

수산학석사 학위논문

성전환 및 잡종 유도 기법을 통한
송사리속 어류의 유전 육종



이 논문

제출함

2006년 2월

부경대학교 대학원

수 산 생 물 학 과

강 선 영

강선영의 수산학석사 학위논문을 인준함

2005년 12월 22일

주 심 이 학 박 사 조 재 윤

위 원 농 학 박 사 김 창 훈

위 원 이 학 박 사 김 동 수



목 차

목차	i
영문 요약 (Abstract)	iii
표 목차 (List of Tables)	vi
그림 목차 (List of Figures)	ix
 I. 서 론	 1
 II. 재료 및 방법	 4
1. 약어	4
2. 성전환	4
2. 1. 실험어	4
2. 2. 17 β -estradiol 처리에 의한 성전환	4
2. 3. 17 α -methyltestosterone 처리에 의한 성전환	5
2. 4. 성전환 처리군의 누적 사망을	5
2. 5. 성전환 처리군의 형태학적, 조직학적 분석	6
2. 6. 성전환 처리군의 자손 검정	6
3. 잡종화	7
3. 1. 실험어	7
3. 2. 잡종화 유도	7
3. 3. 초기 난 발생, 수정율, 부화율, 초기 생존율 조사	7
3. 4. 계측 형질 측정 및 외형 조사	8
3. 5. 성장률 조사	8

3. 6. 유도된 잡종의 성비 조사	9
4. 통계 처리	9
III. 결 과	10
1. 성전환	10
1. 1. 17β -estradiol 처리에 의한 성전환율과 누적 사망율	10
1. 2. 17α -methyltestosterone 처리에 의한 성전환율과 누적 사망률 ...	11
1. 3. 성전환 처리군의 형태학적, 조직학적 분석	17
1. 4. 성전환 처리군의 자손 검정	17
2. 잡종화	21
2. 1. 초기 난 발생, 수정율, 부화율, 초기 생존율	21
2. 2. 외형 및 계측 형질	45
2. 3. 성장률	46
2. 4. 유도된 잡종의 성비	47
IV. 고 찰	53
V. 국문 요지	58
VI. 감사의 글	60
VII. 참고 문헌	62

Genetic improvement of rice fish by induced sex reversal and interspecific hybridization

Seon Yeong Kang

*Department of Fisheries Biology, Graduate School,
Pukyong National University, Busan 608-737, Korea*

Abstract

The present study was performed to produce stable transgenic fish as a model for aquatic ecological risk assessment by induced sex reversal and interspecific hybridization with rice fish (*Oryziadae*). The results are as follows.

1. Induced sex reversal of asiatic rice fish

1-1 Feminization of asiatic rice fish by oral administration of 17 β -estradiol

Oral administration of asiatic rice fish (*Oryzias latipes*) larvae were treated with 17 β -estradiol in 50, 100 and 200 mg/kg diets for 20, 40 and

60 days. Survival of the highest dose (200 mg/kg) for 60 days group was reduced significantly (81.7%) compared with this control (91.7%). Sex ratio of untreated groups was 1 : 1 (female : male); however, female incidence of all treated groups were higher than 55.4%. χ^2 values of experimental group indicate that sex change was taken place effectively in all treated groups ($P < 0.001$).

1-2. Masculinization of asiatic rice fish by oral administration and immersion of 17 α -methyltestosterone

Oral administration of asiatic rice fish (*Oryzias latipes*) larvae with 17 α -methyltestosterone in 40 mg/kg diets for 60 days altered external morphology. Survival of the oral administration group was not different from that of the control (92%). Incidence of males was significantly higher than untreated control ($P < 0.05$).

Immersion of 17 α -methyltestosterone in 200 ng/ ℓ for 20, 40 and 60 days altered external morphology. Survival of the immersion group at the longest duration (60 days) was reduced significantly (81%) than untreated control (93.3~91.7%). Sex ratio of untreated groups was close to 1 : 1 (female : male); however, male induction rates of all treated groups were higher than 64.3%.

2. Interspecific hybridization between asiatic rice fish and rice fish

Viable interspecific hybrids between asiatic rice fish (*Oryzias latipes*) and rice fish (*O. sinensis*) were produce. Hybrids were similar in external appearance and morphometric traits which showed intermediate

characteristics of their parents. Fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidences and early survival rate of hybrids were also similar to their parental species. however, hatching time was similar to those of female parents. Egg diameter and size of the larvae of hybrids were intermediate of their parents ($P < 0.05$). The growth rate of hybrids were also similar of their parents ($P < 0.05$).

표 목차 (List of Tables)

Table 1. Effect of various concentrations of administration treatment with 17 β -estradiol (E ₂) for 20 days on survival and sex ratios of <i>Oryzias latipes</i>	12
Table 2. Effect of various concentrations of administration treatment with 17 β -estradiol (E ₂) for 40 days on survival and sex ratios of <i>Oryzias latipes</i>	13
Table 3. Effect of various concentrations of administration treatment with 17 β -estradiol (E ₂) for 60 days on survival and sex ratios of <i>Oryzias latipes</i>	14
Table 4. Survival rate and sex ratios of <i>Oryzias latipes</i> exposed for 60 days with 40 mg/kg diet of 17 α -methyltestosterone.	15
Table 5. Effect of various durations and 200 ng/ ℓ concentration of immersion treated 17 α -methyltestosterone on survival and sex reversal of <i>Oryzias latipes</i>	16
Table 6. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of <i>Oryzias latipes</i> produced from crossed with pseudofemale (XY) and normal	

male (XY).	22
Table 7. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of <i>Oryzias latipes</i> produced from crossed with pseudomale (XX) and normal female (XX).	24
Table 8. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of pseudomale (XX), and pseudofemale (XY), control <i>Oryzias latipes</i>	26
Table 9. Data of progeny tests crossed with sex reversed female and normal male.	27
Table 10. Data of progeny tests crossed with sex reversed male and normal female.	29
Table 11. Characteristics of egg development in <i>Oryzias latipes</i> , hybrid between <i>O. latipes</i> and <i>O. sinensis</i> , and <i>O. sinensis</i>	32
Table 12. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of <i>Oryzias latipes</i>	38
Table 13. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of hybrid between <i>Oryzias latipes</i> and <i>O. sinensis</i> (LS).	40

Table 14. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of hybrid between <i>Oryzias sinensis</i> and <i>O. latipes</i> (SL).	41
Table 15. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of <i>Oryzias sinensis</i> . ·	42
Table 16. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of F2 hybrid between two species, 2SL.	44
Table 17. Distribution of dorsal fin ray, pectoral fin ray, anal fin ray, caudal fin ray numbers in sample of <i>Oryzias latipes</i> , hybrid between <i>O. latipes</i> and <i>O. sinensis</i> , and <i>O. sinensis</i>	48
Table 18. Diameters of fertilized eggs and total length of hatched larvae <i>Oryzias latipes</i> , hybrid between <i>O. latipes</i> and <i>O. sinensis</i> , and <i>O. sinensis</i>	49
Table 19. Sex ratios of <i>Oryzias latipes</i> , hybrid between <i>O. latipes</i> and <i>O. sinensis</i> , and <i>O. sinensis</i>	52

그림 목차 (List of Figures)

Fig. 1. External morphology of <i>Oryzias latipes</i> used in this experiment. -18	
Fig. 2. Transverse section of ovaries and testes of <i>Oryzias latipes</i>19	
Fig. 3. Egg development of <i>Oryzias latipes</i>33	
Fig. 4. Egg development of hybrid between <i>Oryzias latipes</i> and <i>O. sinensis</i> , LS.34	
Fig. 5. Egg development of <i>Oryzias sinensis</i>35	
Fig. 6. Egg development of hybrid between <i>Oryzias latipes</i> and <i>O. sinensis</i> , SL.36	
Fig. 7. Egg development of F2 hybrid between two species, 2SL.37	
Fig. 8. Growth in total length of <i>Oryzias latipes</i> , and hybrid between <i>O. latipes</i> and <i>O. sinensis</i> , and <i>O. sinensis</i>50	
Fig. 9. Growth in body weight of <i>Oryzias latipes</i> , hybrid between <i>O. latipes</i> and <i>O. sinensis</i> , and <i>O. sinensis</i>51	

I. 서론

동아시아에 널리 분포하는 소형 담수어인 송사리 *Oryzias latipes* (asiatic ricefish)는 동갈치목(Beloniformes), 송사리과(adrianichthyidae), 송사리속(Oryziadea) 어류로써 현재까지 1屬 12種이 보고되었으며(Uwa and Magtoon, 1986), 한국산 송사리 속 어류 중 송사리(*O. latipes*)는 한국과 일본에 널리 분포하는 종으로서, 한국의 동해로 유입하는 하천 지역에 분포한다(김과 문 1987; Sakaizumi와 Jeon, 1987; Uwa와 Jeon, 1987; Kim과 Lee, 1992; 김과 강, 1993; 김, 1997). 송사리(*O. latipes*)는 세대가 짧고, 번식 능력이 뛰어나며, 실험실내 사육이 용이하여 생물학, 발생학, 유전학 등의 실험 재료로써 여러 분야에서 연구되어 왔으나 오랜 기간 실험실내 사육으로 인하여 유전적 다양성이 결여되어 있는 단점이 있다.

어류의 유전자 조작을 통한 육종 기법인 성전환 기법은 송사리를 대상으로 하여 성분화가 일어나기 전인 치어에 여성화 호르몬 또는 남성화 호르몬을 경구 투여하여(Yamamoto ,1953; Yamamoto 1958) 성전환을 유도한 이후 어류에서 많은 연구가 수행되었다(Pandian and Sheela, 1995; Devlin and Nagahama, 2002). 경골 어류의 성분화 과정은 다양하고 불안정하여(Francis, 1992), 호르몬 처리에 의한 성전환 유도로 인해 성분화의 과정을 이해하는데 큰 역할을 하고 있다. 이에따라 성전환 실험은 55종의 어류에서, 31종(16 androgens, 15 estrogens)의 성 호르몬에 처리되었다는 결과가 보고되어 있다(Devlin and Nagahama, 2002). 수컷화 호르몬 중 17 α -methyltestosterone이 가장 널리 사용되고 있으며 Salmonidae, Cichlidae, Cyprinidae, Anabantidae, Poeciliidae, Ictaluridae 등 39종에서 연구되어졌고

(Gomelsky et al., 1999; Dabrowski et al., 2000), 암컷화 호르몬 중 17 β -estradiol이 어류 암컷화에 효과적임이 판명되어 현재 어류 암컷화 호르몬 중 가장 보편적으로 사용되며 Salmonidae, Cichlidae, Cyprinidae, Anabantidae, Poeciliidae 및 Cyprinodontidae 등 36종 이상에서 연구되어졌다(Sehgal and Saxena, 1997; Blazquez et al., 1998).

성공적인 성전환을 유도하기 위하여 성호르몬을 최적의 농도로 처리 하여야 하며 어종 간 대사 과정의 차이 등 종 특이성으로 인해 다르게 나타나므로 완벽한 생리학적 성전환을 위해서는 성호르몬에 따라 다양한 처리 방법과 조건이 요구된다(Pandian and Sheela, 1995; Devlin and Nagahama, 2002). 이러한 성전환 호르몬의 처리 방법으로는 어체 근육으로의 삽입법(implantation method), 사료에 호르몬을 첨가하여 처리하는 경구 투여법(feeding method), 사육수에 직접 호르몬을 용해, 희석하여 처리하는 침적법(immersion method)등이 있으며 이중 경구 투여법과 침적법이 가장 보편적으로 사용되고 있다(Pandian and Sheela, 1995).

대륙 송사리는 동갈치목(Beloniformes), 송사리과(adrianichthyidae), 송사리속(Oryziadea) 어류로써 중국과 우리나라의 서해안에 서식하는 소형 담수어다. 송사리와 대륙 송사리는 송사리 속 어류로써 두 종은 우리나라의 동해안과 서해안에 각각 서식하여 두 종은 지리적으로 격리되어 분포하고 있다.

어류의 잡종화에 대한 연구는 19세기 말 부터 자연계에 존재하는 개체에 대한 관심에서 비롯되었으며, 잡종 및 잡종화는 동일한 종내의 계통간의 잡종화도 포함 가능하나 엄밀한 의미에서는 한 종의 정자 전핵(pronucleus)과 다른 종의 난자 전핵의 수정 즉, 이종간 수정(heterospecific insemination)을 의미한다. 따라서 잡종 및 잡종화를 통해 이형성(heterozygosity)을 증가시키고, 잡종강세(heterosis, hybrid vigour)를 유도하여 우

량형질이 획득된 개체를 생산할 수 있어 어류 유전 육종 분야에서 중요시되고 있다.

우량 형질 획득을 위한 이러한 종간잡종(interspecific hybrid)의 유도는 연어과 어류(Ord et al., 1976; Parsons et al., 1986), 틸라피아(Chappell, 1979; Giudice, 1966), 메기과 어류(Dunham and Smitherman, 1985), 미꾸리속 어류(Kim et al., 1995; 박, 1992)등에서 폭넓게 연구된 바 있다.

잡종화가 유도된 경우 일반적으로 불임화 되는 경향이 있고 초기 생존율이 양친보다 낮기 때문에 잡종화 유도 시 매번 친어의 산란 유도 및 인공 수정과정을 거쳐야하는 어려움이 있으나(Kim et al., 1995; Colin, 1993), 송사리(♀)와 대륙 송사리(♂)간 그리고 대륙 송사리(♀)와 송사리(♂)간의 잡종화가 유도된 개체들은 수정율, 부화율, 초기 생존율이 양친과 비교 시 큰 차이가 없으며(김과 김, 1993), 생식능력이 있는 것으로 보고되고 있어(김과 김, 1993) 자연 생태계에 존재하지 않는 새로운 모델 어종으로 개발이 가능한 어종이다.

따라서 본 연구에서는 해양 수산 LMO의 위해성 평가를 위한 model 어류를 개발하기 위하여 송사리 (*O. latipes*)와 대륙 송사리 (*O. sinensis*)의 교배를 통해 잡종 2세대까지 확립시켜 자연계에 존재하지 않는 새로운 모델 어종으로의 개발 가능성을 조사하였고, 송사리(*O. latipes*)를 성전환하여 이들의 자손검정을 통해 전암컷화 또는 전수컷화 할 수 있는 가능성을 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 약어(abbreviation)

OL : *Oryzias latipes* ♀ × *O. latipes* ♂

OS : *O. sinensis* ♀ × *O. sinensis* ♂

LS : *O. latipes* ♀ × *O. sinensis* ♂

SL : *O. sinensis* ♀ × *O. latipes* ♂

2SL : SL ♀ × SL ♂

2. 성전환

2-1. 실험어

본 실험에 사용된 송사리는 축산 기술 연구소에서 분양받아 실험실내 1년간 사육된 친어를 사용하였으며, 36 × 22 × 26 cm 유리 수조에서 26 ± 0.5℃로 유지 하면서 광주기 조절(14L:10D)을 하여 사육하였다.

2-2. 17β-estradiol 처리에 의한 성전환

난황이 흡수되고 첫 먹이를 먹기 시작하는 부화 후 3일째부터 17β-estradiol (E₂, Sigma Co.)이 첨가된 사료를 경구 투여하였다. 처리된 E₂의 농도는 50, 100, 200 mg/kg diet (Yamamoto, 1958)로 하여 각 농도별로 20, 40, 60일간 처리하였으며, 대조군으로 95% 에탄올과 E₂를 섞지 않은 사료를 공급하였다. 실험 기간 동안 26 ± 0.5℃의 온도 조건을 유지하면서 사육하였다.

성전환에 처리된 실험사료는 E₂를 95% 에탄올에 녹인 stock solution을 실험 농도에 맞게 깨끗한 사육수에 희석한 후, 충분히 통기하여 넘치 치어 사료(우성사료, 한국)에 섞어 반죽하여 만들었으며, 실험기간 동안 냉동 보관하였다. 대조군의 사료는 E₂를 섞지 않고 위와 동일한 방법으로 제조하였다. 사료는 1일 10회에 걸쳐 공급하였으며 공급한 사료를 다 먹기 전에 새로운 사료를 공급하였다.

