

수온과 광주기 조절에 의한 볼락 (*Sebastes inermis*)의 혈장내 성 스테로이드호르몬 농도의 변화

장영진 · 임한규* · 권준영**
부경대학교 양식학과, *국립수산진흥원 울진수산종묘시험장
**University of Stirling

Changes in Plasma Steroid Hormone Level in Rockfish (*Sebastes inermis*) by the Controlled Water Temperature and Photoperiod

Young Jin CHANG, Han Kyu LIM*
and Joon Yeong KWON**

Department of Aquaculture, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea
*Uljin Marine Hatchery, National Fisheries Research and Development Institute,
Uljin-gun 767-860, Korea
**University of Stirling, Scotland U.K.

Plasma levels of sex steroid hormones in rockfish, *Sebastes inermis* were examined monthly in relation to gonadosomatic index (GSI) under a controlled water temperature and photoperiod. The GSI of a control group (C) in female began to increase from November and reached a maximum in January. Sample fish under a controlled water temperature and photoperiod (Tr) were divided into a responded group (Tr-r) and a un-responded group (Tr-n) by the gonadal maturation condition and GSI. The GSI of females in Tr-r reached a maximum in March. But the female GSI in Tr-n kept lower than 1.2 during the experimental period. No differences in male GSI were noticed between C and Tr. The estradiol-17 β and testosterone levels of female plasma in Tr reached a maximum in October, later than those in C. In males, these was no difference in 11-ketotestosterone and testosterone between C and Tr. When rockfish was reared in September under the controlled water temperature and photoperiod which were equivalent to those in July, that is two months earlier, the maturation of females was delayed in comparison with C. This finding suggested that delayed maturation in ovary was caused by the secretion of sex steroid hormones in relation to the water temperature and photoperiod of the hypothalamus-pituitary-gonad axis.

Key words: *Sebastes inermis*, Maturation, Steroid hormone, Temperature, Photoperiod

서 론

어류의 증·양식을 안정적으로 발전시키기 위해서는 양질의 종묘를 계획적으로 생산할 수 있어야 하며, 그러기 위해서는 어미의 번식기구 해명과 함께 성숙 및 산란제어를 위한 기술의 확립이 필요하다. 최근 생식내분비 분야에서 분석 기술이 발달하여 연어과 어류를 포함한 담수어류를 중심으로 어류의 생식내분비에 관한 지식은 많이 축적되었지만 (Aida, 1988; Hunter and Donaldson, 1983; Nagahama, 1987), 해산어류에서는 내분비계에 의한 성숙과 산란기구에 관한 정보가 아직 부족한 실정이다. 그러므로 지금까지는 담수어류를 대상으로 개발한 방법들을 경제적으로 중요한 해산어류에 응용하여 인위적인 성숙이나 산란을 유도해 왔다. 그러나 담수어류와 해산어류 사이에 서식 환경, 삼투조절 능력 및 성숙시기 등이 다르기 때문에 좋은 결과를 얻을 수 없는 경우가 많았다.

증·양식분야에서 인위적으로 어류의 성숙이나 산란을 제어하는 방법으로는 수온이나 광주기와 같은 환경인자를 조절하는 방법 (Aida et al., 1984a; Davies and Hanyu, 1986; Ko et al., 1998; Kuo et al., 1974; Razani and Hanyu, 1986a; Takashima and Yamada, 1984; 板澤·羽生, 1991)과 성숙이나 산란에 관여하는 호르몬제를 이용하는 방법이 많이 연구되어 왔다 (隆島·羽生, 1989). 그러나

대부분의 연구는 난생 어류를 대상으로 한 연구 결과이기 때문에 새끼를 낳는 어류를 대상으로 한 보고 자료는 많지 않다. 따라서 새끼를 낳는 어류인 볼락, *Sebastes inermis*의 성숙과 산란 조절기구를 밝히기 위한 연구의 일환으로 저자 등은 이미 수온과 광주기 조절에 의한 볼락의 성숙 지연에 관한 연구 (Ko et al., 1998)를 수행하였다.

