경우, 앞에서 지적하였듯이 조피볼락의 자연 성비가 1:1이라고 본다면, 50%는 수컷으로의 분화가 진행된 상태이고 나머지 50%는 암컷으로의 분화가 진행된 상태인데, 이들이 MT에 노출되어 암컷으로 분화하던 개체들이 수컷으로 재분화하면서 암수 생식소 구조가 혼재된 intersex 개체가 되었

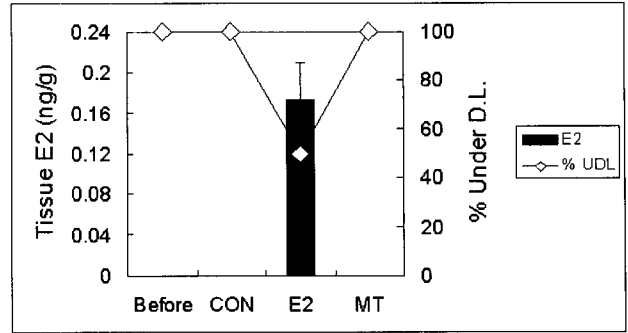


**Fig. 5.** Sex ratios of juvenile *S. schlegelii* treated with either control diet (CON), E<sub>2</sub>-containing diet (E<sub>2</sub>) or MT-containing diet (MT) for 4 weeks during the sex differentiation period. The juvenile fish in CON group differentiated into either male or female with 1:1 sex ratio. However, many fish in E<sub>2</sub> and MT groups showed either complete sex changes or abnormal gonadal structures (ovotestes).

을 것이라는 추리가 가능하다. 그러나 E<sub>2</sub> 처리의 경우 93%의 암컷 유도율을 보였기 때문에 이 설명만으로는 불충분하다. 여기서의 추리가 옳다면, E<sub>2</sub> 처리구에서도 미리 수컷으로 분화하고 있던 50%가 암컷으로 재분화하면서 유사한 비율의 intersex 개체가 나타났어야만 한다.

일부 어종에서 성분화가 암컷에서 먼저 진행되고 수컷은 미분화 상태로 있다가 약간 늦게 분화한다는 사실이 보고되어 있으며, 틸라피아에서는 이러한 경향이 매우 뚜렷한 것으로 확인되었다(Hines *et al.*, 1999). 만일 조피볼락의 경우도 암컷의 성분화가 먼저 진행되고 수컷 성분화가 뒤이어 일어난다면 본 연구의 결과가 설명 가능해진다. 이를 전제하여 결과를 다시 설명하면, E<sub>2</sub> 처리의 경우 먼저 암컷으로 성분화가 진행되었던 개체들은 그 방향으로의 성분화가 가속화되고, 아직 미분화된 상태의 잠재적 수컷 그룹은 E<sub>2</sub> 처리의 영향으로 암컷으로 분화하였을 것이다. 따라서 암컷 유도율 93%라는 결과가 나타날 수 있다. MT 처리의 경우, 미분화 상태의 절반은 수컷으로 분화하지만, 먼저 암컷으로 분화했던 절반은 일종의 내분비 교란 작용으로 수컷으로 재분화하는 사건이 일어나며 이 중 암컷으로의 분화가 많이 진행되어 있던 소수의 개체들은 MT의 영향을 극복하고 정상적인 암컷으로 분화하고, 암컷으로의 분화가 많이 진행되어 있지 않았던 개체들은 intersex화 하였을 것이다.

이상의 결과와 관찰을 바탕으로 추론하여 볼 때, 조피볼락은 성분화시 암컷으로의 성분화가 먼저 진행되는 어종일 가



**Fig. 6.** Elavation of E<sub>2</sub> level in rockfish *S. schlegelii* body after E<sub>2</sub> treatment by oral administration. %UDL: percentage of sample which was under the detection limit.

능성이 높으며, 100% 응성화를 달성하기에는 본 연구에서의 MT 처리시기가 다소 늦었다는 사실을 의미한다. 그리고 외인성 호르몬에 대한 민감도는 단순히 일령(age) 뿐만 아니라 처리 당시의 개체 발생 단계(크기)를 고려하여야 한다는 사실을 시사한다.

한편, 외인성 estrogen의 처리 후 조피볼락 치어의 체내 estradiol-17 $\beta$  (E<sub>2</sub>) 농도를 유의하게 증가시켰다(Fig. 6). RIA에 의한 호르몬 분석결과 E<sub>2</sub> 농도는 호르몬 처리전의 개체 및 대조구, MT 처리구의 개체에서 모두 측정한계 이하의 낮은 농도를 나타냈으나, E<sub>2</sub> 처리한 실험구의 어체에서는 처리 일주일 후 50%의 개체가 평균 0.17 ng/g의 농도를 나타내어 E<sub>2</sub> 처리가 실제로 어체내 E<sub>2</sub> 농도를 효과적으로 상승시켰으며, 그 결과 93%의 높은 암컷 유도율을 보였음을 입증하였다. 그러나 MT 처리구에서 testosterone 및 E<sub>2</sub> 농도는 모두 측정한계 이하로 나타나 이 종의 성분화시 스테로이드 호르몬의 역할을 구명하기 위해서는 보다 정밀한 분석시스템이 요구됨을 확인하였다.

