



황점불락, *Sebastes oblongus* 초기 생식소 형성 및 성분화

윤성종, 황형규, 박경현, 한석중, 이윤호, 김대현, 김재원^{1,*}
국립수산과학원 남해연구소, ¹강원도립대학 해양생물자원개발과

Early Gonadogenesis and Sex Differentiation of the Oblong Rockfish, *Sebastes oblongus*

Seong-Jong Yoon, Hyung-Gue Hwang, Kyung-Hyun Park, Seock-Jung Han, Youn-Ho Lee,
Dae-Hyun Kim, Jae-Won Kim^{1,*}

South sea regional fisheries institute, NFRDI, Yeosu 556-823, Korea

*Dept. of Marine Bio-resources, Gangwon Provincial University, Gangneung, 210-804, Korea

The primordial germ cells of the oblong rockfish, *Sebastes oblongus* were buried under fibrous mesenchymal tissues between gut and mesonephric duct of pre-larva with 4.0 mm total length (TL) at 1 day after the parturition. In the juvenile of 22.0 mm TL at 71 days after the parturition, the gonad composed of a large number of gonial cell and formed of cavity along the lateral side of the gonad, differentiated to the ovary. At this time, the gonad formed seminiferous tubules by somatic cells, was differentiated to the testis. The smallest oblong rockfish that possessed primary oocytes was about 42.1 mm TL at 141 days. Spermatogonia remained quiescent until most fish were over 42.1 mm TL at 141 days. The oblong rockfish the differentiated directly into male or female without an intermediate female phase at the early indifferentiated stage. Therefore, the oblong rockfish belongs to the differentiated type of gonochoristic teleosts.

Keywords: *Sebastes oblongus*, Sex differentiation, Gonochoristic type, Histological method

서 론

황점불락, *Sebastes oblongus*은 우리나라 남부 연안에 분포하는 정착성 어류로서 연안 암초에 서식하는 생태적 특징을 가지고 있고(Chyung, 1977), 저수온에 강하여 월동이 가능하며 양식용으로는 물론, 자원조성에도 유리한 산업적 가치가 높은 종이다. 따라서 황점불락의 대량생산과 산업적 경쟁력을 강화하기 위하여 출산 및 난발생 과정과 부화자어의 형태(Byun et al., 1995) 자·치어 사육(Byun et al., 1997) 및 성숙과 생식주기(Chang et al., 1995)와 같은 번식에 관한 연구도 보고된 바 있다. 그러나 실제 양식현장에서 요구되는 성장이 빠른 종묘 생산에 이용될 수 있는 정확한 성전환 처리방법을 구명하기 위한 기초작업인 황점불락의 성분화에 관한 연구는 전무한 실정이다.

본 연구는 자원조성 및 양식대상종으로 태생 어류에 속하는 황점불락을 대상으로 시원생식세포의 출현과 초기생식소의 형성, 자웅 성분화과정을 조직학적으로 조사하여, 이들의 성분화과정을 구명하고자 한다. 이를 바탕으로 종묘생산에 따른 성전환 실험과 인위적인 성성숙 조절 등의 육종학적인 연구에 도움을 주어 우리나라 해산어류 양식산업의 경쟁력 향상을 도모하고자 한다.

재료 및 방법

황점불락 성분화 실험어는 국립수산과학원 남해수산연구소 여수시험장에서 사육 관리해 온 2004년 친어(전장, 26.9~34.2 cm; 체중, 685~869 g)로부터 출산된 자어를 사용하였고, 성분화 조사를 위하여 출산 후 196일간 사육하면서 조사하였다. 자·치어 사육은 70톤 대형콘크리트 수조에서 수온 8.3~16.9°C, 염분: 32.1~34.2 psu, 유수량 2,000 L/min의 조건하에서 사육하였다. 사육 중 먹이는 출산 직후부터 35일까지 rotifer, *Brachionus plicatilis*, 출산후 10일부터 35일까지 *Artemia*, 그리고 출산후 5일부터 50일까지 초기 배합사료(우성사료, 한국)를 혼용하여 급이하였으며, 50일 이후부터는 성장단계별로 구분하여 공급하였다. 샘플 채집은 출산 후 자이 사육 기간 30일 이전에는 1~3일 간격으로 50마리씩, 사육기간 30일 이후에는 5~10일 간격으로 50마리씩 무작위 채집하여 성장을 살펴보았고, 조직분석에는 각각 10마리와 50마리를 사용하였다.

