碩士學位論文

쏠종개, *Plotosus lineatus* (Thunberg) 생식주기에 관한 연구



濟州大學校大學院

水産生物學科

許誠日

2002年 12月

쏠종개, *Plotosus lineatus* (Thunberg) 생식주기에 관한 연구

指導教授 盧 暹

許 誠 日

이 論文을 理學碩士 學位論文으로 提出함



許誠日의 理學 碩士學位 論文을 認准함

審査委	員長_	ୢୢୢୄ	경 돈	(인)
委	員	최고	광 식	(인)
委	員	노	섬	(인)

濟州大學校 大學院

2002年 12月

Studies on the Reproductive Cycle of the Striped-Eel Catfish, *Plotosus lineatus* (Thunberg)

Heo, Sung-Il (Supervised by professor Rho, Sum)



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

> DEPARTMENT OF MARINE BIOLOGY GRADUATE SCHOOL CHEJU NATIONAL UNIVERSITY

> > December 2002

Abstract	i
I.서 론	1
Ⅱ. 재료 및 방법	3
Ⅲ. 결 과	7
1. 어체와 생식소 외부형태	7
2. 쏠종개 성비	9
3. GSI 및 HSI 월변화	10
4. 생식세포 형성과정	10
5. 생식주기 ····································	
6. 월별 난모세포 구성의 월변화	17
7. 산란시기의 포란수	17
8. 군성숙도	17
9. 생식소자극호르몬 분비호르몬(GnRH) 동정	22
Ⅳ. 고 찰·······	27
V.요약	
Ⅵ. 참고 문헌	
감사의 글	

Abstract

Reproductive cycle of the striped-eel catfish, Plotosus lineatus was investigated in this study using histological method. Samples were collected monthly in the coastal area of Seongsan and Jocheon, on the northeast of Jeju Island from September 2001 to August 2002. The distribution of gonadotropin releasing hormone (GnRH) in Plotosus lineatus brain was also investigated using immuno-histochemical assay. Gonadsomatic index (GSI) of female indicated that they were sexually inactive until the end of February. Female GSI started to increase from March, coinciding with increase in daylight and water temperature, and reached the highest value in June (14.18±10.38). Male GSI assessed from October through March remained below 0.16. This value increased significantly in April (0.25 ± 0.01) and reached the highest value in July (0.36 ± 0.12) . Gonad development and GSI variations of female and male were not distinct relation to hepatosomatic index (HSI). Based on histological observation, reproductive cycle of *P. lineatus* could be grouped into the following successive stages; in female, growing (October to March), mature (March to June), spawning (June to July), degenerative and recovery (July to September) and in male, growing (August to December), mature (December to May), spent (May to July), degenerative and recovery (July to August). Oocyte development pattern was considered as group-synchronous oocyte development type. Fecundity of the fishes ranged from 525 to 1176. Female P. lineatus were sexually mature when they become total length over 15.5 cm. Salmon form of gonadotropin releasing hormone (sGnRH) was identified in brain of the striped-eel catfish using immunohistochemical methods. Cell bodies distributed in the pre-optic area (POA). sGnRH immunoreactive cell sizes

- i -

showed significant decrease in post-spawning individuals(P<0.05).



I.서 론

쏠종개에 관한 연구로는 미각과 관련한 안면신경엽의 해부학적 연구(Kiyohara et al., 1996)와 말초 미각 기관의 구조(Reutter, 1992), 후각 기관에 대한 형태 및 생리학 적 연구(Thisen et al., 1991), 무리를 이루는 습성에 있어 후각의 역할(Noriyuki, et al., 1994), 쏠종개과의 계통분류학적 연구(Oliveira et al., 2001)등이 있으며, 주로 후각 과 미각 기관에 대한 형태학적, 생리학적 그리고 생화학적 실험재료로서 연구되어 왔다. 국내에서는 담수에 분포하는 메기류의 성성숙에 관련하는 호르몬 작용(Lim et al., 1997)과 생식주기에 관한 보고(Lim and Han, 1997) 있으나, 해수에 분포하는 쏠종개 의 생식기구에 대한 연구는 찾아보기 힘들다.