2-3. 17 α -methyltestosterone 처리에 의한 성전환

난황이 흡수되고 첫 먹이를 먹기 시작하는 부화 후 3일째부터 17 α -methyltestosterone (17 α -MT, Sigma Co.)이 첨가된 사료를 경구 투여법과 침적 처리법으로 처리하였다. 처리 농도는 경구 투여 시 40 mg/kg diet로, 침적 처리 시 200 ng/ℓ로 Yamamoto (1975)의 방법에 따라 처리하였다.

경구 투여에 사용된 실험 사료는 17 α -MT를 95% 에탄올에 녹인 stock solution을 40 mg/kg diet 농도에 맞게 깨끗한 지하수에 희석하여 충분히 통기시킨 후, 넘치 치어 사료(우성사료, 한국)에 섞어 반죽하여 만들었으며, 실험 기간 동안 냉동 보관하면서 제조하였다. 제조된 사료는 1일 10회에 걸쳐 60일간 공급하였으며 사료를 다 먹기 전에 새로운 사료를 공급하였다.

침적 처리를 위하여 17 α -MT를 95% 에탄올에 녹인 stock solution을 만들어 냉동 보관하면서 1일 1회 사육수를 환수 하면서 200 ng/ℓ로 사육수에 희석하여 20, 40, 60일간 처리 하였다.

대조군으로서 17 α -MT를 섞지 않은 사료를 처리 하고 사육 수온은 26 $\pm$ 0.5℃를 유지하였다.

2-4. 성전환 처리군의 누적 사망률

부화 후 3일된 송사리를 대상으로 성전환 호르몬인 E₂ 및 17 α -MT 처리

에 따른 누적 사망률을 조사하고자, 성전환 실험 시작 시점부터 실험이 종료되는 시점인 60일 동안 각각의 실험군에서 매일 사망하는 개체들의 수를 확인하였다. 성전환을 확인을 위한 인위적인 표본 개체는 사망 개체에서 제외하였으며, 자연적으로 사망한 개체만을 대상으로 조사하였다.

2-5. 성전환 처리군의 형태학적, 조직학적 분석

E₂와 17 α -MT를 처리한 실험군의 성전환율을 분석하기 위해 1차적으로 형태학적 방법으로 조사하고, 2차적으로 조직학적 방법에 의해 조사하였다.

각 각의 성전환 호르몬 처리군에서 뒷지느러미의 외부 형태가 암컷과 수컷의 중간 형질을 나타내는 개체를 1차적으로 선별한 후(Yamamoto, 1975) 선발된 개체 중 무작위 추출, 표본 하여 머리와 항문 이후의 꼬리 부위를 제거한 몸통 부분을 Bouin's 용액에 고정한 후, 평상의 파라핀 절편법에 따라 6~8 μ m 두께로 절편하여 슬라이드를 제작하였다. Harris's hematoxylin과 eosin-phloxine을 사용하여 표본을 염색한 후 광학 현미경(Nikon, Japan)하에서 검경하여 생식소의 암·수로의 성전환 양상 및 성비를 조사하였다. 이와 아울러 성전환 된 암·수의 외형 사진 촬영을 실시하였다.

2-6. 성전환 처리군의 자손 검정

성전환 처리군 중 수컷의 인자형을 동정하여 'XX' 인자형을 가지는 수컷과 암컷의 인자형을 동정하여 'XY' 인자형을 가지는 암컷을 선발하기 위하여 성전환 실험군을 성숙시기 까지 사육한 후, 정상 암컷과 수컷을 각각 교배시켜 자손을 생산 하였다. 자손 검정을 위해 사용된 성전환 실험군은 E₂ 처리군과 17 α -MT 처리군에서 각 각 6마리씩 선별하여 정상 암컷과 수컷

을 일대 일로 교배시켰으며, 대조군으로 정상 암·수 각 6마리를 일대 일로 교배하였다. 대조군과 비교하여 성전환 처리군 자손의 수정률, 부화율, 초기 생존율, 기형률을 조사하였으며, 부화 후, 60일에 생산된 자손의 성비를 판별하였다.

3. 잡종화

3-1. 실험어

본 실험에 사용된 송사리와 대륙송사리는 축산 기술 연구소에서 분양 받아 실험실내에서 사육하여 순치된 개체를 친어로 사용하였다. 36 × 22 × 26 cm 유리 수조에서 $26 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 로 유지 하면서 광주기를 조절(14L:10D)하여 알테미아와 초기 미립자 사료(이화)를 공급하면서 사육하였다.

3-2. 잡종화 유도

송사리와 대륙 송사리간의 교배 및 상반 교배를 통한 잡종화를 유도하기 위해 송사리 암컷 3마리와 대륙 송사리 수컷 3마리를 일대 일로 유리수조에 교배시켜 LS군의 잡종화를 유도하였으며, 대륙 송사리 암컷 3마리와 송사리 수컷 3마리를 일대 일로 유리수조에 교배하여 SL군의 잡종화를 유도하였다.

대조군으로서 송사리와 대륙 송사리를 암·수 각 6마리씩 일대 일로 유리수조에 교배하였다.

3-3. 초기 난 발생, 수정률, 부화율, 초기 생존율 조사

송사리, 대륙 송사리 교배 및 상반 교배를 통해 유도된 잡종을 대상으

로 초기 난 발생, 수정률, 부화율, 초기 생존율을 일대일로 교배시킨 각 실험군 당 7회 산란을 기준으로 조사하였다. 초기 난 발생은 교배시켜 나온 수정란을 광학 현미경(Nikon E400, Japan)에서 난 발생을 관찰하면서 수정된 개체의 90%이상이 동일한 단계에 도달하였을 때를 기준으로 각 단계별 시간을 기록하면서 digital camera (ARTCAM-300MI, Japan)와 viewer software (AR-UM300VI, Japan)로 사진을 찍었으며, ocular micrometer로 난의 크기를 측정하였다.

수정률은 수정 후 6시간에 전체 산란한 알 수와 사란 수, 수정란 수를 측정하여 백분율로 나타내었으며, 부화율은 전체 수정란 중에서 부화된 개체수를 백분율로 측정하였다. 초기 생존율은 유도된 잡종이 일반적으로 초기 생존율이 낮으므로(박, 1994) 부화된 자어의 난황흡수가 완료되는 시기인 부화 후 2~3일 까지의 개체수를 대상으로 측정하였다.

3-4. 계측 형질 측정 및 외형 조사

유도된 잡종과 대조군으로 사용된 송사리, 대륙 송사리에서 암·수 각 3마리씩을 선별하여 10% 중성 포르말린 용액에 고정·보관하면서 광학현미경(Nikon E400, nikon)하에서 형태학적 조사를 실시하였다.

계측 형질을 조사하기 위하여 김과 김(1993)의 방법에 의거하여 등지느러미, 뒷지느러미, 꼬리지느러미, 가슴지느러미수를 계수하여 형태학적 연관성을 조사하였다.

3-5. 성장률 조사

부화 후부터 1주 간격으로 생식소가 형성되는 시기인 2개월까지 각 실험군 당 5마리씩 100% 알코올에 고정하여 성장률을 조사하였다. 개체의 전

장은 버니어캘리퍼스로 조사하였고, 전중은 전자저울(Sartorius L420D, USA)로 mg 단위까지 측정하였다.

3-6. 유도된 잡종의 성비 조사

유도된 잡종과 대조군의 성비를 분석하기 위해 부화 후 2개월에 무작위로 30마리씩 3반복으로 표본을 추출한 후, 뒷지느러미 형태로 성비를 조사하였다. 형태학적으로 암·수가 분리된 실험군에서 무작위로 10마리씩 추출, 표본하여 머리와 항문 이후의 꼬리 부위를 제거한 몸통 부분을 Bouin's 용액에 고정한 후 평상의 paraffin 절편법으로 4~6 μm 두께로 절편하였다. 염색은 Harris's hematoxylin과 eosin-phloxine로 하였으며, 광학 현미경(Nikon, Japan)하에서 관찰하였다.

4. 통계 처리

수정률, 부화율, 초기 생존율과 기형률은 유의차 검정을 하기 위하여 ANOVA를 하였고, 성전환 처리군과 이들의 자손검정을 통한 유의차 검정을 위해 χ^2 test를 하였다.

Ⅲ. 결 과

1. 성전환

1-1. 17 β -estradiol 처리에 의한 성전환율과 누적 사망율

부화 후 난황이 흡수된 3일 된 치어에 E₂를 처리한 결과는 Table 1, Table 2와 Table 3에 나타내었다.

성전환율은 대조군이 $48.2 \pm 1.5 \sim 52.7 \pm 2.8\%$, 95% 에탄올을 처리한 실험군이 $50.0 \pm 2.6 \sim 50.9 \pm 1.5\%$ 로 나타났으며, 생존율은 대조군이 $93.3 \pm 2.9 \sim 91.7 \pm 2.9\%$, 95% 에탄올을 처리한 실험군이 $93.3 \pm 7.6 \sim 91.7 \pm 2.9\%$ 로 성전환율과 사망율에서 유의한 차이가 나지 않아 에탄올에 의한 영향이 없는 것으로 나타났다.

E₂처리 농도에 따른 기간별 성전환율은 50 mg/kg diet를 처리한 실험군이 20일에서는 $55.4 \pm 2.7\%$, 40일에서는 $63.6 \pm 2.8\%$, 60일에서는 $68.0 \pm 2.3\%$ 로 나타났으며, 100 mg/kg diet를 처리한 실험군이 20일에서는 $73.1 \pm 4.6\%$, 40일에서는 $76.0 \pm 0.9\%$, 60일에서는 $78.0 \pm 2.8\%$ 로 나타났다. 200 mg/kg diet를 처리한 실험군이 20일에서는 $67.3 \pm 4.0\%$, 40일에서는 $77.6 \pm 3.3\%$, 60일에서는 $83.3 \pm 3.6\%$ 로 나타나 모든 실험군이 호르몬을 처리하지 않은 대조군과 95% 에탄올을 처리한 실험군의 성전환율과 비교하여 유의한 차이를 나타내었다.

E₂ 처리에 의한 생존율은 50 mg/kg diet를 처리한 실험군이 20일에서 $93.3 \pm 2.9\%$, 40일에서 $91.7 \pm 2.9\%$, 60일에서 $88.3 \pm 2.9\%$ 로 나타났으며, 100 mg/kg diet를 처리한 실험군이 20일에서 $93.3 \pm 2.9\%$, 40일에서 $83.3 \pm 2.9\%$, 60일에서 $83.3 \pm 2.9\%$ 로 나타났다. 200 mg/kg diet를 처리한 실험군

이 20일에서 $86.7 \pm 5.8\%$, 40일에서 $81.7 \pm 2.9\%$, 60일에서 80.0% 로 나타나 100 mg/kg diet와 200 mg/kg diet를 40일 이상 처리 하였을 경우 대조군과 95%에탄올의 생존율을 비교 하였을 때 유의한 차이가 있는 것으로 나타났다.

따라서 E₂의 경구 투여를 통한 암컷으로의 성전환에 있어 생존율이 다른 농도에 비해 낮으나 200 mg/kg diet를 60일간 처리한 실험군의 성전환율이 가장 높게 나타났다.

1-2. 17 α -methyltestosterone 처리에 의한 성전환율과 누적 사망률

17 α -MT를 침적 처리와 경구 투여로 처리한 결과는 Table 4, Table 5와 같다.

40 mg/kg diet로 60일간 경구 투여된 17 α -MT의 성전환율은 대조군이 $47.8 \pm 6.4\%$ 인 것에 비해 $66.7 \pm 1.8\%$ 로 높게 나타났으며, 생존율은 대조군과 비교하였을 때 유의한 차이가 나타나지 않았다.

200 ng/ℓ로 침적 처리된 17 α -MT의 성전환율은 대조군이 20일에서 $51.8 \pm 1.5\%$, 40일에서 $47.3 \pm 2.8\%$, 60일에서 $52.7 \pm 1.3\%$ 로 나타난 것에 비해 20일에서 $64.3 \pm 2.2\%$, 40일에서 $82.0 \pm 0.6\%$, 60일에서 $88.0 \pm 5.9\%$ 로 처리기간이 길어질수록 성전환율이 높게 나타났으며, 생존율은 대조군이 20일에서 $93.3 \pm 2.9\%$, 40일에서 $91.7 \pm 2.9\%$, 60일에서 $93.0 \pm 0.5\%$ 로 나타났으나 200 ng/ℓ를 침적 처리한 실험군에서는 20일에서 $93.3 \pm 2.9\%$, 40일에서 $83.2 \pm 2.9\%$, 60일에서 $81.0 \pm 3.3\%$ 로 처리 기간이 길어질수록 생존율이 낮게 나타났다.

60일간 경구 투여와 침적 처리하였을 때 성전환율은 200 ng/ℓ로 침적 처리하였을 때가 경구 투여하였을 때 보다 높게 나타났으며, 생존율은 40

Table 1. Effect of various concentrations of administration treatment with 17 β -estradiol (E₂) for 20 days on survival and sex ratios of *Oryzias latipes*.¹

Concentration of E ₂ (mg/kg diet)	No. of fish exposed	Survival rate (%)	Female ratio (%)	x ² against* 1 ♀ : 1 ♂
0	20	95	47.4	
	20	95	47.4	
	20	90	50.0	
Total	60	93.3±2.9 ^a	48.2±1.5 ^a	ns
95% Et-OH	20	95	47.4	
	20	85	52.9	
	20	100	50.0	
Total	60	93.3±7.6 ^a	50.1±0.8 ^{ab}	ns
50	20	95	57.9	
	20	90	52.6	
	20	95	55.6	
Total	60	93.3±2.9 ^a	55.4±2.7 ^b	w
100	20	95	68.4	
	20	95	63.1	
	20	90	72.2	
Total	60	93.3±2.9 ^a	73.1±4.6 ^c	z
200	20	90	66.7	
	20	90	61.1	
	20	80	68.8	
Total	60	86.7±5.8 ^a	67.3±4.0 ^c	z

¹ Means with different superscripts within a column are significantly different (P < 0.05), based on ANOVA test.

* ns : not significant, w : 0.05 < P, z : 0.005 < P

Table 2. Effect of various concentrations of administration treatment with 17 β -estradiol (E₂) for 40 days on survival and sex ratios of *Oryzias latipes*.¹

Concentration of E ₂ (mg/kg diet)	No. of fish exposed	Survival rate (%)	Female ratio (%)	x ² against* 1 ♀ : 1 ♂
0	20	95	52.6	
	20	90	55.6	
	20	90	50.0	
Total	60	91.7±2.9 ^b	52.7±2.8 ^a	ns
95% Et-OH	20	90	52.6	
	20	90	50.0	
	20	80	50.0	
Total	60	91.7±5.8 ^b	50.9±1.5 ^a	ns
50	20	95	63.2	
	20	85	66.7	
	20	95	61.1	
Total	60	91.7±5.8 ^b	63.6±2.8 ^b	z
100	20	90	76.5	
	20	85	76.5	
	20	75	75.0	
Total	60	83.3±7.6 ^a	76.0±0.9 ^c	z
200	20	85	76.5	
	20	80	81.3	
	20	80	75.0	
Total	60	81.7±2.9 ^a	77.6±3.3 ^c	z

¹ Means with different superscripts within a column are significantly different (P < 0.05), based on ANOVA test.

* ns : not significant, z : 0.005 < P

Table 3. Effect of various concentrations of administration treatment with 17 β -estradiol (E₂) for 60 days on survival and sex ratios of *Oryzias latipes*.¹

Concentration of E ₂ (mg/kg diet)	No. of fish exposed	Survival rate (%)	Female ratio (%)	x ² against* 1 ♀ : 1 ♂
0	20	95	52.6	
	20	90	55.6	
	20	90	50.0	
Total	60	91.7±2.9 ^b	52.7±2.8 ^a	ns
95% Et-OH	20	90	52.6	
	20	90	50.0	
	20	80	50.0	
Total	60	91.7±5.8 ^b	50.9±1.5 ^a	ns
50	20	95	63.2	
	20	85	66.7	
	20	95	61.1	
Total	60	91.7±5.8 ^b	63.6±2.8 ^b	z
100	20	90	76.5	
	20	85	76.5	
	20	75	75.0	
Total	60	83.3±7.6 ^a	76.0±0.9 ^c	z
200	20	85	76.5	
	20	80	81.3	
	20	80	75.0	
Total	60	81.7±2.9 ^a	77.6±3.3 ^c	z

¹ Means with different superscripts within a column are significantly different (P < 0.05), based on ANOVA test.