본 연구는 이전의 연구결과를 보다 명확히 하고 볼락의 성숙과정과 배란에 있어 성 스테로이드 호르몬의 역할을 알아보기 위하여 인위적인 환경조절에 의한 estradiol-17 β (E₂), 11-ketotestosterone (11-KT) 및 testosterone (T)의 혈장내 농도 변화를 조사하였다.

재료 및 방법

실험어는 거제도 남부해역에서 자연산 치어를 잡아 가두리에서 3년간 사육한 볼락 어미로 크기는 전장 16.6~19.4 cm, 체중 92.6~161.3 g이었다. 실험은 9월부터 수온과 광주기를 자연조건 보다 2개월 늦춘 실험구 (Tr)와 자연 수온과 광주기를 이용한 대조구 (C)를 2반복으로 설치하여 이듬해 4월까지 실시하였다 (Ko et al., 1998).

실험기간중 실험어의 먹이는 습사료를 매일 체중의 1~2%씩 공급하였고, 매월 1회 각 실험구에서 10마리씩 무작위로 잡아내어

혈액을 채취한 후 원심분리하여 얻어진 혈장은 분석할 때까지 -80°C에서 보관하였다.

혈장 estradiol-17β (E₂)의 분석은 Kobayashi et al. (1987)의 방법에 따라 혈장을 전처리하고 표지호르몬으로 [2,4,6,7-³H]-E₂ (Amersham International Ltd.)를, 항체로 rabbit anti-E₂-6-(O-carboxymethyl)-oxime-BSA (Teikokuzoki Pharm. Co.)를 사용하여 RIA를 실시하였다. Testosterone (T)과 11-ketotestosterone (11-KT)의 분석은 Aida et al. (1984b)의 방법에 따랐으며, T와 11-KT의 표지호르몬으로는 [1,2,6,7-³H]-T (Amersham International Ltd.)과 11-keto-[1,2-³H]-T (Amersham International Ltd.)를, 항체로는 rabbit anti-T-11α-hemisuccinate-BSA (Teikokuzoki Pharm. Co.)와 11-KT-3-carboxymethyl-BSA (gift of Professor Y. Nagahama, National Institute for Basic Biology)를 각각 사용하였고, 모든 호르몬 분석은 일본 동경대학 수권생물학과 Aida 교수의 연구실에서 수행하였다.

결 과

암컷의 GSI는 저자 등 (Ko et al. 1998)이 이미 보고한 것과 같이 실험구와 대조구 모두에서 11월까지 큰 차이를 보이지 않았으나 12월에 대조구에서 급격히 상승하였다. 그러나 수온과 광주기를 조절한 실험구 (Tr)에서는 12월부터 전 실험기간을 통하여 수온과 광주기의 변화에 반응하여 GSI의 발달이 대조구에 비해 지연된 개체들 (Tr-r)과 중단된 개체들 (Tr-n)로 나뉘어졌다. 대조구의 GSI는 1월에 가장 높았다가 2월에 급격히 감소하였으나, 실험구중 수온과 광주기의 변화에 반응한 개체들은 대조구보다 1개월 늦은 2월에 최대값을 보였다. 그러나 전실험 기간을 통하여 수온과 광주기의 변화에 반응하지 않은 개체들은 실험개시시와 비슷한 수준을 유지하였다. 대조구와 실험구 사이에서 수컷의 GSI 변화 경향은 큰 차이가 없었다.