어류는 년 주기적으로 변동하는 수온, 광주기 등의 외부 환경요인에 의존하여 번식 기를 맞이하는 주기성을 보이며, 이러한 과정들은 생식선의 기능을 지배하는 생식내 분비계 호르몬의 활성에 좌우되므로(Aida, 1991; Yoshikuni and Nagahama, 1991; Jalabert et al., 1991), 어류의 생식주기를 정확히 파악하는데 조직학적 방법과 더불어 생식 내분비학적인 연구와 함께 연구되고 있다. 어류의 생식내분비계 최상위 조절자 인 생식소자극호르몬 분비호르몬(Gonadotropin releasing hormone, GnRH)은 뇌-뇌하 수체-생식소 축의 주요한 신경내분비 조절자로서 뇌하수체의 생식소자극호르몬을 합 성, 분비하도록 자극하며, 생식소자극호르몬(Gonadotropin hormone, GTH)은 생식소 에서 스테로이드호르몬의 분비를 활성화시켜(King and Millar, 1992; Sherwood et al.,

- 1 -

1993) 생식소가 발달하게 된다. 10개의 아미노산으로 구성된 생식소자극호르몬 분비호 르몬은 포유류인 돼지의 뇌에서 처음으로 분리되어 현재까지 16종류가 알려져 있으며 (Dubois et al., 2001), 일반적으로 어류는 두 세가지 형태의 GnRH가 분포하고 있는 것으로 알려져 있다(Eline et al., 2001).

이처럼 어류의 뇌에 여러 형태의 GnRH가 존재한다는 것은 분포와 기능에 있어 서 로 다를 수 가 있음(Amano et al., 1997)을 의미하며 계획적인 종묘생산을 위해서는 생식소발달과 관련하여 생식내분비계를 이해하는데 1차적 조절자인 GnRH에 대한 탐 색은 중요하다고 볼 수 있다.

이 연구는 제주도 동북부 연안에 서식하는 쏠종개를 대상으로 어미 사육 및 종묘생 산에 관한 번식생물학적인 기초 자료를 탐색하기 위하여 조직학적 방법으로 생식소 발달과정 및 생식주기 등을 조사하였다. 또한 4종류의 GnRH 1차 항체를 이용한 면역 조직화학법으로 쏠종개 뇌에 분포하는 생식소 자극호르몬 분비호르몬세포를 동정하였 고, 내분비 조절자로서 어떤 형태의 GnRH가 관여하는지를 조사하였다.



Ⅱ. 재료 및 방법

1. 실험어

볼종개 생식주기 조사를 위해 2001년 9월부터 2002년 8월까지 제주도 성산포 육계 도 연안과 조천 포구에서 음력 보름을 기준으로 매월 1~2회 통발을 사용하여 채집하 였다(Fig. 1). 채집된 실험어는 실험실로 옮긴 후 전장은 0.1 cm, 체중은 0.1 g까지 측 정하였고, 어체를 해부하여 생식소와 간을 절취하여 0.01 g까지 측정하였다.

2. 생식세포의 조직학적 관찰

생식주기에 따른 생식소 성숙상태의 월별 변화를 조사하기 위해서 어체를 해부하여 얻어진 생식소와 간은 0.01 g까지 측정하여 생식소중량지수(gonadosomatic index: GSI)와 간중량지수(heapatosomatic index: HSI)를 (1), (2)의 식에 의해 계산하였다.

> $GSI = GW / BW \times 100 \cdot (1)$ HSI = HW / BW × 100 · · · · · · · · · (2)

측정된 생식소는 Bouin's solution에 24시간 고정 후, 수세하여 상법인 파라핀 절편 법에 의해 5~7 μm 두께로 조직절편을 제작하여 Hansen's haematoxylin과 0.5% eosin 비교 염색하여 조직표본을 만들고 현미경하에서 검경하였다.

3. 포란수 및 군성숙도

포란수는 2002년 3~6월 사이에 채집된 개체 중 성숙상태가 육안적으로 식별되는 재료의 난소만을 이용하였다. 군성숙도는 체장 1.0 cm 간격으로 계급을 나누어 개체 의 난소내에 난경이 1.5 mm 이상되고 난황을 축적한 성숙난을 기준으로 포란빈도가 50% 이상인 개체를 최소 크기로 정하였다.

- 3 -

4. 면역조직화학법을 이용한 생식소자극호르몬 분비호르몬 동정

1) 실험어

생식소 발달에 관여하는 1차적 조절자인 생식소자극호르몬 분비호르몬(GnRH)에 대 한 면역조직실험은 성숙시기인 2002년 5월과 산란 후 동년 7월에 조천 포구에서 채집 된 쏠종개 암컷개체를 이용하여 GnRH 동정 및 분포변화를 조사하였다.

2) 조직 준비

실험어인 쏠종개를 2-penoxylethanol 50 ppm으로 마취시킨 후 1회용 주사기를 사용하여 미정맥으로부터 혈액을 채취한 후 즉시 뇌를 적출하여 4% paraformaldehyde 용액에 24시간 동안 고정하였다. 고정된 뇌조직은 20% sucrose용액에 침적시킨 후 다시 조직을 액체질소로 중탕한 Isopentane에 넣어 급속동결 시킨 후 동결절편기(Leica, CM3050)를 이용하여 16 µm 두께로 연속절편을 만들어 젤라틴에 코팅된 유리슬라이드 에 올려 놓았다. 절편된 조직은 건조시켜 면역조직염색을 하기 전까지 -20℃에 보관 하였다.