* ns : not significant, z : 0.005 < P

Table 4. Survival rate and sex ratios of *Oryzias latipes* exposed for 60 days with 40 mg/kg diet of 17 α -methyltestosterone.

Concentration of MT (mg/kg diet)	No. of fish exposed	Survival rate (%)	Male ratio (%)	χ^2 against* 1 ♀ : 1 ♂
0	25	92	52.2	
	25	92	43.5	
Total	25	92	47.8 $\pm$ 6.4	ns
40	50	92	67.4	
	50	90	67.4	
	50	94	65.2	
Total	150	92 $\pm$ 2.0	66.7 $\pm$ 1.8	z

* ns : not significant, z : 0.005 < P

Table 5. Effect of various durations and 200 ng/ℓ concentration of immersion treated 17α-methyltestosterone on survival and sex reversal of *Oryzias latipes*.¹

Treatment durations (days)	Con. group				Exp. group			
	No. of fish exposed	Survival rate (%)	Male rate (%)	χ ² against 1♀ : 1♂	No. of fish exposed	Survival rate (%)	Male rate (%)	χ ² against 1♀ : 1♂
20	20	95	52.6		20	95	63.2	
	20	95	52.6		20	95	63.2	
	20	90	50.0		20	90	66.7	
Total	60	93.3±2.9 ^b	51.8±1.5 ^{ab}	ns	60	93.3±2.9 ^b	64.3±2.2 ^c	z
40	20	95	47.4		20	85	82.4	
	20	90	50.0		20	85	82.4	
	20	90	44.4		20	80	81.3	
Total	60	91.7±2.9 ^b	47.3±2.8 ^a	ns	60	83.3±2.9 ^a	82.0±0.6 ^d	z
60	30	93.3	53.6		30	83.3	94.1	
	30	93.3	53.6		30	83.3	82.4	
	40	92.5	51.4		40	77.5	88	
Total	100	93±0.5 ^b	52.7±1.3 ^b	ns	100	81.0±3.3 ^a	88.0±5.9 ^e	z

¹ Means with different superscripts within a column are significantly different (P < 0.05), based on ANONA test.

* ns : not significant, z : 0.005 < P

40mg/kg diet로 경구 투여하였을 때가 높게 나타났다.

1-3. 성전환 처리군의 형태학적, 조직학적 분석

E₂와 17 α -MT가 처리된 실험군의 성전환을 분석하기 위하여 일차적으로 형태학적 방법으로 조사하였다(Fig 1). 일반적으로 암컷은 수컷에 비해 크기가 크고 체형은 복부가 비대한 특징을 나타내며 수컷은 암컷에 비해 작고 체형이 일자형이며 뒷지느러미의 형태는 수컷이 사각형이며, 암컷이 삼각형의 형태를 나타내는 것이 특징이다(Fig 1. A, B).

Yamamoto (1975)방법에 의거하여 성전환 처리군의 분석을 위해 뒷지느러미 형태와 체형이 중간 형질을 나타내는 개체를 선별하였다.

E₂가 처리된 모든 실험군에서 대조군에서 볼 수 없었던 중간 형질의 암컷이 발견되었다(Fig 1. C). 뒷지느러미 형태는 사각형과 삼각형의 중간 형질을 나타내며, 체형은 수컷의 특징을 나타내는 개체를 선별하여 조직학적 분석을 실시한 결과 모두 암컷으로 나타났으며, 간성은 나타나지 않았다(Fig 2, C).

17 α -MT가 처리된 실험군에서 중간 형질을 나타내는 수컷이 발견되었다(Fig 1, D). 뒷지느러미 형태는 사각형과 삼각형의 중간 형질을 나타내며, 체형은 암컷의 특징을 나타내었다. 이들 중 일부를 선별하여 이차적으로 조직학적 분석을 한 결과 모두 수컷으로 나타났으며, 간성은 관찰되지 않았다(Fig 2, D).

1-4. 성전환 처리군의 자손 검증

성전환 처리군의 수정률, 부화율, 초기 생존율을 측정하기 위하여 정상 암컷에 대해 성전환 수컷(실험군) 또는 정상 수컷(대조군)을 교배 시킨 결과

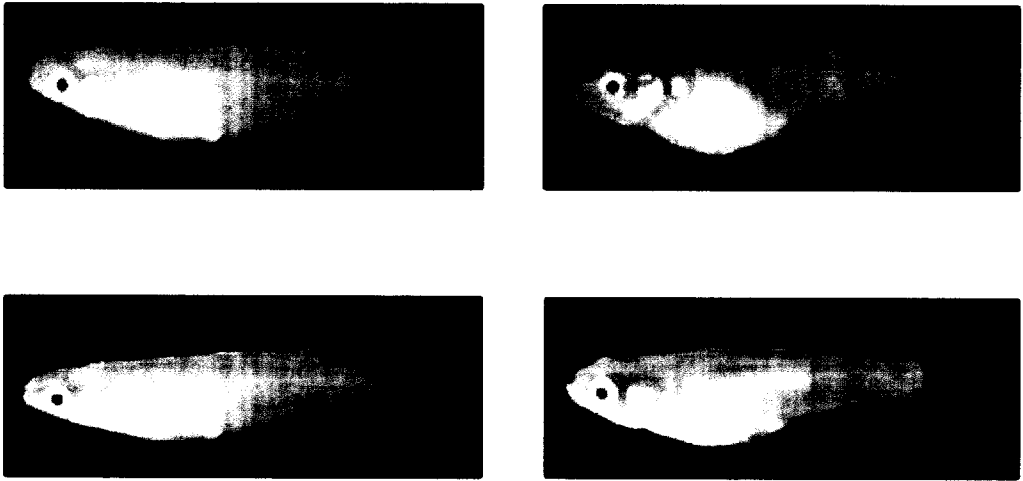


Fig 1. External morphology of *Oryzias latipes* used in this experiment.

- A : Control male (XY)
- B : Control female (XX)
- C : Pseudofemale (XY)
- D : Pseudomale (XX)

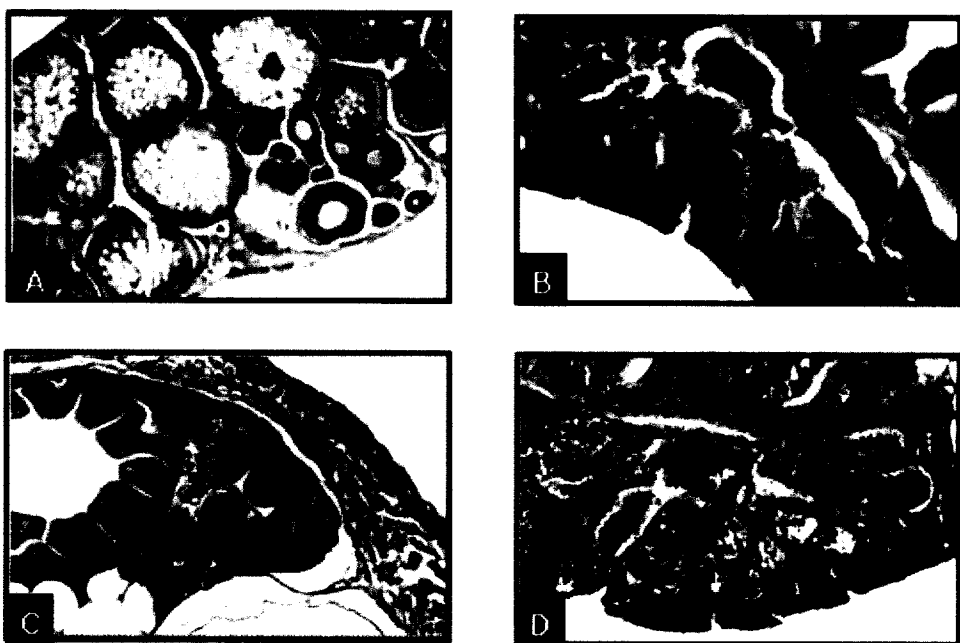


Fig 2. Transverse section of ovaries and testes of *Oryzias latipes*.

A : Control female

B : Control male

C : Ovary of an 17β -estradiol treated fish

D : Testis of an 17α -methyltestosterone treated fish

와 정상 수컷에 대해 성전환 암컷(실험군) 또는 정상 수컷(대조군)을 교배시킨 결과는 Table 6, Table 7과 Table 8에 나타내었다.

6회 산란하는데 걸리는 기간은 대조군과 성전환 수컷과는 유의한 차이가 없으나 대조군과 성전환 암컷과는 7.3 ± 1.3 일, 6.3 ± 0.5 일로 유의한 차이가 나타났다. 수정율과 부화율은 대조군이 각각 $90.8 \pm 9.9\%$, $93.9 \pm 6.6\%$ 였으며 성전환 수컷은 $85.3 \pm 11.7\%$, $93.3 \pm 7.3\%$ 로 유의한 차이가 조사되지 않았으나 성전환 암컷은 각각 $68.8 \pm 28.5\%$, $88.8 \pm 8.3\%$ 로 대조군과 유의한 차이가 조사되었다.

E₂ 성전환 처리군 중 'XY' 인자형을 가지는 암컷(성전환 암컷)과 17 α -MT의 성전환 처리군 중 'XX' 인자형을 가지는 수컷(성전환 수컷)을 선발하기 위하여 정상 개체와 교배하여 자손 검정을 실시한 결과는 Table 9와 Table 10에 나타내었다.

모두 각 6 마리씩 자손 검정이 이루어졌으며 이들 자손의 성비는 다양하게 나타났다.

대조군은 5마리의 암컷을 각각 $52.7 \pm 2.5\%$, $47.9 \pm 2.1\%$, $47.9 \pm 2.1\%$, $45.9 \pm 2.7\%$, $50.0 \pm 2.4\%$ 로 나타나 1♂ : 1♀ 성비에 대해 유의한 차이가 없었고($P > 0.05$) 자연 상태에서 암컷과 수컷의 비율이 50대 50으로 존재하는 것으로 나타났다.

1마리의 암컷(Δ ♀-6)은 정상 수컷과의 교배에서 $48.3 \pm 2.9\%$ 의 수컷을 보이는 자손 집단을 생산하여 1♂ : 1♀ 성비에 대해 유의한 차이가 없었고($P > 0.05$), 1♂ : 2♀와 1♂ : 3♀ 성비에는 유의한 차이를 보여($0.01 < P$, $0.005 < P$) 이 암컷의 인자형을 'XX'로 분류하였다.

나머지 5마리의 암컷(Δ ♀-1, Δ ♀-2, Δ ♀-3, Δ ♀-4, Δ ♀-5)은 정상 수컷과의 교배에서 각각 $67.9 \pm 3.6\%$, $68.8 \pm 3.3\%$, $69.9 \pm 1.5\%$, $70.8 \pm 1.2\%$ 의 수컷

울을 보이는 자손집단을 생산하여 1♀ : 1♂ 성비에 대해 유의한 차이를 보였으며($P < 0.05$) 성비인 1♀ : 2♂에 대해 유의한 차이가 나지 않았다. 그리고 1♀ : 3♂ 성비에 대해 유의한 차이를 나타내어 'YY' 인자형은 부화 전에 모두 사망하는 것으로 나타났다. 따라서 이들 5마리 암컷의 인자형을 'XY'로 분류하였다(Table 9).

17a-MT의 자손 검정 결과 수컷 4마리($\Delta\uparrow-1$, $\Delta\uparrow-3$, $\Delta\uparrow-4$, $\Delta\uparrow-6$)는 $56.2 \pm 2.1\%$, $49.3 \pm 6.1\%$, $62.4 \pm 5.5\%$, $57.3 \pm 2.5\%$ 의 암컷울을 보이는 자손 집단을 생산하여 1♀ : 1♂ 성비에 대해 유의한 차이가 없었으며($P > 0.05$), 1♀ : 0♂ 성비에 대해 유의한 차이가 있어 이들의 인자형을 'XY'로 분류하였으며 나머지 수컷 2마리($\Delta\uparrow-2$, $\Delta\uparrow-5$)는 100%의 암컷울을 보여 1♀ : 0♂ 성비에 대해 유의한 차이가 나타나지 않아 이들의 인자형을 'XX'로 분류하였다(Table 10).

따라서 본 실험에서 E₂와 17a-MT 처리군 중 자손 검정이 실시된 6마리 중 각 각 5마리, 2마리가 성전환 된 개체로 선발되었다.

2. 잡종화

2-1. 초기 난발생, 수정률, 부화율, 및 초기 생존율

송사리, 대륙 송사리와 상반 교배를 통해 유도된 잡종군의 초기 난 발생과 발생과정에 따른 형태적 변화를 측정한 결과는 Table 11과 Fig 3, Fig 4, Fig 5, Fig 6, Fig 7과 같다.

수정 후 30분, 렌즈 모양의 배반(blastodisc)이 동물극쪽에 나타나고, 유구(Oil droplet)가 식물극 쪽으로 이동하기 시작한다(B). 수정 후 1시간 05분, 2세포기가 되며 유구가 식물극 쪽으로 거의 이동하게 된다(C). 모든 실험군

Table 6. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of *Oryzias latipes* produced from crossed with pseudofemale (XY) and normal male (XY).¹

Exp. group	Spawning period (day)*	No. of spawning eggs	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Abnormality rate (%)	Early survival rate (%)
△ ♀-1	10	17	52.9	100	0	100
		23	21.7	80.0	0	100
		34	17.6	83.3	0	100
		33	48.5	81.3	0	84.6
		32	34.4	100	0	100
		35	54.3	89.5	0	94.1
Total		174 ^a	37.9±16.1 ^b	89.4±9.1 ^{ab}	0	94.9±6.3 ^a
△ ♀-2	7	48	95.8	95.7	2.4	100
		38	89.5	85.3	0	96.6
		64	86.0	87.3	0	93.8
		63	88.9	85.7	4.3	100
		69	82.6	93.0	1.9	96.2
		55	80.0	86.4	0	100
Total		337 ^c	86.6±6.0 ^c	89.0±4.4 ^{ab}	1.5±1.8 ^a	97.7±2.6 ^a
△ ♀-3	9	35	8.6	100	0	100
		45	37.8	94.1	0	100
		46	34.8	75.0	0	91.7
		45	20.0	88.9	0	100
		35	37.1	69.2	0	66.7
		50	16.0	87.5	0	100
Total		256 ^b	25.8±12.5 ^a	83.3±11.6 ^a	0	92.7±13.3 ^a

* : up to 6 times of spawning

¹ Means with different superscripts within a column are significantly different (P < 0.05), based on ANOVA test.

Table 6. Continue

Exp. group	Spawning period (day) *	No. of spawning eggs	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Abnormality rate (%)	Early survival rate (%)
△ ♀-4	10	30	93.3	89.3	0	96.0
		28	89.3	88.0	9.1	95.5
		47	87.2	80.5	0	97.0
		39	92.3	77.8	10.7	89.3
		35	97.1	91.2	0	100
		57	91.2	98.1	0	100
Total		236 ^{ab}	91.5±3.4 ^c	88.0±5.9 ^a	2.6±5.1 ^a	96.8±4.0 ^a
△ ♀-5	7	45	95.6	86.0	0	100
		37	94.6	94.3	0	93.9
		52	84.6	93.2	0	100
		37	86.5	100	0	100
		30	83.3	92.0	0	95.7
		23	78.3	94.4	0	100
Total		224 ^{ab}	88.0±6.7 ^c	92.9±4.5 ^a	0	98.4±2.7 ^a
△ ♀-6	6	23	60.9	92.9	0	100
		11	90.9	70.0	0	100
		20	85.0	82.4	0	100
		33	78.8	100	3.8	100
		40	87.5	94.3	3.0	97.0
		39	94.9	100	0	100
Total		166 ^a	83.7±12.1 ^c	93.5±11.7 ^b	1.5±1.8 ^a	99.2±1.2 ^a

* : up to 6 times of spawning

¹ Means with different superscripts within a column are significantly different ($P < 0.05$), based on ANOVA test.