생식소의 조직학적 표본 제작은 사육기간 30일째까지는 어체 전체, 사육기간 30일 이후부터는 생식소를 어체로부터 해부하여 Bouin's solution에 일정시간 고정 후 수세와 탈수과정을 거쳐 paraffin에 포매 후 4~6 μm 두께로 연속 절편하여 조직표본

*Corresponding author: kjkw01@hanmail.net

을 만들었다. 염색은 조직표본을 xylene에서 파라핀을 제거한 후 알코올에서 저농도순의 단계로 친수 과정을 거쳐 조직 내에 수분을 첨가시킨 후 Mayer's hematoxylin에서 약 5분 동안 핵 염색을 한 후 0.5% eosin에서 약 1분 동안 세포질 염색을 실시하였다. 그리고 다시 알코올에서 고농도 순으로 탈수과정을 거쳐 xylene에서 투명과정을 거친 후 Marynol로 봉입하였다. 성비는 이론적인 암수 1:1의 비율로부터 χ^2 -test (Yate's Correction)를 실시하였다.

결 과

사육기간에 따른 성장

어체 크기와 사육 일수에 따른 성분화 과정을 관찰하기 위하여 출산 후 사육 일수에 따른 전장 및 체중 증가를 조사한 결과는 Table 1과 같다.

초기 생식소 형성

출산 직후에 장은 좁은 내장을 가지고 있었으며, 또한 신장, 간과 중신관이 잘 발달되어 있었다. 이 시기에, 시원생식세포로 추측되는 것이 중신관과 장관 사이에 명확하게 관찰 할 수 있었다(Fig. 1A). 전장 8.0 mm 개체(출산 후 5일)에서 시원생식세포의 크기가 증가하는 것을 알 수 있었다(Fig. 1B).

전장 10.1 mm 개체(출산 후 15일)에서 리본형의 원시생식소가 전장과 후장에서 발견되었다. 생식원세포의 수가 체세포와 간질조직내에서 점차적으로 증식되는 것을 알 수 있었다(Fig. 1C). 전장 11.3 mm 개체(출산 후 20일)에서 리본형 생식소의 길이가 한층 더 길어지고, 크기와 생식원세포의 숫자가 증가하였다(Fig. 1D).

Table 1. Growth on the oblong rockfish, *Sebastodes oblongus* during the experimental period

| Days after parturition | Total length (mm)* | Body weight (g)* |
|------------------------|--------------------|------------------|
| 1 | 4.0 ± 0.07 | - |
| 5 | 8.0 ± 0.05 | - |
| 10 | 9.3 ± 0.09 | - |
| 15 | 10.1 ± 0.12 | - |
| 20 | 11.3 ± 0.16 | - |
| 25 | 12.0 ± 0.13 | - |
| 30 | 12.5 ± 0.12 | - |
| 40 | 14.2 ± 0.25 | - |
| 50 | 16.2 ± 0.19 | 0.03 ± 0.02 |
| 60 | 19.7 ± 0.21 | 0.72 ± 0.10 |
| 71 | 22.0 ± 0.31 | 0.75 ± 0.15 |
| 80 | 21.2 ± 0.18 | 0.79 ± 0.12 |
| 114 | 23.6 ± 0.35 | 1.92 ± 0.75 |
| 141 | 42.1 ± 1.52 | 6.13 ± 1.01 |
| 175 | 53.2 ± 1.11 | 8.82 ± 1.52 |
| 196 | 63.8 ± 0.98 | 10.31 ± 2.35 |

*Mean ± S.D.

-No measure.