3) 면역조직화학법

1차 항체인 sGnRH, cGnRHII, [Trp⁸]GnRH, mGnRH는 서남대학교 김정우교수로부 터 기증 받아 사용하였으며, 면역조직염색과정은 Fig. 2와 같다. 우선 조직절편은 0.1M Phosphate buffere saline pH 7.4(PBS)에 10분간 2회 세척한 후 내인성 peroxidase 활성을 억제하기 위해 위하여 0.5% periodic acid를 5분간 처리한 후 PBS 로 2회 세척하였고 비특이적 반응을 최소화하기 위하여 normal goat serum을 50분간 처리하고 난 뒤 PBS로 2회 세척하였다. 그 후 네가지 1차 GnRH 항체인 sGnRH, cGnRHII, [Trp⁸]GnRH, mGnRH (PBS에 1:1000비율로 희석)를 절편조직위에 처리하 여, 4℃를 유지하면서 습윤 상자에서 12시간 동안 반응 시켰다. 동일하게 세척하고 난 뒤 PBS에 1:200으로 희석한 2차 항체인 biotinylated goat anti-rabbit antisera

- 4 -

(Sigma Co.)를 실온에서 50분 동안 반응시킨 후 다시 PBS로 2회 10분간 세척하였다. 그 다음 avidin-biotin complex (ABC kit)로 1시간 반응시킨 후 조직을 PBS로 2회 세척하고 0.05% 3-3diaminobenzidine (Sigma Co.), 0.003% H₂O₂ PBS 완충액에 10분 간 반응시켜 GnRH 양성신경세포체와 신경섬유를 발색시키고, 탈수, 투명화를 거친 후 canada balsam으로 봉입하였다.

4) GnRH 면역반응세포 크기 측정

GnRH 면역염색 양성반응을 보인 세포는 무작위로 10개를 추출하여 접안마이크로 미터를 이용하여 (장경+단경)/2로 세포의 크기를 측정하였고, 반응세포의 크기에 대한 유의차는 t-test에 의해 검정하였다.



Fig. 1. Map showing sampling sites on the in northeast coast of Jeju Island.



Fig. 2. Procedure of immunohistochemistry for dectection of GnRH in brain tissues of the striped-eel catfish, *Plotosus lineatus*.

Ⅲ. 결 과

1. 어체와 생식소 외부형태

쏠종개의 외부형태는 몸은 가늘고 긴 형태이며, 체색은 흑갈색 바탕에 몸 측편에 폭이 좁은 2줄의 황색 세로띠가 있다. 입가에는 4쌍의 수염이 있으며 제 1등지느러미 와 가슴지느러미에는 1개의 가시가 있다. 제 2등지러미와 뒷지느러미는 꼬리지느러미 와 합쳐져 있는 형태를 갖는다(Fig. 3). 쏠종개는 외부형태적으로 암·수 구분이 어렵 지만 성숙시기에 암컷의 생식소는 매우 팽대되어 복부가 불러오는 정도의 차이로 암·수 구분이 가능하다.

쏠종개의 난소는 체강 등쪽의 척추골을 따라 좌우 한 쌍인 낭상형의 주머니 모양으 로 일부가 체벽에 밀착되어 있고, 등쪽 체강벽으로부터 난소 간막에 의해 체강내에 매달려 있으며 난소 뒤 끝에서 합쳐저서 짧은 수란관에 이어 진다. 정소는 한 쌍의 가느다란 사상의 가지에 좌우로 여러 쌍의 엽상체가 달려 있는 구조로 등쪽 체강을 따라 늘어져 있으며 정소후부에서 수정관이 생식공으로 연결되어 있다. 미성숙시 불 투명한 유백색을 띄며, 작고 등근 형태의 엽상체 구조는 성숙되면서 크기가 커지고 타원형으로 되며, 투명한 유백색으로 변한다. 난소도 유백색에서 성숙되면서 담홍색을 띠게된다(Fig. 4).



Fig. 3. External appearence of the striped-eel catfish, *P. lineatus*. Scale bar=1 cm.



Fig. 4. Ovary and testis of the striped-eel catfish, *P. lineatus*. A: Female, collected in June. Scale bar= 1 cm. B: Male, collected in June. Scale bar= 1 cm.

생식주기 조사기간 중 채집된 쏠종개 암·수의 월별성비와 체장, 체중분포는 Table 1과 같다. 총 349마리가 채집되었으며 이중 암컷은 212마리이며 수컷은 137마리로 x² 검정결과 채집된 암·수컷의 성비는 2:1을 보였다.