암컷의 혈장 E₂와 T의 변화는 Fig. 1에 나타내었다. 실험 개시시 0.64 ng/mL였던 E₂의 수준이 대조구에서는 급격히 상승하여 10월에 6.02 ng/mL가 되었으나, 수온과 광주기를 조절한 실험구 (Tr)에서는 9월과 비슷한 수준을 유지하였다. 이후 대조구에서는 혈장 E₂의 수준이 급격히 감소하여 1월 이후부터는 실험 개시시의 수준인 0.50 ng/mL 이하 수준을 유지하였다. 그러나 수온과 광주기를 조절한 실험구 (Tr)에서는 11월부터 상승하기 시작하여 12월에 수온과 광주기의 변화에 반응한 개체들 (Tr-r)은 3.43 ng/mL로 상승하였다가 3월까지 서서히 감소하였다. 수온과 광주기의 변화에 반응하지 않은 개체들 (Tr-n)은 12월에 2.16 ng/mL까지지만 혈장 E₂의 수준이 상승하였다. 암컷에서 혈장 T은 대조구의 경우 11월까지 0.74 ng/mL로 낮은 수준이었으나 12월에 16.79 ng/mL로 급격히 상승하였으며 1월에 2.87 ng/mL로 낮아졌다. 수온과 광주기의 변화에 반응한 개체들 (Tr-r)에서 혈장 T의 수준은 9월에 0.37 ng/mL였던 것이 서서히 높아져 2월에 11.29 ng/mL가 되었으며 이후 빠르게 낮아졌다. 그러나 수온과 광주기의 변화에 반응하지 않은 개체들 (Tr-n)은 12월부터 3월까지 계속 1.00 ng/mL 이하의 낮은 수준을 유지하였다.

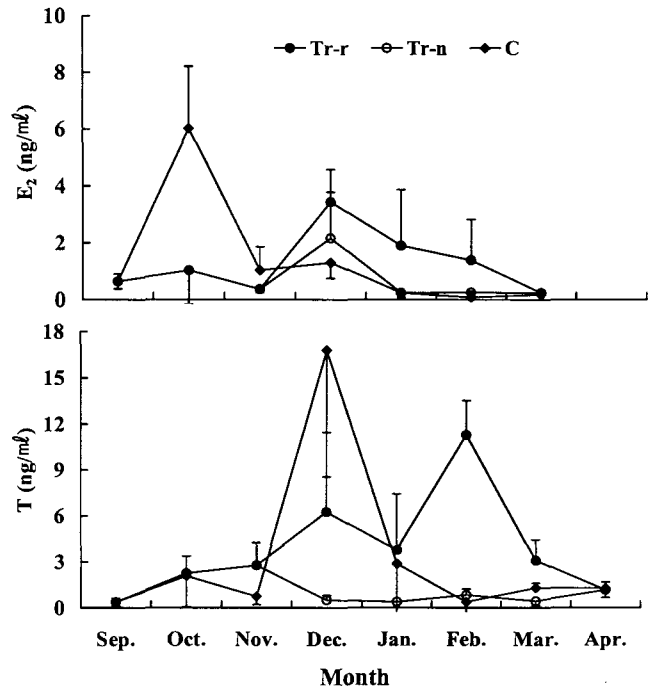


Fig. 1. Monthly changes of estradiol-17β (E₂) and testosterone (T) level in female *Sebastes inermis*.

수컷에서 혈장 11-KT의 수준은 대조구의 경우 실험 개시시인 9월에 0.57 ng/mL였던 것이 10월에 3.56 ng/mL로 높아졌다가 12월에 0.08 ng/mL로 빠르게 낮아져 4월까지 0.20 ng/mL 이하의 낮은 값을 유지하였다. 수온과 광주기를 조절한 실험구 (Tr)의 경우 9월부터 서서히 높아져 11월에 1.34 ng/mL로 높아졌다가 이후 감소하여 4월까지 낮은 수준을 유지하였다. 혈장 T의 수준은 9월에 0.79 ng/mL였던 것이 실험구와 대조구 모두 빠르게 높아져 10월에 가장 높은 수준이 되었다가 이후 서서히 3월까지 감소하였다 (Fig. 2).