이상의 내용을 요약해 보면, 조피볼락은 자연 성비가 1:1이며, 출산 후 100일경부터는 암수 생식소의 색깔 및 형태 차이로 암수 판정이 가능하다. 그리고 암컷이 수컷보다 빨리 성분화할 가능성이 크며, 외인성 성스테로이드 호르몬에 의한 성분화 교란이 명확하게 관찰한다. 따라서 조피볼락은 우리나라 연안역의 환경호르몬 영향을 모니터링 할 수 있는 지표종 또는 시험 어종으로 개발되어질 수 있을 것이다.

## 인용문헌

Arukwe A (2001) Cellular and molecular response to endocrine-modulators and the impact on fish reproduction.

- Mar Pollut Bull 42:643-655.
- Baroiller JF, Guiguen Y, Fostier A (1999) Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. Cell Mol Life Sci 55:910-931.
- Blazquez M, Zanuy S, Carillo M, Piferrer F (1998) Effects of rearing temperature on sex differentiation in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). J Exp Zool 281:207-216.
- Boehlert GW, Yamada J (1991) Introduction to the symposium on rockfishes. Environ Biol Fishes 30:9-13.
- Bye VJ, Lincoln RF (1986) Commercial methods for the control of sexual maturation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). Aquaculture 57:299-309.
- Chyung MK (1977) The fishes of Korea. ILJISA Publishing Co., Seoul, pp 1-727 (in Korean).
- FAO (1977) Yearbook of fishery statistics. 1976 catches and landings. Fisheries Statistics Series, Food and Agriculture Organization, United Nations Rome. Vol. 42.
- FAO (1988) Yearbook of fishery statistics. 1986 catches and landings. Fisheries Statistics Series, Food and Agriculture Organization, United Nations Rome. Vol. 62.
- FAO (1997) Review of the state of world aquaculture. FAO Fisheries Circular, No. 886 (Rev. 1). p 163.
- Gimeno S, Gerritsen A, Bowmer T, Komen H (1996) Feminization of male carp. Nature 384:212-222.
- Guerrero RD, Shelton WL (1974) An aceto-carminic squash method of sexing juvenile fishes. Prog Fish Cult 36:56-56.
- Hines GA, Boots LR, Wibbels T, Watts S (1999) Steroid levels and steroid metabolism in relation to early gonadal development in the tilapia *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cyprinidae). Gen Comp Endocrinol, 114:235-248.
- Horiguchi T, Katsu Y, Ohta Y, Watanabe H, Iguchi T, Morishita F, Matsushima O, Shiraishi H, Morita M (2004) Is inhibition of aromatase activity due to TBT exposure the primary factor for gastropod imposex? Mar Environ Res 58:459-460.
- Janer G, Lyssimachou A, Bachman J, Oehlmann J, Schulte-Oehlmann U, Porte C (2006) Sexual dimorphism in esterified steroid levels in the gastropod *Marisa cornuarietis*: the effect of xenoandrogenic compounds. Steroids 71:435-444.
- Janer G, Porte C (2007) Sex steroids and potential mechanisms of non-genomic endocrine disruption in invertebrates. Ecotoxicology 16:145-160.
- Jobling S, Reynolds T, White R, Parker MG, Sumpter JP (1995) A variety of environmental persistent chemicals, including some phthalate plasticizers, are weakly estrogenic. Environ Health Perspect 503:582-587.
- Kitano T, Takamune K, Nagahama Y, Abe SI (2000) Aromatase inhibitor and 17 $\alpha$ -methyltestosterone cause sex-reversal from genetical females to phenotypic males and suppression of P450 aromatase gene expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceous*). Mol Reprod Dev 56:1-5.
- Kwon JY, Haghpanah V, Kogson-Hurtado LM, McAndrew BJ, Penman DJ (2000) Masculinization of genetic female Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by dietary administration of an aromatase inhibitor during sexual differentiation. J Exp Zool 287:46-53.
- Kwon JY, McAndrew BJ, Penman DJ (2001) Cloning of brain aromatase gene and expression of brain and ovarian aromatase genes during sexual differentiation in genetic male and female Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Mol Reprod Dev 59:359-370.
- Lee CH, Na OS, Yeo IK, Baek HJ, Lee YD (2000) Effect of sex steroid hormones and high temperature on sex differentiation in black rockfish, *Sebastes schlegeli*. J Korean Fish Soc 33:373-377.
- Lee YD, Rho S, Chang YJ, Baek HJ, An CH (1996) Sex differentiation of the rockfish, *Sebastes schlegeli*. J Korean Fish Soc 29:44-50.
- Lowe-McConnell RH (1987) Ecological Studies in Tropical Fish Communities. Cambridge University Press, Cambridge, pp 1-382.
- McAndrew BJ (1993) Sex control in tilapiines. In: Muir JF, Robert RJ (eds.), Recent advances in aquaculture IV, Blackwell Science, New York, pp 87-98.
- Shim WJ, Kahng SH, Hong SH, Kim SK, Shim JH (2000) Imposex in the rock shell, *Thais clavigera*, as evidence of organotin contamination in the marine environment of Korea. Mar Pollut Bull 49:435-451.
- Tabata K (1991) Induction of gynogenetic diploid males

- and presumption of sex determination mechanism in the Hirame *Paralichthys olivaceus*. Nippon Suisan Gakk 57: 845-850.
- Yamada J, Kusakari M (1991) Staging and the time course of embryonic development in kurosoi, *Sebastes schlegeli*. Environ Biol Fishes 30:103-110.
- 해양수산부 (2004) 해양수산통계연보.