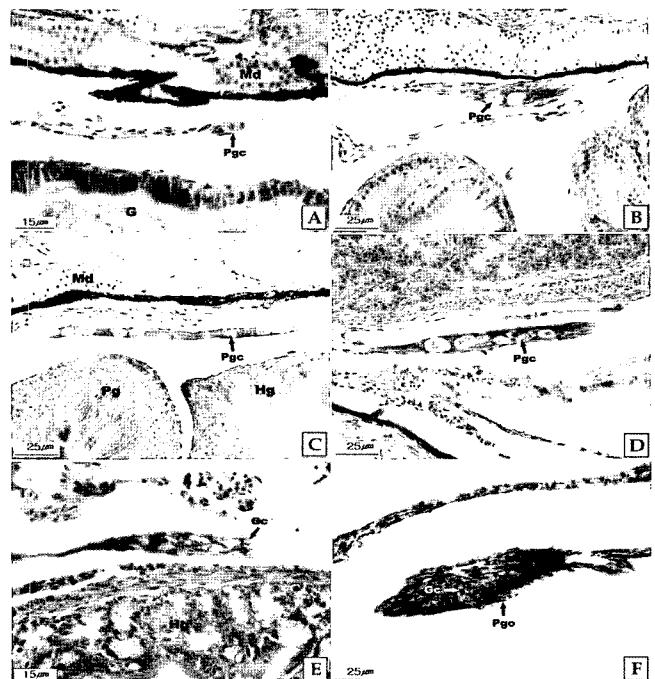


Fig. 1. Sagittal section of sexually indifferent gonad of oblong rockfish, *Sebastodes oblongus*. A: Pre-fry, 1 day after parturition (T.L. 4.0 mm), B: The fry, 5 days after parturition (T.L. 8.0 mm), C: The fry, 15 days after parturition (T.L. 10.1 mm), D: The fry, 20 days after parturition (T.L. 11.3 mm), E: The fry, 40 days after parturition (T.L. 14.2 mm), F: The fry, 60 days after parturition (T.L. 19.7 mm), G: gut, Gc: gonial cells, Hg: hindgut, Md: mesonephric duct, Pg: pregut, Pgc: primordial germ cells, Pgo: primitive gonad.

였다(Fig. 1D). 전장 14.2 mm 개체(출산 후 40일)의 생식원세포가 신장 바로 아래와 복강 후반부 말단에 이동하여 생식용기를 형성하였다(Fig. 1E). 이후, 전장 19.7 mm 개체(출산 후 60일)에 생식소 크기가 급격하게 증가하였다(Fig. 1F).

난소와 정소의 분화

출산 후 71일째 개체에서, 생식소의 난소박판과 유사한 구조를 형성하고 다수의 생식원세포로 구성된 생식소는 난소로 발달하며, 이 시기에 체세포들이 곡정세관을 형성하는 생식소는 정소로 분화된다는 것을 조직학적으로 조사할 수 있었다. 전장 22.0 mm 개체(출산 후 71일)에서, 활성석인 유사분열을 수반하는 추정되는 난소의 생식원세포의 수가 증가되는 것을 알 수 있었다(Fig. 2A). 일부에서 추정 난소박판 구조와 난소강이 관찰되었다. 전장 42.1 mm 개체(출산 후 141일)에서, 생식원세포가 난원세포로 발달하였고 생식원세포주변에 난소조직이 형성되었다. 난형 또는 둥근형의 난원세포는 생식원세포와 명확하게 구별되었다(Fig. 2B). 전장 63.8 mm 개체(출산 후 196일)에서, 초기 난모세포를 가지는 것으로 나타났다(Fig. 2C). 전장 22.0 mm 개체(출산 후 71일)에서, 수컷 생식소를 그 자체의 형태로써 알 수 있었다. 정소로 추정되는 생식소는 섬유성 결합 조직층과 분리된 생식원세포를 가지는 수정소관을 형성하는 정