고 찰

수온과 광주기는 어류의 성 성숙을 유도하는 중요한 환경 조절 인자로 작용한다는 사실은 이미 잘 알려져 있다. 따라서 어류의 성숙을 인위적으로 유도하기 위해 수온과 광주기를 조절하는 방법은 많은 난생 어류에서 광범위하게 적용되어 왔다 (Aida et al., 1984a, b; Davies and Hanyu, 1986; Davies et al., 1986; Kuo et al., 1974; Razani and Hanyu, 1986a, b; Takashima and Yamada, 1984; Yamazaki, 1965; 野村, 1962; 原田 等, 1970). 그러나 교미를 하고 새끼를 낳는 어류에 대한 연구보고는 아직 빈약한 실정이다.

불락의 번식에 관한 기존의 연구들 (Lee and Kim, 1992; Ko et al., 1998)에서 불락의 암컷 GSI는 낮의 길이가 짧아지고 수온이 하강하는 10월부터 증가하여 연중 낮의 길이가 가장 짧고 저수온을 이루는 12월에 최대값을 나타내어, 불락의 난소는 광주기의 단일화와 저수온에 의해 성숙이 유도되어 출산에 이르게 되는 동계

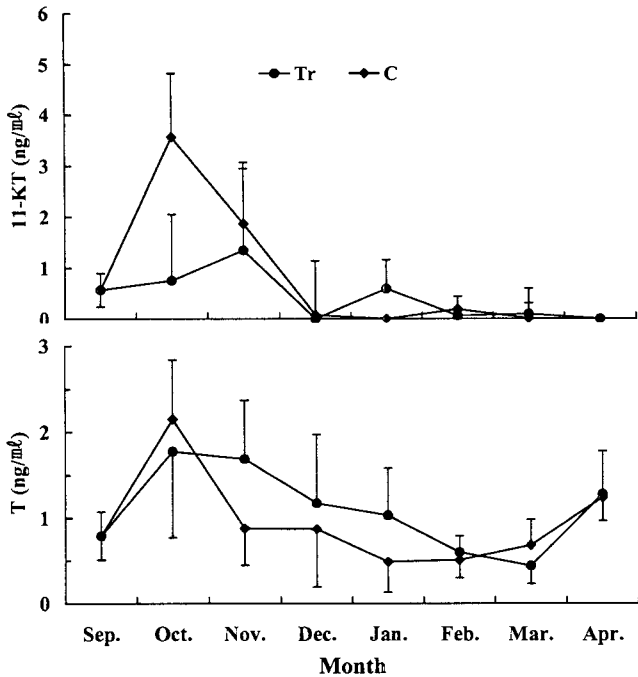


Fig. 2. Monthly changes of 11-ketotestosterone (11-KT) and testosterone (T) level in male *Sebastes inermis*.

출산중임을 보였다 (Ko et al., 1998). 그리고 광주기와 수온을 자연조건 보다 2개월 늦춘 Ko et al. (1998)의 실험에서 출산 시기가 2~3월로 대조구 보다 1~2개월 지연되었다. 즉, 수온과 광주기가 성숙과 출산조절에 효과적으로 작용함을 알 수 있었다. 따라서 본 연구에서는 동계 출산종인 볼락의 난모세포 발달부터 최종성숙과 배란에 이르는 과정에 있어 성 steroid 호르몬의 역할을 보다 명확히 밝히기 위하여 볼락의 인위 성숙에 따른 E_2 , 11-KT 및 T의 혈장내 농도 변화가 조사되었다.