Month	Sex	No. fish	Total length (cm)	Body weight (g)	
			Mean±S.D.	Mean±S.D.	
2001. Sep.	F	26	10.0±2.9	9.1 ± 10.6	
	М	12	14.7±5.3	32.8±28.4	
Oct.	F	8	19.3±2.7	59.2±21.9	
	Μ	21	19.6 ± 1.7	57.1±18.6	
Nov.	F	10	14.8 ± 4.9	33.5±39.4	
	М 🌽		13.4±4.3	24.3±24.9	
Dec.	F	21	16.5±4.6	42.4±36.0	
	Μ	11	14.8±3.2	27.0 ± 18.4	
2002. Jan.	F	18	17.1±1.7	40.6±11.9	
	М	5	17.0±0.7	37.2± 5.3	
Feb.	F	13	17.2±1.0	36.6± 6.9	
	Μ	7	17.6±2.0	41.2±14.3	
Mar.	F	9	17.8±1.5	45.2±11.4	
	Μ	16	18.4±3.0	46.1±22.5	
Apr.	F	8	18.1 ± 2.1	40.4±11.3	
	Μ	12	17.4 ± 4.0	39.8±28.2	
May	F	4	20.9±3.9	58.3 ± 19.4	
	Μ	13	19.1 ± 1.5	50.5 ± 11.4	
June	F	46	12.2 ± 4.0	17.6 ± 15.5	
	Μ	21	14.0 ± 4.8	26.1±21.7	
July	F	16	21.7±3.0	59.0±21.6	
	Μ	4	19.9 ± 2.1	51.3±12.0	
Aug.	F	17	19.6 ± 2.2	53.6±21.2	
	Μ	3	18.6 ± 3.2	46.7±22.8	

Table 1. Total length and body weight of experimental fish used in this study

3. GSI 및 HSI 월변화

2001년 9월에서 2002년 8월까지의 수온과 일장의 변화는 Fig. 5-A에 나타내었다. 수온은 2월에 12.7℃로 연중 최저치를 보였으며, 8월에 24.9℃로 가장 높았다. 쏠종개 월별 암·수 GSI변화를 보면(Fig. 5), 암컷은 9월부터 12월까지 0.28±0.14에서 0.69± 0.44의 범위로 낮았다가 1월부터 서서히 증가하였고, 일장이 길어지고 수온이 상승하 기 시작하는 3월부터 급격히 증가하기 시작하여 6월에 14.18±10.38로 최대값을 보였 고, 7월에 1.67±1.76로 급격히 감소한 후 8월에도 낮은 값을 유지하였다. 수컷은 암컷 의 GSI변화와 유사한 경향으로, 4월에 0.24±0.09로 증가한 후 높은 값을 유지하며, 7 월에 0.35±1.76로 최대값을 보인 후 8월에 감소하였다.

HSI는 난소발달과 GSI변화에 따른 뚜렷한 경향이 없었다(Fig. 6). 암컷은 9월에 2.01 ±0.72로 최소값을 보인 후 서서히 증가하여 12월에 3.37±1.04로 최대값을 보였고, 수 컷은 7월에 1.67±0.27로 가장 낮았으며, 최대값은 3.34±1.05로 암컷과 동일한 시기인 12월이었다.

> 제주대학교 중앙도서괸 JEJU NATIONAL UNIVERSITY LIBRAR

4. 생식세포 형성과정

(1) 난형성과정

난소는 섬유성 결합조직에 의해 구분된 많은 난소 소낭으로 구성되어 있고, 이들 소낭 상피에서 난원세포들이 분열 증식하여 성장해 나갔다. 초기 난모세포의 난경은 40 μm전후로 핵이 세포질의 상당부분을 차지하며 핵막을 따라 분산 인이 배열되어 있 다. 성장하면서 haematoxylin에 짙게 염색되는 세포질은 차츰 염색성이 약해지고 난 경이 약 140 μm에 이르렀을 때 세포질에 난황핵이 출현하다가 난황포가 형성되기 전 에 소실되었다(Fig. 7-A).

난경이 340 µm에 이르렀을 때 세포질 주변부로 난황포가 형성되고 미세과립구조의 난황이 축적되기 시작하여 약한 호산성을 띄게 된다. eosin에 짙게 염색되는 방사대의 발달이 관찰되며, 과립층 또한 두꺼워지고, 과립층내에 haematoxylin에 짙게 염색되는 핵이 위치한다(Fig. 7-B). 난경이 650~770 µm에 이르면, 난모세포의 세포질내에

- 10 -



Fig. 5. Monthly changes in GSI of the striped-eel catfish during the course of study. Verticalbars represent standard deviation.



Fig. 6. Monthly changes in hepatosomatic index (HSI). Verticalbars represent standard deviation.