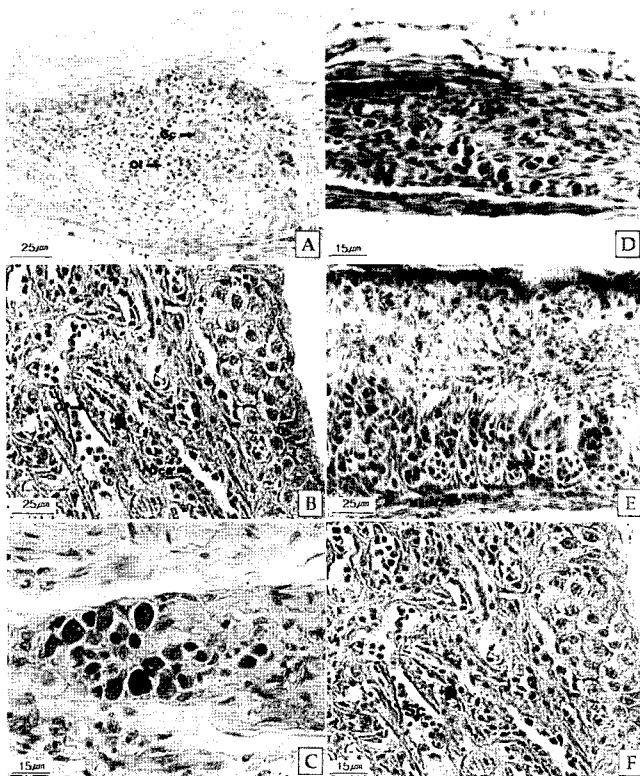


Fig. 2. Sagittal Section of early ovary and testis of oblong rockfish, *Sebastes oblongus*. A-C: Early ovary. A: Juvenile, 71 days after parturition (T.L. 22.0 mm), B: Juvenile, 141 days after parturition (T.L. 42.1 mm), C: Juvenile, 196 days after parturition (T.L. 63.8 mm), D-F: Early testis. D: Juvenile, 71 days after parturition (T.L. 22.0 mm), E: Juvenile, 141 days after parturition (T.L. 42.1 mm), F: Juvenile, 196 days after parturition (T.L. 63.8 mm), Gc: gonial cells, Oc: oocyte; Oca, ovarian cavity, Ol: ovarian lamellae, Sc: spermatocyte, Sg: spermatogonia, St: seminiferous tubules.

소 성숙과 연관되는 구조적 변화를 보였다(Fig. 2D). 전장 42.1 mm 개체(출산 후 141일)의 일부에서 정소부위는 정원세포를 가지는 낭으로 채워졌으며(Fig. 2E), 전장 63.8 mm 개체(출산 후 196일)에서, 초기 정모세포를 관찰할 수 있었다(Fig. 2F).

체장에 따른 성비

출산 후 196일된 개체를 대상으로 전장에 따른 성비를 조사해 본 결과는 Table 2와 같다. 황점불락의 전장 47.1~62.0 mm에서 조사된 50개체 중 암컷 33마리, 수컷 17마리로 성비는 1 : 0.52로 나타났고, 이론적인 암수 1 : 1의 성비에 대한 χ^2 test 결과 유의차가 있는 것을 알 수 있었다($P<0.001$).

고 찰

성분화 과정을 결정하기 위하여 조직학적 방법으로써 황점불락의 출산 후 일수에 따른 각기 다른 크기에 대해 초기 생식소형성과 성분화를 평가하고자 하였다.

어류의 성분화에 관한 연구는 Robertson (1953)이 연어,

Table 2. Distribution of female and male according to total length in 196 days after parturition

| Total length (mm) | Female | Male |
|-------------------|--------|------|
| 47.1 ~ 50.0 | 6 | 3 |
| 50.1 ~ 53.0 | 8 | 3 |
| 53.1 ~ 56.0 | 9 | 4 |
| 56.1 ~ 59.0 | 5 | 3 |
| 59.1 ~ 62.0 | 5 | 4 |

*Oncorhynchus keta*를 대상으로 연구한 아래 Yamamoto (1969)는 생식소 형태, 자웅동체, 유전적 성결정 및 성분화에 미치는 성스테로이드 영향 등의 종래 단편적 연구들을 모아 체계화시켰다. 성분화 및 초기생식소 형성과정 동안 시원생식세포의 구별은 일반적으로 세포의 크기, 세포질과 핵의 비율 그리고 염색성에 기초하고 있다(Satoh, 1974). 본 연구에서도 망상어, *Ditrema temmincki* (Lee and Lee, 1996)와 마찬가지로 시원생식세포는 거의 난형이며, 주변의 체세포들 보다 상당히 크고 뚜렷한 핵을 가지며, 염색성에서도 주변의 체세포와는 뚜렷한 차이를 보여 시원생식세포의 세포질은 강한 호산성의 염색성을 나타내었다. 한편, 같은 불락류인 조피불락, *Sebastes schlegeli* (Lee et al., 1996)에서도 출산 후 2일에 시원생식세포가 장관과 중신사이에서 나타나 출현시기와 위치가 유사한 것을 알 수 있었다.