본 연구에서 암컷 혈장의 E_2 는 탁자볼락, *Sebastes taczanowskii* (Nagahama et al., 1991)에서와 같이 GSI의 상승과 함께 증가하였고 임신기 전에 감소하였다. 난황형성기간 동안 높았다가 임신기에 낮아지는 E_2 의 혈장농도는 난생 어류에서와 같이 태생어류의 일반적인 특징으로 생각된다 (de Vlaming et al., 1983; Nagahama et al., 1991). 본 실험에서 암컷 혈장의 E_2 농도는 수온과 광주기를 조절한 실험구와 대조구에서 1~2개월의 시간적 차이를 두고 최고 정점을 보였다. 즉, E_2 가 난황단백전구체 (vitellogenin)의 형성을 조절한다는 사실을 감안할 때 (Nagahama, 1987), 조절된 수온과 광주기와 같은 환경자극은 시상하부-뇌하수체-생식소 축을 따라 전달되어 난소에서 E_2 의 분비를 지연시켰을 것이다. E_2 의 분비 지연은 간에서 난황전구물질의 합성 또한 지연시켜 대조구 보다 난황형성이 늦어졌다고 생각된다. 암컷에서 T의 작용은 아직 밝혀져 있지 않지만, E_2 로 전환시 필요한 steroid라고 보고하였다 (Kagawa et al., 1983).

많은 경골어류의 수컷에서 혈장 T의 농도는 정자형성 기간 동안 높게 유지되다가 배정 (spermiation)과 함께 낮아진다 (Fostier et

al., 1983). 본 연구의 볼락에서도 정자형성 활동이 가장 왕성한 10월에 T의 수준이 가장 높았다가 교미시기 (11월) 이후부터 낮아졌다. 그러나 GSI의 월별 변화에서 대조구와 조절구 사이에 차이가 없었던 것처럼 혈장 11-KT과 T에서도 차이를 보이지 않았다.

요 약

수온과 광주기 조절에 따른 볼락, *Sebastes inermis*의 혈장내 성 steroid hormone 변화를 조사하였다.

월별 GSI의 변화에서 암컷은 대조구의 경우 11월부터 증가하기 시작하여 1월에 최고값이 되었다. 수온과 광주기를 조절한 실험구 중 조절에 반응한 개체들 (Tr-r)에서는 대조구 보다 1개월 늦은 2월에 최고값을 나타내었다. 그러나 수온과 광주기의 조절에 반응하지 않은 개체들 (Tr-n)은 GSI의 발달이 중단되어 전 실험기간 동안 1.2 이하의 낮은 값을 유지하였다. 수컷의 월별 GSI 변화는 대조구와 조절구 사이에서 뚜렷한 차이를 나타내지 않았다.

암컷에서 혈장 E_2 와 T의 변화는 GSI의 변화와 같이 수온과 광주기를 조절한 실험구가 대조구에 비해 2개월 늦게 최고값에 도달하였다. GSI의 월별 변화에서 차이가 없었던 수컷에서 혈장 11-KT와 T의 월별 변화도 대조구와 조절구에서 큰 차이를 보이지 않았다.

수온과 광주기를 자연상태보다 2개월 늦추어 사육한 결과, 자연상태의 대조구에 비해 암컷의 성숙이 지연되었다. 이것은 수온과 광주기의 자극이 시상하부-뇌하수체-생식소 축을 따라 전달되면서 성 steroid의 분비가 영향을 미쳤기 때문에 난소의 성숙이 지연되었다고 생각된다.

참 고 문 헌

- Aida, K. 1988. A review of plasma hormone changes during ovulation in cyprinid fishes. *Aquaculture*, 74, 11~21.
- Aida, K., K. Sakai, M. Nomura, S.W. Lou, I. Hanyu, M. Tanaka, S. Tazawa and H. Ohto. 1984a. Reproductive activity of a twice-annually spawning strain of rainbow trout. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 50, 1165~1172.
- Aida, K., T. Kato and M. Awaji. 1984b. Effects of castration on the smoltification of precocious male masu salmon, *Oncorhynchus masou*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 50, 565~571.
- Davies, P.R. and I. Hanyu. 1986. Effect of temperature and photoperiod on sexual maturation and spawning of the common carp. I. Under conditions of high temperature. *Aquaculture*, 51, 277~288.
- Davies, P.R., I. Hanyu, K. Furukawa and M. Nomura. 1986. Effect of temperature and photoperiod on sexual maturation and spawning of the common carp. II. Under conditions of low temperature. *Aquaculture*, 52, 51~58.
- de Vlaming, V., D. Baltz, S. Anderson, R. Fitzgerald, G. Delahunty and M. Barkley. 1983. Aspects of embryo nutrition and excretion among viviparous embiotocid teleosts: potential endocrine involvements. *Comp. Biochem. Physiol.*, 76A, 189~198.
- Fostier, A., B. Jalabert, R. Billard, B. Breton and Y. Zohar. 1983. Fish physiology—The gonadal steroids. Academic Press, New York, 277~316.