Table 7. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of *Oryzias latipes* produced from crossed with pseudomale (XX) and normal female (XX).¹

Exp. group	Spawning period (day) *	No. of spawning eggs	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Abnormality rate (%)	Early survival rate (%)
Δ ♂-1	6	13	69.2	100	0	88.9
		21	90.5	84.2	12.5	87.5
		17	94.1	100	0	93.8
		32	93.8	86.7	0	100
		24	100	87.5	4.8	100
		41	92.7	94.7	0	97.2
		Total	148 ^a	91.9±10.7 ^{bc}	91.2±7.0 ^a	2.2±5.1 ^a
Δ ♂-2	6	18	66.7	91.7	0	100
		18	83.3	100	0	100
		27	74.1	95.0	0	89.5
		31	80.6	88.0	9.1	100
		29	72.4	100	0	100
		22	81.8	100	0	94.4
		Total	145 ^a	76.6±6.5 ^a	95.5±5.1 ^a	1.4±3.7 ^a
Δ ♂-3	7	31	87.1	96.3	0	96.2
		33	90.9	90.0	0	96.3
		26	84.6	90.9	0	95.0
		44	93.2	100	0	100
		18	88.9	100	0	93.8
		34	91.2	100	0	93.5
		Total	186 ^a	89.8±3.1 ^{bc}	96.4±4.7 ^a	0

* : up to 6 times of spawning

¹ Means with different superscripts within a column are significantly different (P < 0.05), based on ANONA test.

Table 7. Continue.

Exp. group	Spawning period (day) *	No. of spawning eggs	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Abnormality rate (%)	Early survival rate (%)
$\Delta \uparrow$ -4	6	12	83.3	100	0	100
		44	90.9	77.5	3.2	100
		47	91.5	97.7	2.4	97.6
		36	80.6	100	0	100
		14	78.6	100	0	90.0
		26	57.7	86.7	0	100
		Total	179 ^a	82.7 $\pm$ 12.3 ^{ab}	91.9 $\pm$ 9.4 ^a	1.2 $\pm$ 1.5 ^a
$\Delta \uparrow$ -5	7	32	62.5	100	0	100
		35	88.6	83.9	0	96.2
		36	100	86.1	0	96.8
		60	68.3	95.1	5.1	100
		59	76.3	71.1	0	96.9
		59	69.5	85.4	0	97.1
		Total	281 ^b	76.2 $\pm$ 14.2 ^a	85.5 $\pm$ 10.0 ^a	0.8 $\pm$ 2.1 ^a
$\Delta \uparrow$ -6	6	23	100	95.7	0	100
		28	100	92.9	0	88.5
		38	100	97.4	0	91.9
		28	100	92.9	0	96.2
		25	96.0	100	4.2	91.7
		42	90.5	92.1	5.6	94.3
		Total	184 ^a	97.3 $\pm$ 3.9 ^c	95.0 $\pm$ 3.1 ^a	1.7 $\pm$ 2.6 ^a

* : up to 6 times of spawning

¹ Means with different superscripts within a column are significantly different ($P < 0.05$), based on ANONA test.

Table 8. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of pseudomale (XX), and pseudofemale (XY), control *Oryzias latipes*.¹

Exp. group	Spawning period (day) *	No. of spawning eggs	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Abnormality rate (%)	Early survival rate (%)
Control	7.3±1.3 ^b	1191 ^{ab}	90.8±9.9 ^b	93.9±6.6 ^b	0.9±1.7 ^a	96.1±5.4 ^a
△ ♂	8.2±1.7 ^{ab}	1123 ^a	85.3±11.7 ^b	93.3±7.3 ^b	1.3±2.9 ^a	96.2±3.9 ^a
△ ♀	6.3±0.5 ^a	1393 ^b	68.8±28.5 ^a	88.8±8.3 ^a	0.8±2.4 ^a	96.9±6.3 ^a

* : up to 6 times of spawning

¹ Means with different superscripts within a column are significantly different (P < 0.05), based on ANOVA test.

Table 9. Data of progeny tests crossed with sex reversed female and normal male.

Mating No.	No. of fish analyzed	Male ratio (%)	Female ratio (%)	X2 against* 1 ♀ : 2 ♂	X2 against* 1 ♀ : 3 ♂
△ ♀ -1	28	64.3	35.7		
	28	67.9	32.1		
	28	71.4	28.6		
Total	84	67.9±3.6	32.1±3.6	ns	w
△ ♀ -2	26	69.2	30.8		
	26	65.4	34.6		
	25	72	28		
Total	77	68.8±3.3	31.2±3.3	ns	w
△ ♀ -3	28	71.4	28.6		
	28	67.9	32.1		
	27	70.4	29.6		
Total	83	69.9±1.5	30.1±1.5	ns	w
△ ♀ -4	21	66.7	33.3		
	21	66.7	33.3		
	23	69.6	30.4		
Total	65	67.7±1.4	32.3±1.4	ns	w
△ ♀ -5	35	71.4	28.6		
	35	71.4	28.6		
	36	69.4	30.6		
Total	106	70.8±1.2	29.2±1.2	ns	w
△ ♀ -6	20	50.0	50.0		
	20	50.0	50.0		
	20	55.0	45.0		
Total	60	51.7±2.9	48.3±2.9	y	z

* ns : not significant, x : 0.025 < P, y : 0.01 < P, z : 0.005 < P

Table 9. Continue

Mating No.	No. of fish analyzed	Male ratio (%)	Female ratio (%)	X2 against* 1 ♀ : 2 ♂	X2 against* 1 ♀ : 3 ♂
Control-1	31	45.2	54.8		
	30	46.7	53.3		
	30	50.0	50.0		
Total	91	47.3±2.5	52.7±2.5	y	z
Control-2	25	52.0	48.0		
	24	54.2	45.8		
	24	50.0	50.0		
Total	73	52.1±2.1	47.9±2.1	y	z
Control-3	23	52.2	47.8		
	23	47.8	52.2		
	23	47.8	52.2		
Total	69	49.3±2.5	50.7±2.5	y	z
Control-4	29	51.7	48.3		
	28	53.6	46.4		
	28	57.1	42.9		
Total	85	54.1±2.7	45.9±2.7	y	z
Control-5	22	50.0	50.0		
	21	52.4	47.6		
	21	47.6	52.4		
Total	64	50.0±2.4	50.0±2.4	y	z

* ns : not significant, x : $0.025 < P$, y : $0.01 < P$, z : $0.005 < P$

Table 10. Data of progeny tests crossed with sex reversed male and normal female.

Mating No.	No. of fish analyzed	Male ratio (%)	Female ratio (%)	X2 against [*] 1♀ : 0♂
△ ♂ -1	25	44.0	56.0	
	24	41.2	58.8	
	24	45.8	54.2	
Total	73	43.8±2.1	56.2±2.1	z
△ ♂ -2	23	0	100	
	23	0	100	
	23	0	100	
Total	69	0	100	ns
△ ♂ -3	25	44.0	54.0	
	25	56.0	44.0	
	25	52.0	48.0	
Total	75	50.7±6.1	49.3±6.1	z
△ ♂ -4	22	31.8	68.2	
	21	42.9	57.1	
	21	38.1	61.9	
Total	64	37.6±5.5	62.4±5.5	z
△ ♂ -5	19	0	100	
	19	0	100	
	19	0	100	
Total	57	0	100	ns
△ ♂ -6	21	42.9	57.1	
	20	40	60	
	20	45	55	
Total	61	42.7±2.5	57.3±2.5	z

* ns : not significant, z : 0.005 < P

Table 10. Continue

Mating No.	No. of fish analyzed	Male ratio (%)	Female ratio (%)	X2 against* 1 ♀ : 0 ♂
Control-1	31	45.2	54.8	
	30	46.7	53.3	
	30	50.0	50.0	
Total	91	47.3±2.5	52.7±2.5	z
Control-2	25	52.0	48.0	
	24	54.2	45.8	
	24	50.0	50.0	
Total	73	52.1±2.1	47.9±2.1	z
Control-3	23	52.2	47.8	
	23	47.8	52.2	
	23	47.8	52.2	
Total	69	49.3±2.5	50.7±2.5	z
Control-4	29	51.7	48.3	
	28	53.6	46.4	
	28	57.1	42.9	
Total	85	54.1±2.7	45.9±2.7	z
Control-5	22	50.0	50.0	
	21	52.4	47.6	
	21	47.6	52.4	
Total	64	50.0±2.4	50.0±2.4	z

* ns : not significant, z : $0.005 < P$

이 2세포기 까지 발생이 진행되는 속도가 비슷하였으나 그 이후 발생 단계부터 차이가 나타나기 시작했다. 2세포기 부터 초기 상실배(H)까지 대륙 송사리는 30분 간격으로 발생이 진행되었으며, 송사리는 40분 간격으로 발생이 진행되어 대륙 송사리의 발생이 같은 조건하에서 더 빠르게 진행되었다. 포배기(K)까지 송사리는 7시간 45분, 대륙 송사리는 6시간 30분으로 대륙 송사리가 1시간 15분이 빨랐으며, 낭배 형성기(P) 까지 송사리가 19시간 30분, 대륙 송사리가 13시간 30분으로 6시간 빠르게 발생되었다.

수정란을 이용하여 발생 과정에 따른 형태적 변화를 관찰한 결과 형태와 발생 단계의 차이는 없었으며, 발생 단계에서 시간의 차이로 인해 이후 부화까지 걸린 시간은 송사리가 9~10일, 대륙 송사리가 7~8일로 나타났다. 또한 잡종의 경우 LS는 송사리의 발생과정을, SL과 2SL은 대륙 송사리의 발생과정과 비슷하여 암컷이 속하는 종의 발생과정과 비슷하게 나타났다.

송사리, 대륙 송사리, 상반 교배를 통해 유도된 잡종의 수정률, 부화율, 초기 생존율을 측정한 결과는 Table 12, Table 13, Table 14, Table 15와 Table 16에 나타내었다.

각 실험군당 6마리를 대상으로 수정률, 부화율, 초기 생존율을 측정하였으며 측정된 결과는 모두 다양하게 나타났다.

6회 산란하는데 걸린 기간은 송사리, 대륙 송사리, LS, SL에서 각각 9.3 ± 3.3 일, 9.7 ± 1.5 일, 7.3 ± 1.2 일, 7.7 ± 1.5 일로 각 실험군당 유의한 차이가 나지 않았으나, 6회 산란하는데 있어 전체 산란된 알 수가 596알, 568알, 395알, 403알로 송사리와 LS에서 산란된 알 수가 대륙 송사리, SL보다 다 산란하였다. 수정률, 부화율, 기형률, 초기 생존율은 각 실험군당 유의한 차이가 나타나지 않았으나 SL의 2세대에서 유의한 차이가 나타났다. 다른 실험군과 비교하여 기형률이 $14.5 \pm 2.9\%$ 로 높게 나타났으며, 초기 생존율이

Table 11. Characteristics of egg development in *Oryzias latipes*, hybrid between *O. latipes* and *O. sinensis*, and *O. sinensis* (water temperature : $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$).

Time *					Developmental stage
OL	OS	LS	SL	2SL	
					Unfertilized eggs (A)
0:00	0:00	0:00	0:00	0:00	Fertilized eggs (B)
0:30	0:30	0:30	0:30	0:30	blastodisc (C)
1:05	1:05	1:05	1:05	1:05	Two cells (D)
1:45	1:35	1:45	1:35	1:35	Four cells (E)
2:25	2:05	2:25	2:05	2:05	Eight cells (F)
3:05	2:35	3:05	2:35	2:35	Sixteen cells (G)
3:45	3:05	3:45	3:05	3:05	Thirty-two cells (H)
4:25	3:35	4:25	3:35	3:35	Early morula (I)
5:10	4:10	5:10	4:10	4:10	Late morula (J)
6:25	5:15	6:25	5:15	5:15	Early blastula (K)
7:45	6:30	7:45	6:30	6:30	Late blastula (L)
9:15	8:00	9:15	8:00	8:00	Pre-early gastrula (M)
12:05	8:30	12:05	8:30	8:30	Early gastrula (N)
14:05	9:50	14:05	9:50	9:50	Pre-mid gastrula (O)
16:45	11:00	16:45	11:00	11:00	Mid gastrula (P)
19:30	13:30	19:30	13:30	13:30	Late gastrula (Q)

* : time after fertilization, hr : min

Fig 3. Egg development of *Oryzias latipes* (water temperature : $26 \pm 1^\circ\text{C}$).

Time required for each developmental stage is shown in Table 10.

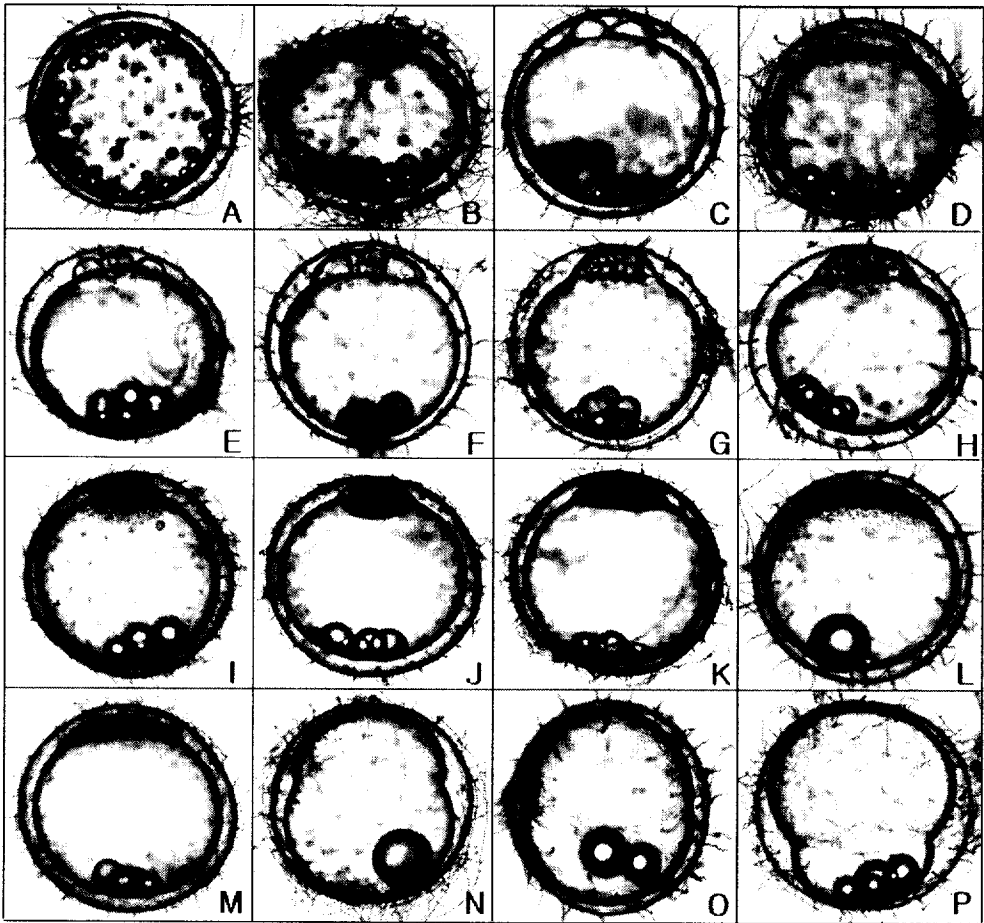


Fig 4. Egg development of hybrid between *Oryzias latipes* and *O. sinensis*,
 LS (water temperature : $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$). Time required for each
 developmental stage is shown in Table 10.