미세과립구조의 난황이 완전히 채워져 eosin에 짙게 염색된다(Fig. 7-C). 이 후 난황 축적형태는 과립상으로 세포질에 축적되었으며, 난경이 1.2 mm에 이르렀을 때 핵막 이 거치화 되면서 중앙에 위치하고 있던 핵이 동물극쪽으로 이동하며, 핵 이동은 난 경이 2.1 mm에 이르기까지 관찰되었다(Fig. 7-D). 최종 성숙된 난은 배란되어 난소내 에는 배란된 여포 조직으로 가득하며 소수의 주변인기 단계의 난모세포들이 존재한다 (Fig. 7-E). 일부 배란되지 않은 성숙한 난모세포는 퇴화ㆍ흡수가 일어나고 난소내에 남아있던 주변인기 단계 이하의 난모세포들은 재배치된다(Fig. 7-F).

2) 정자형성과정

정소의 내부구조는 수많은 정소소엽으로 구성되어 있으며(Fig. 8-A), 소엽상피로부 터 수많은 정원세포들이 분열증식하게 된다. 이들 정원세포들은 발달하여 정모세포로 되고 정소 소엽내에 집단적으로 cyst구조를 이루고 있다. 정소의 발달과 함께 각기 다 른 발달 단계의 생식세포군인 정모세포, 정세포, 정자로 성숙해 간다(Fig. 8-B). 성숙 시기에 이르면 정소소엽내에 대부분 정세포들과 성숙한 정자들이 무리를 이루어 존재 하고 있다(Fig. 8-C). 변태를 마친 정자들은 정소소엽내에 괴상을 이루며 방정시기가 되면 정소 기부의 수정관으로 모이게 된다(Fig. 8-D). 방정 후 정소와 소엽상피는 위 축되고(Fig. 8-E) 방정되지 못한 소수의 정자들이 소엽내강에 존재한 채 소엽상피로 부터 정원세포 분열이 일어나 짧은 휴지기를 맞이하게 된다(Fig. 8-F).



Fig. 7. Photomicrographs of developmental stages of the ovary.

A: Section of ealy growing stage; the ovaris were filled with oocytes in ealy and late perinucleolus stage. Scale bar= 200 µm B: Section of growing stage; note yolk vesicles in corticle cytoplasm of oocyte and developed follicle layer. Scale bar= 200 µm C: Section of early mature stage; note small yolk materials accumulated in cytoplasm. Scale bar= 300 µm D: Section of mature stage; note yolk granules accumulated in cytoplasm. Scale bar= 300 µm D: Section of mature stage; note yolk granules accumulated in cytoplasm. Scale bar= 1 mm E: Section of spawning stage; showing numerous residual follicles. Scale bar= 300 µm F: Section of degenerative and recovery stage. Scale bar= 400 µm Ao; atretic oocyte, EP; early perinucleolus oocyte, EYG; early yolk globule oocyte, FL; follicle layer, LP; late perinucleolus oocyte, POF; post-ovulatory follicle, YG; yolk globule, YN; yolk nucleus, YV; yolk vesicle oocyte, YV; yolk vesicle.



Fig 8. Photomicrographs of developmental stages of the testis. A: Section of the testis structure. Scale bar= 400 μm. B: Section of testis in the growing stage. Scale bar= 50 μm. C: Section of testis in the mature stage. Scale bar= 100 μm. D: Section of testis in the spent stage. Scale bar= 50 μm. E · F: Section of testis in the degenerative and recovery stage. Scale bar= 200 μm · 100 μm. G; gonad, SC; spermatocyte, SD; spermatid, SG; spermatogonia, SZ; spermatozoa, Vd; vas deferens.

5. 생식주기

쏠종개 암수 생식소중량지수(GSI)와 생식소의 조직학적 변화를 종합하여 관찰한 결과, 암컷과 수컷 모두 성장기(growing stage), 성숙기(mature stage). 산란기 및 방정 기(spawning and spent stage), 퇴화 및 회복기(degenerative and recovery stage)의 연속적인 발달단계로 구분할 수 있었다.

성장기(growing stage): 난소는 10월부터 생식소가 활성화되어, 난소내에는 주변인 기 단계의 난모세포들이 성장이 시작되고, 난황포 단계의 난모세포들이 출현하였다. 이들 성장기 개체들은 이듬해 3월까지 높게 나타나며, 일부 4월까지 출현하였다. 정소 는 8월부터 피질층 부위에서 정원세포들이 활발히 분열증식하고, 정소소엽내에 각기 다른 발달 단계의 생식세포군인 정모세포, 정세포 그리고 소수의 정자들이 무리를 이 루었다. 이러한 개체는 12월까지 높은 비율을 보였다.

성숙기(mature stage): GSI 값이 큰 폭으로 증가하는 3월부터 난소내에는 난모세포 의 세포질에 과립상으로 난황구가 축적되고, 핵 이동기단계의 난모세포들이 출현하기 시작하였으며 6월까지 높은 비율을 보였다. 수컷은 12월부터 이듬해 5월까지 정소소 엽내에는 대부분 정세포들과 성숙한 정자들이 무리를 이루어 존재하고 있다.