- Hunter, G.A. and E. Donaldson. 1983. Fish physiology—Hormonal sex control and its application to fish culture, Academic Press, New York, 223~303.
- Kagawa, H., G. Young and Y. Nagahama. 1983. Changes in plasma steroid hormone levels during gonadal maturation in goldfish, *Carassius auratus*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 49, 1783~1789.
- Ko, C.S., Y.J. Chang, H.K. Lim, J.H. Kim and K.C. Cho. 1998. Controlled reproductive cycle of rockfish (*Sebastes inermis*) by water temperature and photoperiod. J. Korean Fish. Soc., 31, 713~720 (in Korean).
- Kobayashi, M., K. Aida and I. Hanyu. 1987. Hormone changes during ovulation and effects of steroid hormones on plasma gonadotropin levels and ovulation in goldfish. Gen. Comp. Endocrinol., 67, 24~32.
- Kuo, C.H., C.E. Nash and Z.H. Shehadeh. 1974. The effects of temperature and photoperiod on ovarian development in captive grey mullet (*Mugil cephalus* L.). Aquaculture, 3, 25~43.
- Lee, T.Y. and S.Y. Kim. 1992. Reproduction and embryonic development within the maternal body of ovoviparous teleost, *Sebastes inermis*. J. Korean Fish. Soc., 25, 413~431 (in Korean).
- Nagahama, Y. 1987. Gonadotropin action on gametogenesis and steroidogenesis in teleost gonads. Zool. Sci., 4, 209~222.
- Nagahama, Y., A. Takemura, K. Takano, S. Adachi and M. Kusakari. 1991. Serum steroid hormone levels in relation to the reproductive cycle of *Sebastes taczanowskii* and *S. schlegelii*. Environmental Biology of Fishes, 30, 31~38.
- Razani, H. and I. Hanyu. 1986a. Annual reproductive cycle of 2~3 years old female goldfish and its artificial modification by manipulations of water temperature and photoperiod. Nippon Suisan Gakkaishi, 52, 965~969.
- Razani, H. and I. Hanyu. 1986b. Effects of continued short photoperiod at warm temperature and following changes of regimes on gonadal maturation of goldfish. Nippon Suisan Gakkaishi, 52, 2061~2068.
- Takashima, F. and Y. Yamada. 1984. Control of maturation in masu salmon by manipulation of photoperiod. Aquaculture, 43, 243~257.
- Yamazaki, F. 1965. Endocrinological studies on the reproduction of the female goldfish, *Carassius auratus* L., With special reference to the pituitary gland. Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 13, 1~64.
- 隆島史夫 · 羽生功. 1989. 水族繁殖學, 綠書房, 東京, 日本. 439 pp.
- 野村稔. 1962. ニジマスの人工採卵に關する基礎研究—III. 光周期の變化による採卵の早期化. 日水誌, 28, 1070~1076.
- 原田輝雄 · 熊井英水 · 水野兼入郎 · 中村元二 · 宮下盛 · 古谷秀樹. 1970. プリ、マガイ、イシダイ、イシガキダイからの加温による採卵. 日本水産學會秋季大會要旨集, 62~63.
- 板澤靖男 · 羽生功. 1991. 魚類生理學, 恒星社厚生閣, 東京, 日本. 621 pp.

2000년 2월 12일 접수

2001년 1월 5일 수리