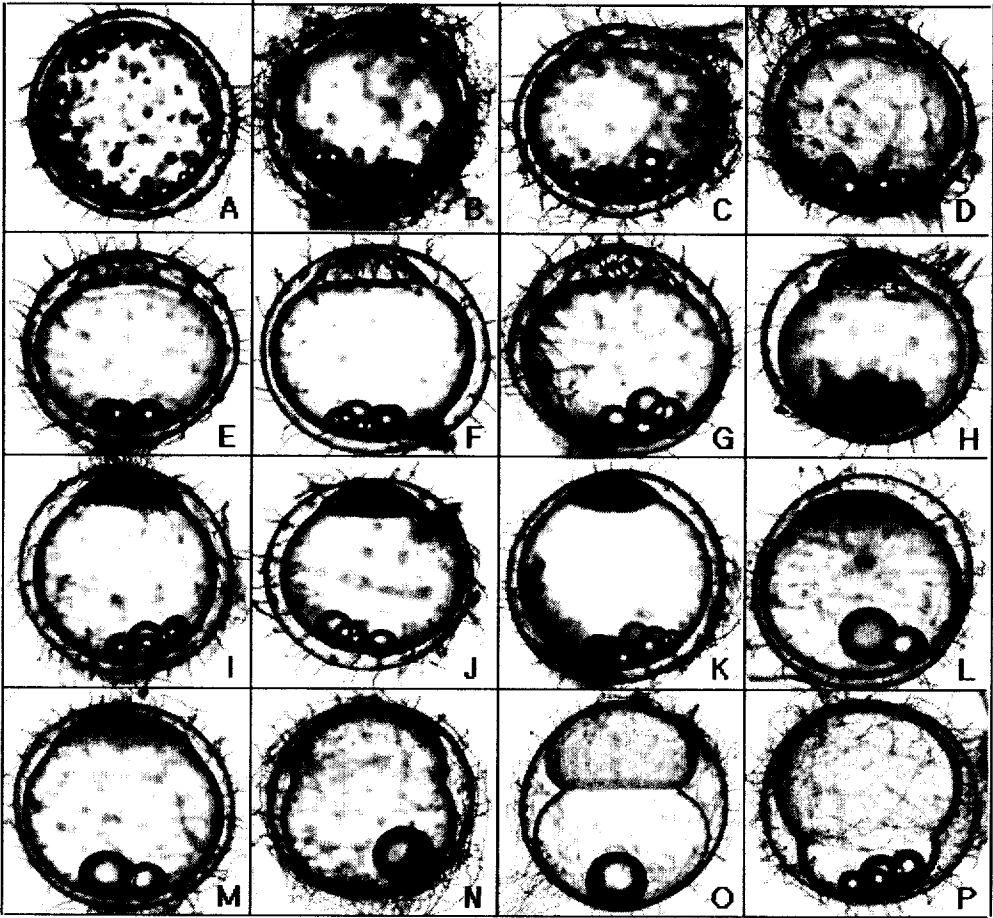


Fig 5. Egg development of *Oryzias sinensis* (water temperature : $26 \pm 1^\circ\text{C}$).

Time required for each developmental stage is shown in Table 10.

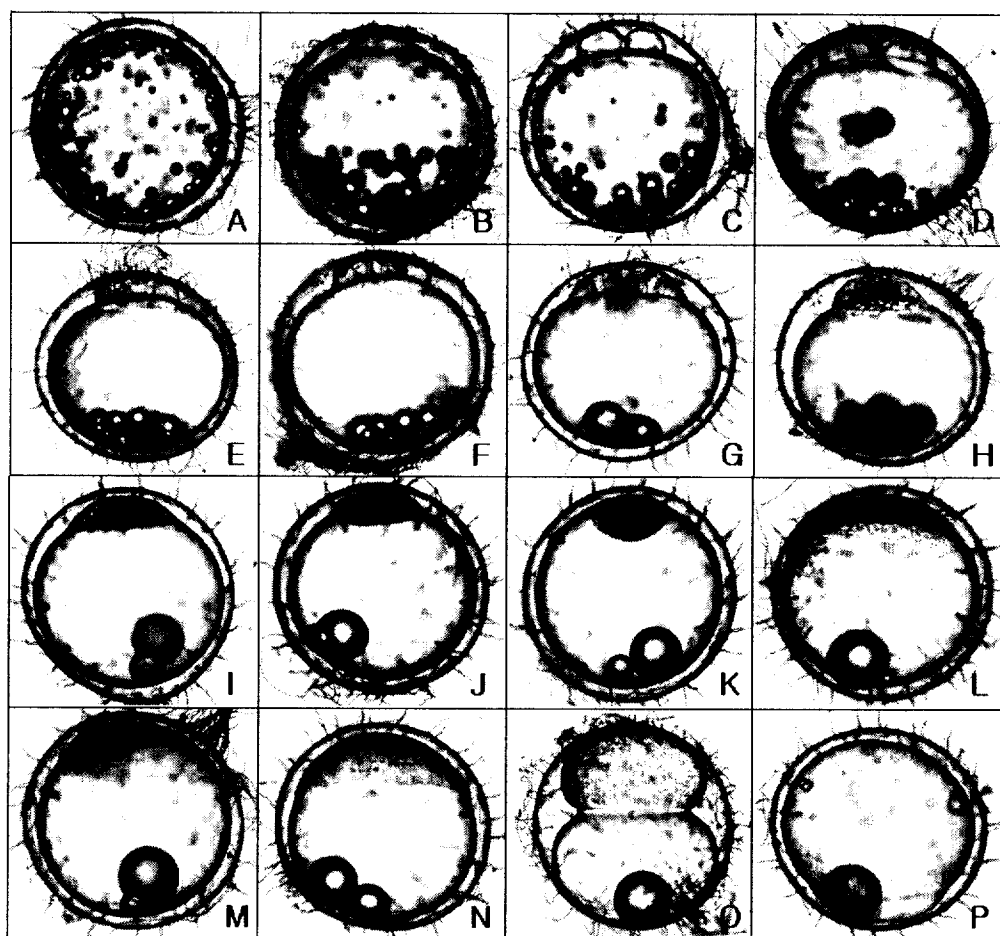


Fig 6. Egg development of hybrid between *Oryzias latipes* and *O. sinensis*,
 SL (water temperature : $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$). Time required for each
 developmental stage is shown in Table 10.

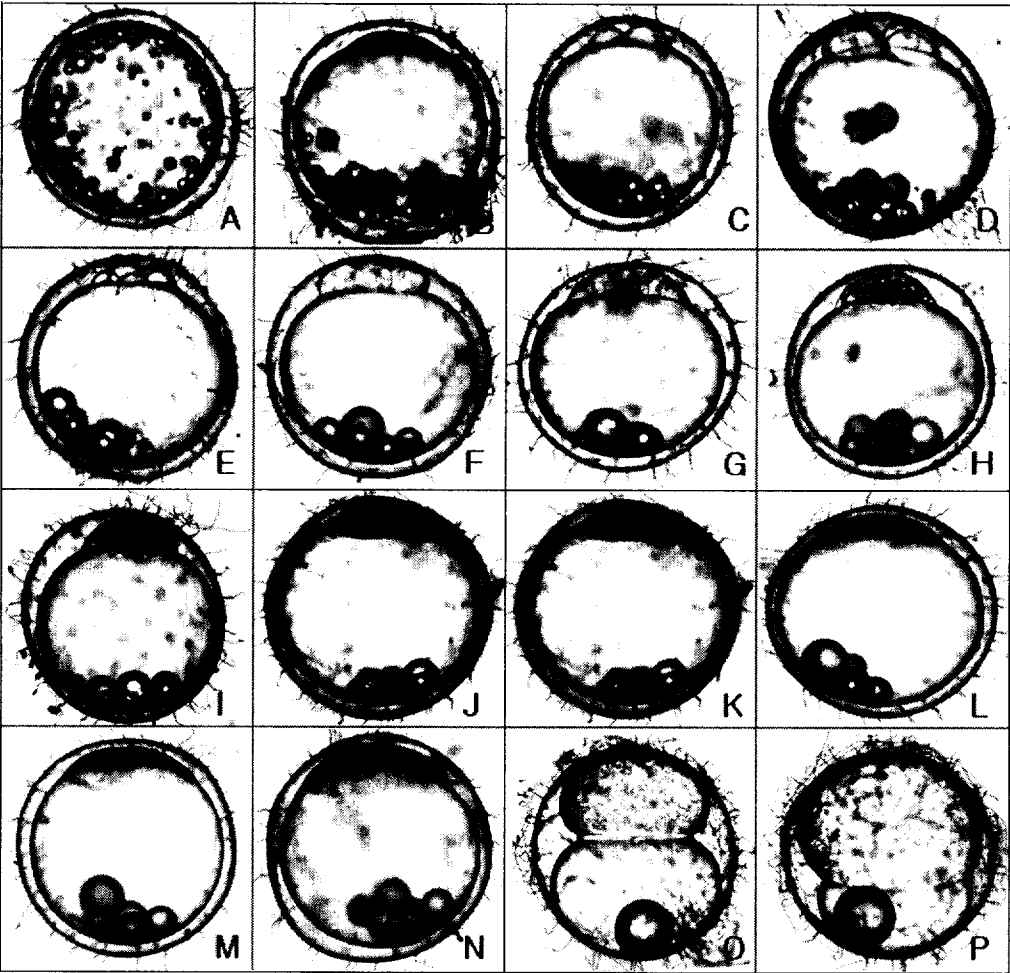


Fig 7. Egg development of F2 hybrid between two species, 2SL (water temperature : $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$). Time required for each developmental stage is shown in Table 10.

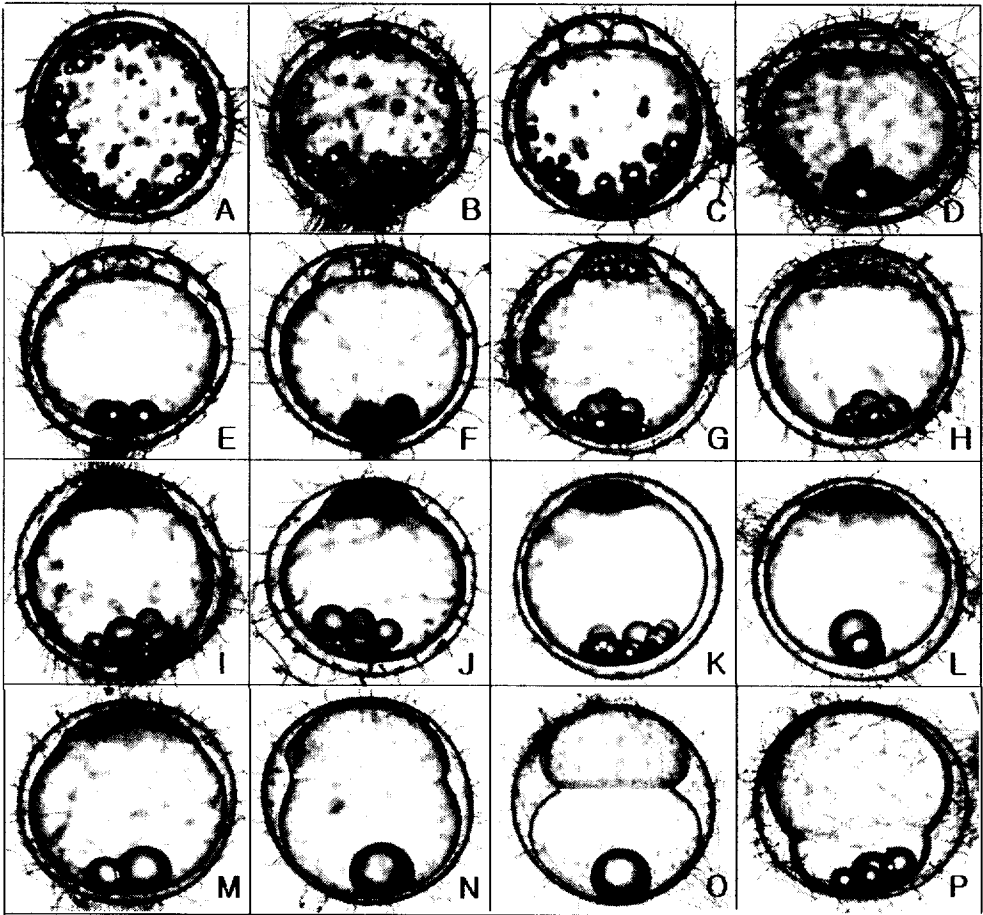


Table 12. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of *Oryzias latipes*.

Exp. group	Spawning period (day)*	No. of spawning eggs	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Abnormality rate (%)	Early survival rate (%)
OL-1	10	28	96.4	100	0	100
		22	100	100	4.8	95.5
		39	94.9	91.9	0	100
		41	92.7	100	5.3	100
		33	97.0	96.9	3.4	100
		38	94.7	91.7	0	87.9
Total		201 ^{bc}	96.5±2.5 ^b	96.4±4.0 ^b	2.2±2.5 ^a	97.3±4.9 ^a
OL-2	14	2	100	100	0	100
		5	100	100	0	100
		17	100	100	0	100
		21	100	95.2	0	100
		21	85.7	100	0	100
		28	78.6	100	0	90.9
Total		94 ^a	90.4±9.5 ^b	98.8±2.0 ^b	0	97.6±3.7 ^a
OL-3	6	35	77.1	70.4	0	100
		32	90.6	93.1	3.7	96.3
		42	100	100	2.4	100
		49	93.9	95.7	4.5	95.5
		45	100	91.1	0	92.7
		54	92.6	100	0	100
Total		257 ^c	93±8.4 ^b	93.3±11.0 ^{ab}	1.8±2.0 ^a	97.3±3.0 ^a

* : up to 6 times

Table 12. Continue

Exp. group	Spawning period (day) *	No. of spawning eggs	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Abnormality rate (%)	Early survival rate (%)
OL-4	6	44	97.7	95.3	4.9	100
		43	95.3	90.2	0	94.6
		49	87.8	97.7	0	100
		51	92.2	89.4	0	83.3
		45	95.6	90.7	0	97.4
		34	91.2	100	0	100
Total		266 ^c	93.2±3.6 ^b	93.5±4.4 ^{ab}	0.9±2.0 ^a	95.7±6.5 ^a
OL-5	12	24	87.5	95.2	0	100
		21	76.2	93.8	0	86.7
		36	94.4	91.2	0	90.3
		37	94.6	97.1	0	91.2
		36	83.3	90.0	0	85.2
		41	95.1	97.4	0	100
Total		195 ^{bc}	89.7±7.7 ^{ab}	94.3±3.0 ^{ab}	0	92.7±6.4 ^a
OL-6	8	12	58.3	80.0	0	83.3
		13	62.5	80.0	0	100
		34	91.2	93.8	0	100
		31	87.1	88.9	0	95.9
		51	86.3	90.1	2.5	92.5
		37	97.3	94.4	0	100
Total		178 ^b	86±16.1 ^a	90.8±6.4 ^a	0.7±1.0 ^a	96.4±6.6 ^a

* : up to 6 times

Table 13. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of hybrid between *Oryzias latipes* and *O. sinensis* (LS).

Exp. group	Spawning period (day) *	No. of spawning eggs	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Abnormality rate (%)	Early survival rate (%)
LS-1	10	16	62.5	90.0	0	100
		19	52.6	100	10	100
		16	75.0	91.7	0	90.9
		17	88.2	100	0	93.3
		14	57.1	87.5	0	100
		19	84.2	100	0	100
Total		101 ^a	70.3±14.7 ^a	95.8±5.8 ^a	1.5±4.1 ^a	97.1±4.1 ^a
LS-2	11	11	100	100	0	100
		32	93.8	100	0	96.7
		35	100	94.3	0	100
		43	100	100	2.3	95.3
		45	100	97.8	0	95.5
		46	100	100	2.2	100
Total		212 ^b	99.1±2.5 ^b	98.6±2.3 ^a	1.0±1.2 ^a	97.6±2.3 ^a
LS-3	8	42	97.6	87.8	0	97.2
		36	100	97.2	0	100
		45	100	100	2.2	100
		37	100	100	0	97.3
		36	97.2	91.4	0	100
		59	98.3	98.3	1.8	96.5
Total		255 ^b	98.8±1.3 ^b	96.0±5.0 ^a	0.8±1.0 ^a	98.3±1.7 ^a

* : up to 6 times

Table 14. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of hybrid between *Oryzias sinensis* and *O. latipes* (SL).

Exp. group	Spawning period (day) *	No. of spawning eggs	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Abnormality rate (%)	Early survival rate (%)
SL-1	8	6	100	100	0	100
		15	93.3	64.3	0	100
		18	100	100	0	94.4
		27	100	100	3.7	100
		21	100	100	0	95.2
		32	96.9	100	0	100
Total		119 ^a	98.3±2.8 ^a	95.7±14.6 ^a	0.9±1.5 ^a	98.2±2.7 ^a
SL-2	9	12	91.7	100	0	100
		21	100	95.2	0	90.0
		24	91.7	100	0	100
		31	96.8	93.3	3.6	100
		28	100	96.4	7.4	96.3
		25	100	96.0	0	100
Total		141 ^a	97.2±4.1 ^a	96.4±2.7 ^a	2.3±3.1 ^a	97.7±4.1 ^a
SL-3	6	10	90.0	100	0	100
		25	92.0	100	0	95.7
		25	100	100	0	100
		30	100	60.0	11.1	100
		26	100	100	0	100
		27	100	96.3	3.8	92.3
Total		143 ^a	97.9±4.7 ^a	90.7±16.1 ^a	2.4±4.5 ^a	97.6±3.3 ^a

* : up to 6 times

Table 15. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of *Oryzias sinensis*.