시원생식소가 생성되면, 시원생식세포는 내배엽 조직과 밀접하게 연관되어 있고 등쪽 간충직을 통해 생식소로 추정되는 장소로 이동하게 된다(Devlin and Nagahama, 2002). 시원생식세포는 망상어(Lee and Lee, 1996)와 조피불락(Lee et al., 1996)에서 이 루트를 따라서 등쪽 간충직에서 동정되었으며, 이를 연구는 다른 척추동물처럼 어류에서도 시원생식세포 이동이 등쪽 간충직을 통해 일어난다는 것을 알 수 있다.

생식소 분화는 경골어류에서 여러 형태로 일어날 수 있어서, 생식소가 바로 발달해서 성성숙시 최종적으로 난소나 정소로 되는 경우에서부터 동시에 기능적 암수 생식소를 가지는 동시성 자웅동체에 이르는 다양한 양상을 보인다. 즉, 어류의 성분화과정은 자웅이체형과 자웅동체형으로 크게 구분된다. 그리고 자웅이체형은 초기 성분화 과정에서 자성단계의 유무에 따라 분화형과 미분화형으로 나누고 있다(Yamamoto, 1969). 초기 성분화 과정에 자성단계 없이 정소와 난소로 분리되는 분화형은 연어(Robertson, 1953). 청어과에 속하는 *Brevoortia patronus* (Combs, 1969), 무지개송어(Takashima et al., 1980), 큰 가시고기(Shimizu and Takahashi, 1980), 넙치(Lee and Lee, 1990) 및 은어, *Plecoglossus altivelis* (Bang et al., 2000) 등에서 볼 수 있다. 그리고 미분화성 자웅이체형은 잉어, *Cyprinus carpio* (Davies and Takashima, 1980), 잉어과에 속하는 *Barbus tetrazoa tetrazoa* (Takahashi and Shimizu, 1983), *Tilapia zilli* (Yoshikawa and Oguri, 1978) 등에서 볼 수 있다. 황점불락인 경우 초기 성분화 단계에서 자성단계를 거치지 않고 난소와 정소로 분화되는 분화성 자웅이체에 속한다는 것을 확인할 수 있었다.

대부분 척추동물의 성은 성적 미분화 상태에서 개체발생의 진행과 성장 과정중에 여러 가지 요인에 의해 난소 또는 정소의 형태적 기능적인 특징을 가지게 된다. 같은 태생어인 망상어(Lee and Lee, 1996)의 암수 성비는 1.65 : 1로서 임컷이 높게 나타나 본 연구 결과와 비슷한 양상을 띠었다. 하지만 Chang et al. (1995)은 황점불락 자연산 치어를 양성한 성어의 암수 성비를 1 : 1.09로서 보고하여 출산후 196일의 마성어로 조사한 본 연구 결과와 차이를 볼 수 있었는데, 성장하면서 생리적, 환경적 요인에 의한성이 변화할 수 있으므로 성결정 요인에 대해 계속적인 연구가 수행되어야겠다고 사료된다.

한편, 황점불락의 생산성을 크게 높일 수 있는 것으로 인위적인 성전환을 통하여 전 자성 또는 전 웅성을 만들 수 있는데, 이에 앞서 성스테로이드 호르몬 투입의 최초시기 및 처리기간은 성분화가 이루어지는 출산 후 71일의 10~20일 전인 출산 후 50~60일이 적당하다고 판단되었다.

요 약

황점불락, *Sebastes oblongus*은 다른 양식 품종보다 저수온에 대해 내성이 강하고 고가의 남해안 특산품으로 알려져 있다. 이들의 효율적인 종묘생산과 육종학적인 연구를 위하여 인위적인 성성숙 조절의 기초자료로서 성분화에 대해 먼저 조사하였다.

시원생식세포는 출산 후 2일, 전장 3.0 mm 개체에서 장관과 중신 사이의 섬유성 간충직에 묻혀 식별되었다. 출산 후 71일의 치어에서, 생식소의 주변 부위에 강(cavity)을 형성하고 다수의 생식원세포로 구성된 생식소는 난소로 발달한다. 이 시기에 체세포들이 곡성세관을 형성하는 생식소는 정소로 분화된다. 초기 난모세포를 가지는 소형의 황점불락은 출산 후 141일째의 치어들에서 나타났고, 정원세포 역시 이 시기에 관찰되었다. 따라서 황점불락은 초기 성분화 단계에 자상을 거치지 않고 난소와 정소로 바로 분화되었다. 이들 종은 분화형의 자웅이체에 속한다.