산란기(spawning stage) 및 방정기(spent stage): 6월부터 난소내에는 산란하여 배란된 여포조직으로 가득 한 개체가 출현한다. 이러한 개체는 7월까지 출현하였다. 수컷은 일부 4월부터 변태를 마친 완숙한 정자들이 정소소엽내에 괴상을 이루며 정소 기부의 수정관으로 모여 방정한 개체가 출현한다. 이러한 개체는 7월까지 높은 비율 을 보였다.

퇴화 및 회복기(degenerative and recovery stage): 7월에 접어들면서 미방출된 성 숙한 난모세포들이 퇴화·흡수가 일어나면서 생식소는 급격히 위축된다. 여포가 형성 된 성장난모세포들은 퇴화·흡수되고 여포가 형성되지 못한 어린 주변인기의 난모세 포들만이 생식상피의 재배치에 의해 재배열되어 짧은 기간의 회복기에 들어간다. 수

- 16 -

컷의 정소는 방정후 소엽상피는 위축되고, 방정되지 못한 소수의 정자들이 소엽내강 에 존재한 채 소엽상피로부터 정원세포 분열이 일어나 짧은 회복기를 맞이하게 된다. 이러한 개체는 6월부터 출현하여 8월까지 높은 비율을 보였다.

6. 월별 난모세포 구성의 월변화

난모세포의 발달단계는 각각 Table 2와 같다. 주변인기 이하의 난모세포는 난소내 에서 연중 관찰되었으며, 9월에는 100%에 가깝게 주변 인기 난모세포들이 존재하였 다. 난소내의 난모세포의 본격적인 활성은 10월에 접어들면서 세포질내에 난황포가 형성되었고, 이듬해 2월까지 주변인기 난모세포와 난황포기 난모세포만이 존재하였다. 3월이 되면서 세포질에는 과립상으로 난황구가 축적된다. 4월에는 난황포기 난모세포 비율이 5%로 낮아지고 난황구와 핵이동기 난모세포들이 각각 13.7% 와 37.9%로 증 가하며 6월까지 난소내에는 핵이동기 난모세포들이 30%이상을 유지하다가 7월에는 산란흔적을 나타내는 여포세포층과 퇴화하는 난모세포들이 존재하였다. 8월에는 소수 의 퇴화하는 난모세포들과 주변인기 단계의 난모세포들이 대부분을 차치하였다.

7. 산란시기의 포란수

성숙한 쏠종개 암컷 19개체를 표본으로 전장과 체중에 따른 총포란수를 조사한 결 과는 Table 3, 4와 같았다. 조사된 개체의 전장은 15.9~25.9 cm, 중량은 28.7~84.7 g 범위이며, 크기에 따라 최소 525개에서 최고 1,176개의 난을 포란하였고, 전장과 중량 이 증가할수록 절대포란수가 증가하였다.

8. 군성숙도

쏠종개 암컷 개체의 군성숙도를 조사하기 위해 2002년 5월부터 7월까지 암컷 73개 체를 조사한 결과는 Table 5와 같다. 전장 13~14 cm이하에서 1개체가 산란에 참여하 여 33% 군성숙도를 보였지만, 전 개체가 산란에 참여하여 100%의 군성숙도를 보이는 크기는 전장 15 cm이상이 되어야 하는 것으로 조사되었다.

- 17 -



Fig. 9. Frequency distribution of various reproductive stage in each samping period.

		Developmental stage of ovary										
Month	No. of	P	NS	Y	VS	Y	GS	Μ	NS	A	40	DD *
Month	oocytes	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	EF
Sep.	93	91	97.8	2	2.2							
	75	75	100									
	101	101	100									
(Mean)	269	267	(99.3)	2	(0.7)							
Jan.	76	48	63.2	28	36.8							
	52	37	71.2	15	28.8							
	54	32	59.3	22	40.7							
(Mean)	182	117	(64.3)	65	(35.7)				•			
Feb.	51	30	58.8	21	41.2							
	68	41	60.3	27	39.7							
	57	38	66.7	19	33.3							
(Mean)	176	109	(61.9)	67	(38.1)							
Mar.	62	34	54.8	8	12.9	20	32.3					
	69	63	91.3	3	4.3	3	4.3	3	4.3			
	86	62	72.1	16	18.6	8	9.3					
(Mean)	217	159	(73.3)	27	(12.4)	31	(14.3)	3	(1.4)			
Apr.	59	27	45.8	山大	1.7	3	0 5.1	28	47.5			
	55	18	32.7	3	5.5	ĽΡ	-1.8	33	60.0			
	47	25	53.2	4	8.5	18	38.3					
(Mean)	161	70	(43.5)	8	(5.0)	22	(13.7)	61	(37.9)			
May	49	13	26.5	2	4.1	3	6.1	31	63.3			
	82	37	45.1	7	8.5	7	8.5	31	37.8			+
	115	76	66.1	10	8.7	6	5.2	23	20.0			
(Mean)	246	126	(51.2)	19	(7.7)	16	(6.5)	85	(34.6)			
June	44	12	27.3	6	13.6			26	59.1			
	46	16	34.8	2	4.3			28	60.9	1	2.2	
	81	78	96.3	3	3.7							+++
(Mean)	171	106	(62.0)	11	(6.4)			54	(31.6)	1	(0.6)	
July	89	75	84.3	14	15.7							
	8	4	50.0							4	50.0	+++
	14	5	35.7							9	64.3	+++
(Mean)	111	84	(75.7)	14	(12.6)					13	(11.7)	
Aug.	49	45	91.8							4	8.2	+
	63	60	95.2							3	4.8	
	85	81	95.3							4	4.7	++
(Mean)	197	186	(94.4)							11	(5.6)	