Exp. group	Spawning period (day) *	No. of spawning eggs	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Abnormality rate (%)	Early survival rate (%)
OS-1	8	18	94.4	41.2	0	100
		26	84.6	77.3	0	94.1
		24	83.3	90.0	5.6	100
		22	77.3	100	0	100
		28	75.0	95.2	0	90.0
		27	81.5	100	4.5	100
Total		145 ^b	82.1±6.8 ^a	84.9±22.6 ^a	2.0±2.6 ^a	97.0±4.3 ^b
OS-2	6	21	52.4	54.5	0	83.3
		14	64.3	66.7	0	83.3
		36	88.9	87.5	7.1	89.2
		23	88.4	86.8	0	94.0
		20	92.5	83.8	0	96.8
		29	87.2	88.2	4	83.3
Total		153 ^b	83.4±16.5 ^a	83.2±14.0 ^a	2.8±3.0 ^a	90.3±6.0 ^a
OS-3	6	22	100	95.5	0	100
		22	86.4	100	0	94.7
		23	100	95.7	0	100
		28	96.4	92.6	0	100
		20	85.0	82.4	0	100
		33	87.9	72.4	0	95.2
Total		148 ^b	92.6±7.0 ^a	89.1±10.4 ^a	0	98.4±2.6 ^b

* : up to 6 times

Table 15. Continue

Exp. group	Spawning period (day) *	No. of spawning eggs	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Abnormality rate (%)	Early survival rate (%)
OS-4	7	21	71.4	73.3	0	100
		29	93.1	85.2	0	95.7
		26	92.3	87.5	0	100
		21	95.2	100	0	100
		24	95.8	82.6	0	89.5
		29	96.6	75.0	0	100
Total		150 ^b	81.1±9.6 ^a	84.0±9.6 ^a	0	97.4±4.6 ^b
OS-5	9	3	100	100	0	100
		10	100	70.0	0	85.7
		8	50.0	100	0	100
		16	62.5	90.0	0	100
		25	92.0	95.7	4.5	100
		31	100	100	0	96.8
Total		93 ^a	87.1±22.1 ^a	93.8±11.8 ^a	1.3±1.8 ^a	97.4±5.7 ^b
OS-6	8	13	93.1	90.9	0	100
		18	100	72.2	0	76.9
		14	78.6	90.9	0	80.0
		21	81.0	94.1	0	100
		23	87.0	90.0	0	100
		22	95.5	71.4	0	93.3
Total		111 ^{ab}	88.3±8.4 ^a	83.7±10.3 ^a	0	92.7±10.6 ^{ab}

* : up to 6 times

Table 16. Spawning period, fertilization rates, hatching rates, abnormal larva incidence and early survival rates of F2 hybrid between two species, 2SL.

Exp. group	Spawning period (day) *	No. of spawning eggs	Fertilization rate (%)	Hatching rate (%)	Abnormality rate (%)	Early survival rate (%)
2SL	6	219	88.1	88.6	8.8	52
		171	96.5	86.7	14	44
		125	72.8	80.2	12.3	58.9
		206	83	80.7	16.7	52.9
		299	90	74.3	15.5	51.5
		139	91.4	86.6	10.9	48.2
Total		1159	87.7±8.2	82.2±5.4	14.5±2.9	50.8±5.0

* : up to 6 times

50.8 ± 5.0%로 다른 실험군에 비해 50% 낮게 나타남을 알 수 있다.

따라서 유도된 잡종은 수정률, 부화율, 초기 생존율이 대조군과 비교하여 낮게 나타나지 않으나 잡종 제 2세대에서 기형률이 증가하며 초기 생존율이 50%로 낮게 나타났다.

2-2. 외형 및 계측 형질

두 종에 대한 교잡 실험을 수행한 결과 제 1 세대에서는 교배 시 암컷으로 사용한 집단의 특성을 갖는 경향이 나타났다.

송사리를 암컷으로 사용한 경우 제 1세대의 배지느러미 전체가 진한 황색을 띠는 반면, 대륙 송사리를 암컷으로 사용한 경우 배지느러미 전체가 흰색을 띠며 미색을 띠었다. 또한 생식시기에 송사리를 암컷으로 사용한 경우 제 1세대의 수컷은 등지느러미, 배지느러미, 뒷지느러미, 꼬리지느러미 주변부에 노란색의 띠가 나타났으며, 대륙 송사리를 암컷으로 사용한 경우 제 1세대에서 등지느러미, 배지느러미, 뒷지느러미, 꼬리지느러미 주변부에 검은색의 띠가 나타났다.

송사리와 대륙 송사리, 유도된 잡종의 계측 형질을 측정한 결과는 Table 17과 같다.

등지느러미 기조수와 배지느러미 기조수가 모든 실험군에서 각 각 5~6, 9~10개로 차이가 조사되지 않았으며 뒷지느러미 기조수와 꼬리지느러미 기조수에서 차이가 조사 되었다. 뒷지느러미 기조수는 송사리가 19~20개, 대륙 송사리가 17~18개였고, 유도된 잡종인 LS와 SL은 18~19개로 이들의 중간적 경향을 나타내었다. SL을 자가 교배한 잡종 2세대인 2SL은 17~18개로 대륙 송사리와 유사하게 나타났다. 꼬리 지느러미 기조수는 송사리가 19~20개, 대륙 송사리가 24개로 조사되었으며 유도된 잡종인 SL과 LS는 각 각 21~23,

22~23으로 조사되어 이들의 중간적 경향을 나타내었다. 또한 2SL은 19~20개로 조사되어 송사리와 유사하게 조사되었다.

송사리와 대륙 송사리의 난경 및 부화한 치어의 길이를 조사한 결과는 다음과 같다(Table 18).

송사리의 난경은 1.52 ± 0.02 mm이고, 대륙 송사리는 1.40 ± 0.02 mm로 송사리가 현저하게 크게 나타나서 알 크기에 있어서 두 집단은 서로 잘 구별되었다. 두 종간의 교잡의 경우 송사리를 암컷으로 교배하여 얻은 제 1세대와 제 2세대는 1.49 ± 0.01 mm, 1.50 ± 0.02 mm였고, 대륙 송사리를 암컷으로 교배하여 얻은 제 1세대와 제 2세대는 1.43 ± 0.02 mm, 1.41 ± 0.01 mm였다.

부화된 치어의 길이는 4.7 ± 0.1 mm로 송사리가 컸으며, 4.2 ± 0.1 mm로 대륙 송사리가 크기가 작아 두 종간 치어의 길이에 있어서 유의한 차이가 있었다. 두 종간 상반 교배를 통해 얻은 잡종 세대는 부화된 치어의 길이 역시 암컷이 속하는 종의 특성을 따랐다.

따라서 두 종간 상반 교배로 얻은 제 1세대와 제 2세대의 외형, 난경, 계측 형질 등은 교배에 사용된 암컷이 속하는 종의 특성을 갖는 것으로 나타났다.

2-3. 성장률

송사리, 대륙 송사리, 상반 교배를 통해 유도된 잡종의 성장률을 측정한 결과는 Fig 8과 Fig 9에 나타내었다.

전장과 어체중을 측정한 결과 송사리가 대륙 송사리보다 전장이 크고 어체중이 컸으며 상반 교배를 통해 유도된 잡종 LS와 SL은 송사리와 대륙 송사리의 중간형질을 나타내었다. 각 실험군 모두 부화 후 4주부터 전장이

급격하게 증가하였으며, 어체중 역시 4주부터 급격하게 증가하였다. 6주에서 8주 사이에 전장에 비해 중 증가 비율이 높게 나타났는데 이 시기에 체고가 급격하게 증가하였기 때문이다.

따라서 상반 교배를 통해 유도된 잡종의 성장률은 송사리와 대륙 송사리의 중간 형질을 나타내는 것을 알 수 있다.

2.4. 유도된 잡종의 성비

두 종에 대해 교잡 실험을 수행한 결과 나타난 성비는 Table 19에 나타내었다.

송사리, 대륙 송사리는 자연 상태에서 암컷과 수컷의 비가 일대일로 존재하며, 본 실험에서 측정한 결과도 일대일로 나타났다. 유도된 잡종의 성비는 암컷과 수컷의 비가 LS가 $47.6 \pm 2.5\%$ 와 $52.4 \pm 2.5\%$ 였으며, SL이 $54.2 \pm 2.4\%$ 와 $45.8 \pm 2.4\%$, 2SL이 $52.2 \pm 2.9\%$ 와 $52.2 \pm 2.9\%$ 로 나타나 1♀ : 1♂ 성비에 대해 유의한 차이가 없는 것으로 나타나($P > 0.05$), 잡종 유도에 따른 성비의 변화가 없는 것으로 나타났다.

Table 17. Distribution of dorsal fin ray, pectoral fin ray, anal fin ray, caudal fin ray numbers in sample of *Oryzias latipes*, hybrid between *O. latipes* and *O. sinensis*, and *O. sinensis*.

Exp. group	Number of fish examined	Number of dosal fin-rays	Number of pectoral fin-rays	Number of anal fin-rays	Number of caudal fin-rays
OL	30(15)*	5~6	9~10	19~20	19~20
OS	30(15)*	6	9~10	17~18	24
LS	30(15)*	6	9~10	18~19	22~23
SL	30(15)*	5~6	9~10	18~19	21~23
2SL	30(15)*	5~6	9~10	17~18	19~20

* : number of female examined

Table 18. Diameters of fertilized eggs and total length of hatched larvae *Oryzias latipes*, hybrid between *O. latipes* and *O. sinensis*, and *O. sinensis*.¹

Exp. group	No. of eggs	Diameter of fertilized eggs (mm)	Total length of hatched larvae (mm)
OL	12(3*)	1.52±0.02 ^a	4.7±0.1 ^c
LS	12(3*)	1.49±0.01 ^a	4.5±0.1 ^{bc}
LS × LS	12(3*)	1.50±0.02 ^a	4.5±0.1 ^{bc}
SL	12(3*)	1.43±0.02 ^b	4.4±0.2 ^{ab}
SL × SL	12(3*)	1.41±0.01 ^b	4.5±0.1 ^{bc}
OS	12(3*)	1.40±0.02 ^b	4.2±0.1 ^a

* : number of female examined

¹ : Means with different superscripts within a column are significantly different ($P < 0.05$), based on ANONA test.

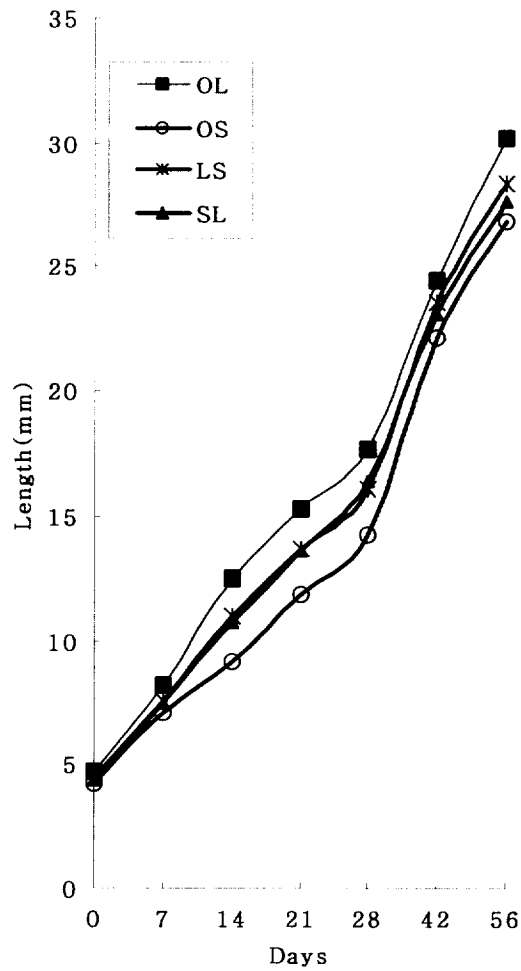


Fig 8. Growth in total length of *Oryzias latipes*, and hybrid between *O. latipes* and *O. sinensis*, and *O. sinensis*. Days indicate age post first feeding. Values are group means $\pm$ S.E.

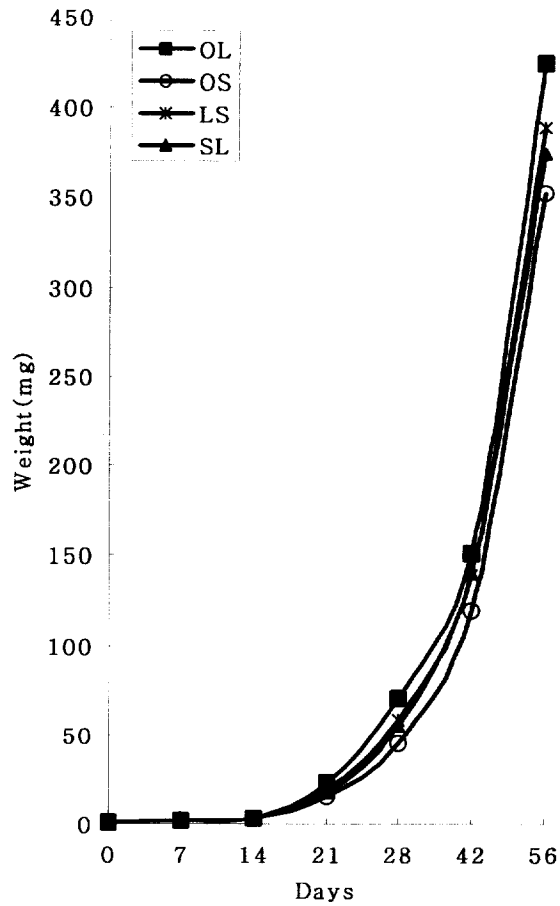


Fig 9. Growth in body weight of *Oryzias latipes*, hybrid between *O. latipes* and *O. sinensis*, and *O. sinensis*. Days indicate age post first feeding. Values are group means $\pm$ S.E.

Table 19. Sex ratios of *Oryzias latipes*, hybrid between *O. latipes* and *O. sinensis*, and *O. sinensis*.

Mating group	No. of fish analyzed	Female (%)	Male (%)	X2 against 1♀ : 1♂*
OL	73	52.1±2.1	47.9±2.1	ns
OS	88	52.3±1.5	47.7±1.5	ns
LS	63	47.6±2.5	52.4±2.5	ns
SL	72	54.2±2.4	45.8±2.4	ns
2SL	69	52.2±2.9	52.2±2.9	ns

* ns : not significant

IV. 고 찰

생리학적 성전환은 종에 적합한 호르몬 종류의 선택과 농도가 중요할 뿐만 아니라 처리 방법, 유전적 계통, 처리 시작 시간 및 처리 기간 등에 크게 좌우 되며(Hunter and Donaldson, 1983; Nakamura and Takahashi, 1973; Pandian and Sheela, 1995), 특히 효과적인 성전환 유도를 위해서는 생식소 분화 시기에 적합한 처리 시작 시간의 결정은 매우 중요하다(Hunter and Donaldson 1983; Nakamura and Iwahashi 1982).

어류의 여성화 호르몬으로 가장 많이 사용되는 것은 E_2 이며, 송사리의 성전환 연구에서도 널리 이용되고 있다(Yamamoto, 1975). 본 연구에서 E_2 를 50, 100, 200 mg/kg diet로 호르몬을 경구 투여한 결과, 200 mg/kg diet를 60일간 처리한 실험군이 다른 농도로 처리한 것보다 생존율은 낮으나 성전환율이 $83.3 \pm 3.6\%$ 로 높게 나타났다. E_2 를 사용하여 송사리를 대상으로 실시한 이전의 성전환 연구에서 Yamamoto (1963)는 여성화 호르몬에 따라 성전환을 유도하는데 필요한 농도가 다르다고 보고 한 바 있다. 또한 E_2 를 처리하여 성전환을 유도한 결과 5.8 $\mu\text{g}/\text{mg}$ diet에서 100%의 암컷률을 보였다고 보고 하였다. 따라서 본 연구에서 이전의 연구를 바탕으로 E_2 를 처리하였으며 이전의 농도에 비해 낮은 농도로 처리하여 80%이상의 암컷률을 얻은 것으로 보아 200 mg/kg diet 보다 조금 더 높은 농도에서 암컷화 유도를 시도해 볼 필요성이 있다.