감사의 글

실험에 많은 도움을 준 남해수산연구소 양식연구팀 김원호, 박재송님께 감사를 드리며 본 연구는 국립수산과학원 남해수산연구소 양식연구팀 경상과제인 남해 특산 품종 양식산업화 기술개발 연구(RP-2006-AQ-017)의 결과입니다.

참고문헌

Bang, I. C., S. Y. Park, Y. A. Lee, C. H. Lee, S. Y. Kim and K. K. Kim, 2000. Early Gonadogenesis and sex differentiation in sweet fish, *Plecoglossus altivelis*. J. Aquaculture, 13(3), 215-

- 222.
- Byun, S. G., B. H. Kim, S. J. Han and Y. B. Moon, 1997. Birth and larvae culture of oblong rockfish, *Sebastes oblongus*. Bull. Nat'l. Fish. Res. Dev. Institute, 53, 81–88.
- Byun, S. G., C. S. Go and Y. B. Moon, 1995. Egg development and morphology of larvae of the oblong rockfish, *Sebastes oblongus*. Bull. Nat'l. Fish. Res. Dev. Agency, 50, 31–39.
- Chang, Y. J., H. K. Lim and S. G. Byun, 1995. Gonadal maturation and reproductive cycle in oblong rockfish, *Sebastes oblongus*. J. Aquaculture, 8(1), 31–46.
- Chyung, M. K., 1977. The fishes of Korea. Ilji-sa Publishing Co., Seoul, 501 pp.
- Combs, R. B., 1969. Embryogenesis, histology and organology of the ovary of *Brevoortia patronus*. Gulf Res. Rept., 2(4), 333–436.
- Davies, P. R. and F. Takashima, 1980. Sex differentiation in common carp, *Cyprinus carpio*. J. Tokyo Univ. Fish., 66(2), 191–199.
- Devlin, R. H. and Y. Nagahama, 2002. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. Aquaculture, 208, 191–364.
- Lee, J. S. and Y. D. Lee, 1996. Early gonadogenesis and sex differentiation in the viviparous teleost, *Ditrema temmincki*. J. Kor. Fish. Soc., 29(1), 35–43.
- Lee, Y. D., S. Rho, Y. J. Chang, H. J. Baek and C. M. An, 1996. Sex differentiation of the rockfish, *Sebastes schlegeli*. J. Kor. Fish. Soc., 29(1), 44–50.
- Lee, Y. D. and T. Y. Lee, 1990. Sex differentiation and development of the gonad in the flounder, *Paralichthys olivaceus*. Bull. Mar. Res. Inst. Cheju Nat'l. Univ., 14, 61–86.
- Robertson, J. G., 1953. Sex differentiation in the Percifid salmon, *Oncorhynchus keta*. Can. J. Zool., 31, 73–79.
- Satoh, N., 1974. An ultrastructural study of sex differentiation in the teleost *Oryzias latipes*. J. Embryol. Exp. Morph., 32, 195–215.
- Shimizu, M. and H. Takahashi, 1980. Process of the sex differentiation of the gonad and gonoduct of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus* L. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 31(1), 137–148. (in Japanese)
- Takahashi, H. and M. Shimizu, 1983. Juvenile intersexuality in a cyprinid fish, the sumatra barb, *Barbus tetrazoa tetrazoa*. Bull. Fax. Fish. Hokkaido Univ., 34(2), 69–78.
- Takashima, F., R. Patino and M. Nomura, 1980. Histological studies on the sex differentiation in rainbow trout. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 46(11), 1317–1322.
- Yamamoto, T., 1969. Sex differentiation. In Fish Physiology. Academic press, New York, pp. 117–158.
- Yoshikawa, H. and M. Oguri, 1978. Sex differentiation in a Cichlid, *Tilapia zilli*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 44(4), 313–318.

원고접수 : 2006년 10월 21일

수정본 수리 : 2006년 11월 16일