Table 2. Monthly changes of total oocyte number and frequency of each oocyte stage in ovary of female *P. lineatus*

AO; atretic oocyte, EF; empty follicle, MNS; migratory nucleous stage, PNS; perinucleolus stage, YGS; yolk granule stage, YVS; yolk vesicle stage. *Relative amounts of empty follicles are indicated by marks, + to +++.

Total length	Number of	f eggs	Number of fish
(cm)	Range	Mean	examined
15.0-15.9	631	631	1
16.0-16.9	525 - 746	639	4
17.0-17.9	744 - 754	749	2
18.0-18.9	618 - 960	778	3
19.0-19.9	600 - 1,176	897	4
20.0-20.9	846 - 1,198	1,025	3
22.0-25.9	1,054 - 1,070	1,062	2

Table 3. Relationship between total length and fecundity for the striped-eel catfish, *P. lineatus*



Table 4. Relationship between body weight and fecundity for the striped-eel catfish, *P. lineatus*

Body weight	Number	of eggs	Number of fish	
(g)	Range	Mean	examined	
28.0-34.9	525 - 650	610	4	
35.0-41.9	618 - 756	724	5	
42.0-48.9	600 - 960	780	2	
49.0-55.9	822 - 990	906	2	
56.0-62.9	846 -1,198	1,033	4	
63.0-69.9	1,176	1,176	1	

Total length (cm)	Number of the examined indivividuals	Number of the Matured individuals	Maturity (%)
6.1- 7.0	1	_	0
7.1- 8.0	4	-	0
8.1- 9.0	3	_	0
9.1-10.0	12	_	0
10.1-11.0	4	_	0
11.1-12.0	5	_	0
12.1-13.0	4	_	0
13.1-14.0	🛴 🛛 제중대학교 중	앙도서관	33
14.1-15.0	JEJU NATIONAL UNIVE	RSITY LIBRARY	0
15.1-16.0	3	3	100
16.1-17.0	10	10	100
17.1-18.0	3	3	100
18.1-19.0	7	7	100
19.1-20.0	5	5	100
20.1-21.0	4	4	100
21.1-22.0	3	3	100
22.1-23.0	1	1	100
Total	73		

Table 5. Biological minimum size of the striped-eel catfish, P. lineatus

9. 생식소자극호르몬 분비호르몬(GnRH) 동정

1) 뇌 구조

쏠종개는 후엽 및 소뇌(cerebellum) 그리고 연수(medulla oblongata)인 안면신경엽 (facial lobe)과 미주신경엽(vagal lobe)이 발달되어 있고, 후각망울(olfatory bulb)과 단 뇌(telecephalon) 사이의 후각로(olfactory tract)는 길며, 미각을 담당하는 연수의 안면 신경엽으로부터 4쌍의 촉수 신경분지(rami)들이 연결되어 있다(Fig. 10).

2) 뇌내 GnRH의 분포

네 종류의 항체를 쏠종개 뇌조직에 면역염색한 결과, sGnRH, cGnRHII, 그리고 [Trp⁸]GnRH인 3종류에 대하여 양성반응을 보였다. 이들 중 신경세포체는 sGnRH에서 만 보였으며 시색전야에 집중적으로 분포하였으며(Fig. 11), 성숙시기인 5월과 산란종 료시기인 7월에 있어서도 sGnRH의 면역반응세포의 분포와 크기도 차이를 보였다 (Fig. 12).

3) GnRH 면역반응세포의 크기

난황이 축적되어 성숙기에 이르는 개체와 산란 후 시기에 있어서 sGnRH에 발현된 세포체의 크기는 성숙기에 6.25±0.68 µm였고 산란후에는 4.93±0.62 µm로 작아졌다 (Tab. 6).