어류의 옹성화 호르몬으로 가장 널리 사용되는 것은 17 α -MT이며, Yamamoto (1975)에 의해 이전에 연구되어 진 바 있다. 본 연구에서는 17 α -MT를 40 mg/kg diet를 60일간 경구 투여하였고, 200 ng/ℓ를 20, 40, 60일간 침적 처리한 결과, 성전환율은 경구 투여 시 $66.7 \pm 1.8\%$, 침적 처리 시

60일 동안 처리한 실험군이 생존율은 낮으나 $88.0 \pm 5.9\%$ 로 나타나 침적처리가 경구 투여보다 성전환율이 높게 나타났다. 이는 침적 처리가 경구 투여보다 사용된 농도가 낮으나 17 α -MT를 사육수에 희석하여 경구 투여보다 어류에 직접적으로 처리되기 때문에 다소 오염의 위험이 있으나 성전환율이 높게 나타난 것으로 사료된다. Yamamoto (1958)가 17 α -MT를 7.8 mg/kg diet로 경구 투여하여 50%의 성전환을 유도하였다는 보고가 있다. 따라서 본 실험에서는 이전의 연구 보다 높은 농도이긴 하나 40 mg/kg diet를 경구투여 하여 효과적인 성전환율을 유도하였다.

Yamamoto 이후의 연구에서는(Onitake, 1972; Hamaguchi-S, 1992) 성분화 과정이 부화 이전에 선행된다고 보고한 바 있어 저농도의 호르몬으로 효과적으로 성전환을 유도하기 위해 부화 전 수정란이나 부화자어에 호르몬을 침적 처리하여 성전환을 유도하기 위한 연구가 선행되어야 할 것으로 사료된다.

성전환 처리군을 분석하기 위한 방법으로 일반적으로 생식소의 조직학적 분석 방법이 있으나 송사리에서는 암컷, 수컷, 성전환 처리군이 형태적으로 이차 성결정 특징을 나타낸다고 보고한 바 있다(Yamamoto, 1958; Egami, 1975). 예컨대, 암컷은 뒷지느러미의 형태가 수컷 뒷지느러미 보다 크기가 작고 삼각형에 가까우며, 수컷은 뒷지느러미 형태가 사각형에 가까우며 암컷 뒷지느러미에 비해 꼬리지느러미에 근접해 있는 것이 특징이다. 그런데 성전환 처리군은 뒷지느러미 형태가 이들의 중간 형질을 나타낸다고 보고되어 있다(Oka, 1931). 이에 유도된 성전환 처리군을 검정하였으며, 검정 후 조직학적 방법으로 분석한 결과 E₂를 처리한 실험군에서 난모세포가 형성되었고, 17 α -MT를 처리한 실험군에서 정세포가 형성되는 것을 관찰 할 수 있었으며, 간성은 나타나지 않았다.

성전환 처리된 수컷은 대조군과 비교 하였을 때 수정율이 떨어졌으나, 유의한 차이가 없었으며, 전체 산란된 알이 난황 흡수까지 생존하는 데에 있어

대조군은 81%였으나 75%로 나타났다. 이를 통해 성전환 된 수컷의 정자 형성이 정상적으로 이루어졌음을 알 수 있으며, 성전환 수컷 6마리 중 2마리가 1♀ : 0♂ 성비를 나타내는 것으로 조사되었다. 또한 성전환 처리된 암컷은 수정율과 부화율이 대조군에 비해 현저히 떨어졌으며, 전체 산란된 알이 난황 흡수까지 생존하는 데에 있어 58%의 yield를 나타내었다. 대조군 5쌍의 암수 비율이 1♀ : 1♂ 성비에 대해 유의한 차이가 없었으며, 성전환 처리군 암컷 6마리 중 5마리가 1♀ : 2♂ 성비에 대해 유의한 차이가 없는 것으로 보아 'YY'인자형을 가지는 수컷은 자연 사망하는 것으로 나타났다. Aida (1936)가 XY 암컷과 XY수컷을 교배하여 자손검정을 한 결과 1♀ : 3♂로 성비가 나타났다고 보고한 바 있으며, Yamamoto (1955, 1959)가 Estrogen을 경구 투여하여 'XY' 인자형을 가지는 암컷을 자손 검정한 결과 Aida의 결과와 달리 1♀ : 2♂의 성비로 나타났다. 'YY'인자형을 가지는 수컷은 유도된 수컷 57마리 중 2마리로 XY : YY의 2대 1의 비율이 나타나지 않았으며 이를 통해 'YY' 수컷이 유도될 확률이 낮음을 알 수 있다. 이를 통해 본 연구에서 자손검정된 암컷 성전환 처리군 중 'YY' 인자형을 나타내는 수컷을 동정할 필요가 있는 것으로 사료된다.

잡종 및 잡종화는 사용된 부계 및 모계 genome의 연관성에 관한 연구와 유도된 잡종의 잡종 강세를 통한 산업적 이용과 잡종화를 통한 불임화 유도를 위해 시도되고 있다(Buth, 1979; Chevassus, 1983; Hubbs, 1955; Schultz, 1969).

송사리에 대한 난 발생 연구는 난 발생 단계의 외형 특징에 근거해 39단계로 구분하여 연구한 바 있으며(Iwamatsu, 1994) 송사리와 대륙 송사리의 난 발생을 비교한 연구는 박과 최(1998)에 연구된 바 있다. 수정란을 수온 $26 \pm 1^{\circ}\text{C}$, 광주기 15/9(L/D) 조건에서 송사리는 수정 후 9일에, 대륙 송사리는 수정 후 7일에 부화하는 것으로 나타났다. 본 실험에서 상반 교배를 통해 유도

된 송사리와 대륙 송사리 잡종의 초기 난 발생을 측정한 결과 친어로 사용된 암컷이 속하는 종의 발생 과정과 비슷하게 나타났다. 송사리, 대륙 송사리, 송사리와 대륙 송사리 잡종(LS), 대륙 송사리와 송사리 잡종(SL), 잡종 2세대(2SL)의 난 발생을 측정한 결과 송사리, 송사리와 대륙 송사리 잡종(LS)의 난 발생이 대륙 송사리, 대륙 송사리와 송사리 잡종(SL), 잡종 2세대(2SL)보다 진행 속도가 느렸으며, 부화까지 걸린 기간 역시 2~3일 느린 9~10일에 부화되어 박과 최(1998)에 의해 보고된 내용과 일치하였다. 그러나 전체 산란된 난수를 비교 하였을 때 본 실험에서는 송사리, 송사리와 대륙 송사리 잡종(LS)이 대륙 송사리, 대륙송사리와 송사리 잡종(SL)보다 많이 생산하여 유의한 차이를 나타내어 박과 최(1998)의 보고와 반대의 경향을 나타내었는데, 이러한 차이는 본 실험에 사용된 송사리는 여러 세대에 걸쳐 본 연구실에서 사육됨으로써 사육 조건에 안정적으로 적응을 하였기 때문에 나타난 결과로 사료되며 수정율, 부화율, 초기 생존율은 송사리와 대륙 송사리, 이들의 잡종에서 유의한 차이가 나타나지 않았으나, 잡종 1세대를 자가 교배하여 얻은 2세대에서 부화율, 초기 생존율이 현저히 떨어졌으며, 기형율이 증가되는 경향을 보여 이를 통해 제 3세대에서는 부화율, 초기 생존율이 뚜렷이 저하될 것으로 예상되며, 기형율 또한 증가될 것으로 보인다. 이러한 결과는 배우자의 결합과정에서 그들 유전자 사이의 유전적 불일치성에 의한 것으로 사료된다.

김과 김(1993)의 보고에 따르면 두 종의 교잡에 의해 유도된 잡종은 형태적으로 차이를 나타낸다고 보고한 바 있어 이를 바탕으로 하여 꼬리지느러미, 뒷지느러미, 가슴지느러미, 등지느러미를 조사하여 통계 처리한 결과 등지느러미, 가슴지느러미는 각 실험군에서 유의한 차이를 나타내지 않았으나, 뒷지느러미, 꼬리지느러미에서는 유의한 차이를 나타내었다. 뒷지느러미 기조수는 대륙 송사리가 17~18개였으며, 송사리가 19~20개로 나타나 송사리의 뒷지느러미 수가 많았고, 잡종은 이들 두 종의 중간 형질을 나타내었다. 꼬리

지느러미 기조수는 송사리가 19~20개, 대륙 송사리가 24개로 많았으며 잡종은 두 종의 중간 형질을 나타내었다. 하지만 대륙 송사리와 송사리 잡종(SL)의 2세대(2SL)는 뒷지느러미 계수는 대륙 송사리와 유의하였으며, 꼬리지느러미 계수는 송사리와 유의하게 나타났다.

난경과 부화된 자어의 크기를 측정하여 두 종과 이들의 잡종의 특징을 분석한 결과 송사리의 난경이 1.52 mm, 부화 자어 길이가 4.7 mm 였으며, 대륙 송사리의 난경이 1.40 mm, 부화 자어 길이가 4.2 mm로 나타나 송사리의 난경과 부화 자어의 길이가 대륙 송사리보다 크게 나타났다. 또한 이들의 잡종과 잡종을 자가 교배하여 얻은 제 2세대의 난경과 부화 자어의 길이는 잡종 유도 시 사용된 암컷 종과 비슷하게 나타나 김과 김(1993)에서 보고한 바와 같이 나타났다. 그리고 조사된 성장률은 송사리가 대륙 송사리 보다 전장이 크고, 어체중이 많이 나갔으나 유의한 차이가 나타나지 않았으며 이들의 잡종은 두 종의 중간 형질을 나타내는 것으로 조사되었다. 본 실험에서 송사리, 대륙 송사리, 이들 잡종의 성비를 측정한 결과 모두 1♂ : 1♀ 성비가 관찰되어 잡종 유도로 인하여 성비의 영향을 받지 않는 것으로 되었다.

본 연구에서는 송사리를 성전환 하여 불임화를 유도하였으며, 송사리와 대륙 송사리의 교배를 통해 잡종이 생식능력이 있는 것으로 확인되었다. 따라서 앞으로 이들을 이용하여 단성 불임화 잡종을 유도할 수 있는 기초를 마련하였다. 더욱이 상기 잡종을 모델 어종으로 사용하는데 있어 송사리, 대륙 송사리와 비교하여 뒷지느러미, 꼬리지느러미 기조수가 다르며, 색깔이나 나타나는 반점이 두 종의 중간 형질을 나타내기 때문에 생태계 노출시 구분할 수 있는 형태학적 marker로써 이용될 수 있을 것으로 사료된다.

앞으로 생명공학 의정서가 비준되어 2006년에 발효가 될 예정이므로 유전자 변형 생물체가 수입 되었을 경우 이들의 위해성을 검사 할 수 있는 모델 어종으로 사용될 가능성이 있을 것이다.

V. 국 문 요 지

송사리를 성전환 하기 위하여 암컷화 호르몬인 E_2 를 50, 100, 200 mg/kg diet의 농도로 20, 40, 60일간 경구 투여한 결과 농도가 높아질수록, 처리 기간이 길어질수록 생존율은 낮으며, 성전환율은 높게 나타났다. 즉, 200 mg/kg diet를 60일간 처리하였을 때 성전환율이 가장 높게 나타났다. 수컷화 호르몬인 17 α -MT를 40 mg/kg diet로 경구 투여한 결과 수컷율이 66.7%로 조사되어 대조군의 47.8%와 유의한 차이가 있었으며, 200 ng/ℓ를 사육수에 희석하여 20, 40, 60일간 침적 처리한 결과 성전환율은 20일 처리군이 64.3%, 40일 처리군이 82%, 60일 처리군이 88%로 나타나 대조군의 52.7~47.3%와 비교하여 높은 성전환율이 유도되었다.

성전환된 송사리에서 'XY'인자형을 가지는 암컷을 검정하기 위하여 자손검정을 실시한 결과 암컷 6마리 중 5마리가 1♀ : 2♂의 성비와 유의한 차이가 없는 것으로 나타났으며, 'YY'인자형을 가지는 수컷은 수정율, 부화율, 초기 생존율을 조사한 결과 모두 자연 사망한 것으로 나타났다. 또한, 'XX'인자형을 가지는 수컷을 검정한 결과 100% 암컷이 유도되었다.

송사리와 대륙 송사리 잡종화를 유도한 결과 초기 난 발생, 난경의 크기가 잡종 유도 시 사용된 암컷 종의 특징을 나타내었으며, 초기 난 발생은 대륙 송사리와 대륙 송사리 ♀ × 송사리 ♂를 교배한 잡종이 송사리, 송사리 ♀ × 대륙 송사리 ♂과 이들의 잡종 2세대보다 빨랐다.

수정율, 부화율, 초기 생존율을 조사한 결과 대조군으로 사용된 송사리, 대륙 송사리와 유도된 잡종 간 유의한 차이가 나지 않았다. 그러나 대륙 송사리 ♀과 송사리 ♂ 간의 잡종을 자가 교배하여 유도된 F2 잡종 개체들은 부화율이 82.2%, 초기 생존율이 50.8%로 F1 잡종 보다 낮게 나타났으며 기형율은 14.5%로 높게 유도되는 결과가 나타났다.

난경을 측정된 결과 송사리가 1.52 mm, 대륙 송사리가 1.40 mm로 조사되었고 부화된 치어의 길이 역시 송사리가 4.7 mm, 대륙 송사리가 4.2 mm로 조사되어 송사리가 대륙 송사리보다 난경과 치어의 크기가 컸다. 유도된 잡종의 난경과 치어의 길이는 송사리와 대륙 송사리의 중간 형질을 나타내는 것으로 조사되었다.

성장률은 송사리와 대륙송사리의 전장과 어체중에서 유의한 차이가 나타나지 않았으며, 유도된 잡종 역시 유의한 차이가 나타나지 않았다. 모든 실험군에서 전장은 부화 후 4주후부터 어체중은 6주 후부터 급격하게 증가하는 경향을 나타내었다.

송사리와 대륙 송사리의 성비를 측정된 결과 1♀ : 1♂의 성비를 나타내었으며, 유도된 잡종의 성비 또한 1♀ : 1♂의 성비를 나타내어 유의한 차이가 나타나지 않았다.

VI. 감사의 글

먼저 이 논문이 완성될 수 있도록 항상 용기와 사랑을 주시고, 끊임없는 질타로써 학문적 사고를 가르쳐주신 김동수 교수님께 진심으로 감사드립니다. 또한, 바쁘신 와중에서도 꼼꼼히 논문을 교정해 주신 조재윤 교수님과 김창훈 교수님께 감사드리며, 평소 학문하는 자세를 가르쳐 주신 손철현 교수님, 허성범 교수님, 장영진교수님, 배승철 교수님, 남윤권 교수님께 아울러 감사드립니다.

그리고 실험을 할 수 있도록 배려해주신 한국 해양 대학교 박인석 교수님께 감사드리며, 어려울 때 많은 도움을 주신 한국 해양 연구원 노충환 선임 연구원님께도 진심으로 감사드립니다.

실험을 하면서 많이 힘들고 어려울 때 아낌없는 위로와 격려를 해주신 팽희 박사님, 이상윤 박사님, 임재현 박사님께 진심으로 감사드립니다. 아울러 유전 육종 실험실의 학부생 송하연님, 이상재님, 후배지만 항상 옆에서 웃음을 선사해주고 학위 과정 중 여유를 느끼게 해준 윤미영님에게도 감사의 마음을 전합니다.

그리고 실험이 안 될 때마다 옆에서 조언을 해주고 격려를 해준 유전 자원 공학 실험실의 김근용 박사님, 조영선 선배님, 하은미 선배님, 남광철님, 이상윤님, 박신명님에게도 감사의 마음을 전합니다.

실험실에 들어와서 이 논문이 완성 될 수 있도록 옆에서 실험을 가르쳐준 우선량님, 이수진님에게도 감사를 드리고, 아울러 실험을 할 수 있도록 배려해준 한국 해양 대학교 김은미 선생님에게도 감사의 마음을 전합니다.

실험실에 들어와서 석사 과정을 같이 하고, 즐거운 일 힘든 일을 함께 나

누며 동고동락한 손동현 선배님, 이승기 선배님에게도 감사 드리며, 옆에서 많은 힘이 되어준 민병화 선배님, 박규진 선배님, 노경언 선배님, 손지형 선배님, 황철희 선배님, 김진주님, 최별님에게 감사드리며, 항상 늦은 밤에 찾아와 아낌없는 조언을 해준 민병희 선배님께도 감사드립니다.

멀리 있지만 항상 전화로써 용기를 북돋워주고 따뜻한 안부의 전화를 해준 소중한 친구인 장정숙님, 황미정님, 윤미정님, 이동근님, 최홍석님, 이해주님, 꺾남정님에게도 감사의 말을 전합니다.

마지막으로 오늘도 차가운 새벽 공기를 마시며 식사 과정을 마칠 수 있도록 정신적으로 금전적으로 격려 해주신 사랑하는 아버지, 어머니 그리고 옆에서 격려와 용기를 준 큰 오빠, 작은 오빠에게도 감사를 드리며 항상 사랑으로써 나를 보살펴 주고 옆에서 힘이 되어준 이승기님에게도 감사의 말을 전합니다.

VII. 참 고 문 헌

- Arai, K., T. Nomura, T. Hayashi and R. Suzuki, 1997. Sex-reversal by high water temperature in the loach *Misgurnus anguillicaudatus*. In: The Sixth International Symposium on genetics in Aquaculture, Stirling, Scotland, 24-28 June 1997. University of Stirling, UK.
- Blazquez, M., S. Zanuy, M. Carillo and F. Piferrer, 1998. Structural and functional effects of early exposure to estradiol-17 beta and 17 alpha-ethynylestradiol on the gonads of the gonochoristic teleost *Dicentrarchus labrax*. Fish Physiol. Biochem. 18; 37-47.
- Brad, J. A., L. Zhangjiang and R. A. Dunham, 2003. Dress-out and fillet yields of channel catfish, *Ictalurus punctatus*, blue catfish, *Ictalurus furcatus*, and their F₁, F₂ and backcross hybrids. Aquaculture 228; 81-90.
- Burtzev, I. A., 1972. Progeny of intergeneric hybrids of beluga and sterlet. In: Genetics Selection and Hybridization, Keter Press, Jerusalem, 211-220.
- Chevassus, B., 1983. Hybridization in fish. Aquaculture 33; 245-262.
- Chevassus, B., R. Guyomard, D. Chourrout and E. Quillet, 1983. Production of viable hybrids in salmonids by triploidization.

- Genet. Sel. Evol. 15; 519-532.
- Purdom, C. E., 1993. Genetics and Fish Breeding. Chapman & Hall. UK. 158-177.
- Cruz, V. M. E. and G. C. Mair, 1994. Conditions for effective androgen sex reversal in *Oreochromis niloticus* (L.). Aquaculture 122; 237-248.
- 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.
- Donaldson, E. M., U. H. M. Fagerlund, D. A. Higgs and J. R. McBride, 1979. Hormonal enhancement of growth. W. S. Hoar, D. J. Randall and J. R. Brett (eds), in Fish Physiology, Vol. VIII, Academic Press, New York, NY and London. 455-598.
- Dunham, R. A., R. Smitherman, M. Brooks, M. Benchakan and J. Chappell, 1982. Paternal predominance in reciprocal channel-blue hybrid catfish. Aquaculture 29; 389-396.
- George, A. H. and E. M. Donaldson, 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture. W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson (eds), in Fish Physiology, Vol. IX. Part B. 223-303. Academic Press, New York, NY and London.
- Gomelsky, B., N. B. Cherfas, A. Gissis and G. Hulata, 1999.

- Hormonal sex inversion in striped bass and white bass X striped bass hybrids. North Am. J. Aquacult. 61; 199-205.
- Guerrero, R. D. and L. A. Guerrero, 1993. Effect of oral treatment of mibolerone on sex reversal of *Oreochromis mossambicus*. Asian Fish. Sci. 6; 347-350.
- Giudice, J. J., 1966. Growth of a blue × channel catfish hybrid as compared to its parent species. Prog. Fish-Cult. 26; 142-145.
- Hamaguchi, S., 1992. Sex differentiation of germ cells and their supporting cells in *oryzias latipes*. J. Fish Biol. 4; 11-17.
- Hervé, M., P. Fontaine, P. Kestemont, N. Wang and J. Brun-Bellut, 2004. Influence of photoperiod on the onset of gonadogenesis in Eurasian perch *Perca fluviatilis*. Aquaculture 241; 561-274.
- Hulata, G., 1995. A review of genetic improvement of the common carp (*Cyprinus carpio* L.) and other cyprinids by crossbreeding, hybridization and selection. Aquaculture 129; 143-157.
- Hunter, G. A. and E. M. Donaldson, 1983. Hormonal sex control and its application to fish culture. W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson (eds), in Fish Physiology, Vol. IX. Academic Press, New York, 223-303.
- Hunter, G. A., E. M. Donaldson, F. W. Goetz and P. R. Edgell, 1982. Production of all-female and sterile groups of coho

- salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and experimental evidence for male heterogamety. Trans. Am. Fish. Soc. 111; 367-372.
- Iwamatsu, T., 1994. Stage of normal development in the medaka *Oryzias latipes*. Jap. J. Zool. 11; 825-839.
- Jahn, L., D. Douglas., M. Terhaar and G. Kruse, 1987. Effects of stocking hybrid striped bass in Spring Lake, Illinois. North Am. J. Fish. Mgt. 7; 522-530.
- Kavumpurath, S. and T. J. Pandian, 1992. Production of YY male in the guppy (*Poecilia reticulata*) by endocrine sex reversal and selective breeding. J. Asian Fish. Sci. 5; 265-276.
- Kavumpurath, S. and T. J. Pandian, 1993. Production of YY female guppy (*Poecilia reticulata*) by endocrine sex reversal and progeny testing. Aquaculture 116; 183-189.
- Kenneth, B. Davis and M. L. Gerald , 2004. Hormonal effects on sex differentiation and growth in sunshine bass *Morone chrysops* × *Morone saxatilis*. Aquaculture 231; 587-596.
- Kerby, J. H., J. M. Hinshaw and M. T. Hoish, 1987. Increased growth and production of striped bass × white bass hybrids in earthen ponds. J. World Aquacult. Soc. 18; 35-43.
- Kim, D. S., C. H. Noh, Y. H. Choi and Y. K. Nam, 1996. Production of supermale (YY) and superfemale (Δ YY) Nile

- tilapia (*Oreochromis niloticus*) by sex reversal and chromosome set manipulation. II. Progeny tests with supermale and superfemale Nile tilapia. J. Aquacult. 9; 101-106.
- Kim, D. S., H. Y. Cho., I. C. Bang, G. C. Choi and Y. K. Nam, 2001. Effect of immersion of larvae in oestradiol-17 β on feminization, structural changes of gonad and growth performance in the Far Eastern catfish *Silurus asotus* (Linnaeus). Aquacult. Res. 32; 323-328.
- Kim, D. S., K. Y. Lee and T. Y. Lee, 1990. Gonadal sex differentiation in *Misgurnus mizolepis*. Kor. J. Ichthyol. 2; 95-105.
- Kim, D. S., Y. K. Nam and I. S. Park, 1995. Performance of diploid and triploid hybrid loach, *Misgurnus mizolepis* female X *M. anguillicaudatus* male. Aquaculture 137; 326-327.
- Kim, D. S., Y. K. Nam and J. Y. Jo, 1997. Effect of oestradiol-17 β immersion treatments on sex reversal of mud loach, *Misgurnus mizolepis* (GÜNTHER). Aquacult. Res. 28; 941-946.
- Kim, I. S. and E. H. Lee, 1992. New record of the ricefish, *Oryzias latipes sinensis* (Pisces : Oryziidae) from Korea. Korean J. Syst. Zool. 8; 177-182.
- Nakamura, M. and H. Takahashi, 1973. Gonadal sex differentiation in *Tilapia Mossambica* with special regard to the time of estrogen

- treatment effective in inducing feminization of genetic fishes. Bull. Fac. Fish., Hokkaido Univ. 24; 1-13.
- Nam, Y. K., C. H. Noh, C. H. Jeong and D. S. Kim, 1998. Effect of 17 α -methyltestosterone immersion treatment on sex reversal of mud loach, *Misgurnus mizolepis*. Fish. Sci. 64; 933-945.
- Nam, Y. K., I. S. Park and D. S. Kim, 2004. Triploid hybridization of fast-growing transgenic mud loach *Misgurnus mizolepis* male to cyprinid loach *Misgurnus anguillicaudatus* female: the first performance study on growth and reproduction of transgenic polyploid hybrid fish. Aquaculture 231; 559-572.
- Noh, C. H., Y. K. Nam and D. S. Kim, 1997. Effects of temperature and estradiol-17 β treatment on phenotypic sex determination in different genotypes of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Kor. J. Ichthyol. 9; 195-201.
- Ord, W. M., M. Le Bere and P. De Kinkelin, 1976. Viral hemorrhagic septicemia: comparative susceptibility of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and hybrids (*Salmo gairdneri* X *Oncorhynchus kisutch*) to experimental infection. Can. J. Fish. Aquat. Sci., 33; 1205-1208
- Oka, T. B., 1931. On the processes of the fin rays of the male of *Oryzias latipes* and other sex characters of this fish. J. Fac. Sci.

- Imp. Univ. Tokyo 4; 209-218.
- Pandian, T. J. and K. Varadaraj, 1987. Techniques to regulate sex ratio and breeding in tilapia. *Curr. Sci.* 56; 337-343.
- Pandian, T. J. and S. G. Sheela, 1995. Hormonal induction of sex reversal in fish. *Aquaculture* 138; 1-22.
- Park, I. S., B. S. Kim, H. M. Park, Y. K. Nam, C. H. Jeong and D. S. Kim, 1997. Improved early survival in backcross of male mud loach (*Misgurnus mizolepis*) X cyprinid loach (*M. anguillicaudatus*) hybrids to female cyprinid loach. *J. Aquacult.* 10; 363-371.
- Park, I. S., J. H. Kim, S. H. Cho and D. S. Kim, 2004. Sex differentiation and hormonal sex reversal in the bagrid catfish, *Pseudobagrus fulvidraco* (Richardson). *Aquaculture* 232; 183-193.
- Park I. S., Y. K. Nam, S E Douglas, S C Johnson and D. S. Kim, 2003. Genetic characterization, morphometrics and gonad development of induced interspecific hybrids between yellowtail flounder, *Pleuronectes ferrugineus* (Storer) and winter flounder, *P. americanus*. *Aquacult. Res.* 34; 389-396
- Parsons, J. E., R. A. Busch, G. H. Thorgaard and P. D. Scheerer, 1986. Increased resistance of triploid rainbow trout × coho salmon hybrids to infectious hematopoietic necrosis virus.

- Aquaculture 57; 337-343.
- Peter, F. G. and H. T. Gray, 1995. Sexual maturation and fertility of diploid and triploid Atlantic salmon $\times$ brown trout hybrids. Aquaculture 137; 299-311.
- Pifferrer, F. and E. M. Donaldson, 1992. The comparative effectiveness of the natural and a synthetic estrogen for the direct feminization of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). Aquaculture 106; 183-193.
- Rao, H. N. S. and G. P. S. Rao, 1983. Hormonal manipulation of sex in the common carp, *Cyprinus carpio* var. communis (L.). Aquaculture 35; 83-88.
- Robinson, E. J. and R. Rugh., 1943. The reproductive processes of the fish, *Oryzias latipes*. Biol. Bull. 84; 115-125.
- Sakaizumi, M. and S. R. Jeon. 1987. Two divergent groups in the wild populations of medaka *Oryzias latipes* in Korea. Kor. J. Limnol. 20; 13-20
- Shaojun L., Y. Sun, C. Zhang, K. Luo and Y. Liu, 2004. Production of gynogenetic progeny from allotetraploid hybrids red crucian carp $\times$ common carp. Aquaculture 236; 193-200.
- Shegal, G. K., P. K. Saxena and H. S. Sehgal, 1995. Hormonal control of sex in common carp and its application to

- composite fish culture. *Aquaculture* 129; 219.
- Shegal, G. K. and P. K. Saxena, 1997. Effect of estradiol-17 beta on sex composition, growth and flesh composition in common carp, *Cyprinus carpio communis* (Linn.). *J. Aquacult. Trop.* 12; 289-295.
- Shelton, W. L., D. Rodriguez-Guerrero and J. Lopez-Macias, 1981. Factors affecting sex reversal of *Tilapia aurea*. *Aquaculture* 25; 59-65.
- S. Scholz and H. O. Gutzeit, 2000. 17 α -ethinylestradiol affects reproduction, sexual differentiation and aromatase gene expression of the medaka (*Oryzias latipes*). *Aquat. Toxicol.* 50; 363-373.
- Stephanie D., S. A. Villalobos, K. Kannan and J. P. Giesy, 2001. Morphological effects of Bisphenol-A on the early stages of medaka (*Oryzias latipes*). *Chemosphere* 45; 535-541.
- US EPA, 1991. Guidelines for Conducting Early Life Stage Toxicity Test with Japanese Medaka (*Oryzias latipes*). EPA/600/3-91/063.
- Uwa, H., 1986. Karyotype evolution and geographical distribution in the ricefish genus *Oryzias*. *Indo-pacific fish biology* : Proceeding of the second international conference on Indo-Pacific fishes, edited by T. Ueno, R. Arai, T. Taniuchi

- and K. Matsuura, 867-876.
- Uwa, H. and S. R. Jeon, 1987. Karyotypes in two divergent groups of a ricefish, *Oryzias latipes*, from Korea. Kor. J. Limnol. 20; 139-147.
- Uwa, H. and W. Magtoon, 1986. Description and karyotype of a new ricefish, *Oryzias mekongensis* from Thailand. Copeia, 2; 473-478.
- Yamamoto, T., 1953. Artificially induced sex-reversal in genotypic males of the medaka, *Oryzias latipes*, J. Exp. Zool. 123; 571-594.
- Yamamoto, T., 1953. Artificial induction of functional sex-reversal in genotypic females of the medaka (*Oryzias latipes*). J. Exp. Zool. 137; 227-264.
- Yamamoto, T. and N. Matsuda, 1963. Effects of estradiol, stilbestrol and some alkyl-carbonyl androstanes upon sex differentiation in the medaka, *Oryzias latipes*. Gen. Comp. Endocrinol. 3; 101-110.
- Yeager, D.M., 1985. Creation of a hybrid striped bass fishery in the Escambia River, Florida. North Am. J. Fish. Mgt. 5; 389-392.
- 김경길, 1995. 유도된 넙치와 범가자미 간 잡종 자어의 생존 및 성장에 관한 연구. 한국양식학회지 8; 69-76.
- 김동수·남윤권, 1993. 어류의 유전육종과 산업에의 응용에 관하여. 제주

대 해양연보. 17; 129-136.

김동수·노충환·최윤희·남윤권, 1996. 성전환 및 염색체 공학 기법을 이용한 초수컷(YY) 및 초암컷(Δ YY) 나일틸라피아(*Oreochromis niloticus*) 생산 II. 생산된 초수컷 및 초암컷 나일틸라피아의 자손검정. 한국양식학회지. 9; 101-106.

김익수, 1997. 한국동식물도감. 제 37권 동물편(담수어류). 교육부. 287-291

김익수·김소영, 1993. 한국산 송사리 두 종의 교잡실험. 한국육수학회지. 5; 113-121.

김익수·문교정, 1987. 한국 송사리의 핵형. 한국동물학회지. 30; 379-386.

김익수·강언중, 1993. 원색 한국어류도감. 아카데미서적, 서울.

김익수, 1997. 한국동식물도감 동물편(담수어류), 교육부 제 37권 서울.

노충환, 1995. 17 α -Methyltestosterone의 침적법에 의한 나일틸라피아, *Oreochromis niloticus*의 성전환. 부산수산대학교 석사학위 청구논문.

노충환, 1998. 염색체 조작과 성전환 기법을 이용한 나일틸라피아의 전수컷 생산. 부산수산대학교 박사학위 청구논문.

박두산·최신석, 1998. 송사리와 대륙송사리의 산란, 난발생 및 자어의 성장. 한국육수학회지. 31; 109-118.

박인석, 1992. 미꾸라지와 미꾸리의 잡종 및 잡종 3배체에 관한 연구. 부산수산대학교 박사학위 청구논문.

정문기, 1997. 한국어도보. 일지사, 서울. 213-214.