Fig. 10. Brain of the striped-eel catfish, *P. lineatus.* A: Dosal view. B: Late ral view. C: Ventral view. Cb; cerebellum, Fb; forebrain, FL; facial lobe, Pit; pituitary, S; spinal cord, To; optic tectum, VL; vagal lobe. Scale bar= 3 mm.



Fig. 11. Schematic drawing of the distribution of sGnRH immuno reactive cell bodies (closed circles) in a sagittal section.
C; cerebellum, FL; facial lobe, MT; midbrain tegmentum, Olf N; olfactory nerve, Op N; optic nerve, Pit; pituitary, PoA; preoptic area, Tel; telencephalon, VL; vagal lobe.



Fig. 12. Distribution of sGnRH-immunoreactive cell bodies (arrows) and fibers in the preoptic area. A-D, collected in May. E-F, collected in July. Scale bar= 100 μ m.

Table. 6. Size of Pre-optic sGnRH immunoreactive cell body and GSI (gonadosomatic index) of the fishes collected during pre and post-spawning period (mean±S.D)

Month	GSΙ	Cell size (µm)
May (n=3)	11.87 ± 6.85	6.25 ± 0.68
July (n=4)	$0.91 ~\pm~ 0.23$	$4.93 \pm 0.62^{*}$

* indicate significant differance (P $\langle 0.05).$



Fig. 13. The Ovaries. A: Mature stage, collected in May. B: Post spawning stage, collected in July. Scale bar= 1 mm.

Ⅳ. 고 찰

경골어류의 난소는 생식수란관의 구조와 연관하여 일반적으로 나상형(gymnoovarian condition)과 낭상형(cystovarian condition)으로 나누며(Hoar, 1957), 낭상형은 난소의 조직학적 특징에 따라 다시 낭상형Ⅰ과 Ⅱ의 두가지 형으로 구분하고 있다(Takano, 1964, 1989). 쏠종개의 난소형태는 난소 실질부 등쪽의 좌우쪽에 밀착되어 길게 체축 을 따라 커지며 난소후측 끝 부분에서 합쳐져서 짧은 수란관으로 연결되어 있는 낭상 형 Ⅰ에 속한다.

정소는 한 쌍의 가느다란 사상의 가지에 좌우로 여러 쌍의 엽상체가 달려 있는 구조를 이루고, 소엽형의 내부구조로 담수에 분포하는 메기류인 동자개, *Pseudobagrus fulvidraco* (Lim and Han, 1997)와 유사한 형태를 하고 있다.

어류의 생식주기 현상은 환경요인의 주기적 변화에 의해 지배되며, 특히 광주기와 수온이 성중추 활동을 강하게 제어하고 있음이 많은 경골어류에서 보고되고 있다(De vlaming, 1975; Nishi and Takano, 1979; Asahina and Hanyu, 1983; Aida, 1991). 또 한 이들 성중추 활동을 조절하는 환경인자로 밝혀진 빛과 수온의 작용 양식에 따라 어류의 번식 계절이 춘계산란형, 춘·하계산란형, 하계산란형, 추계산란형, 동계산란형, 춘·추계산란형으로 구분하고 있다(Aida, 1991).

이 연구에서 쏠종개는 저수온기를 지나 수온이 상승하고 일장이 길어지는 3월부터 GSI값이 큰 폭으로 상승하였고, 난모세포의 세포질에도 과립상의 난황축적을 시작하 여 수온이 높고 일장이 가장 긴 시기인 6~7월에 산란하였다. 이러한 결과는 일반적 으로 생식소 성숙의 시작과 산란기의 시작이 수온의 상승에 유도되어지며, 산란기의 종료는 일장의 단일화에 유도된다는(Asahina and Hanyu, 1983; Awaji and Hanyu, 1988; Shimizu and Hanyu, 1982) 춘하계 산란형 어류와 유사하였다.

춘하계 산란형에 속하는 어류로는 검정망둑, *Tridentiger obscurus* (Kaneko and Hanyu, 1985), 송사리, *Orizias latipes* (Awaji and Hanyu, 1987, 1988), 돌돔, *Oplegnathus fasciatus* (Jeong et al., 1998), 말쥐치, *Thamnaconus modestus* (Lee et al., 2000)등이 보고 되고 있다.

광주기나 수온과 같은 환경지배 요인들이 춘하계산란형 어류의 생식활동과 성성숙 에 어떻게 관여하는지는 일부 해산어류와 담수산 어류에서 보고되고 있다. 해산어류 의 경우 그물코 쥐치, *Rudarius ercodes* 에서는 생식소의 성숙은 장일주기에 의해 개 시되고 여기에 수온이 보상적 역할을 하여 산란에 이른다고 보고하였고(Lee et al., 1984), 점망둑, *Chamichthys dolichognathus* 은 상승하는 수온만이 광주기와는 관계없이 생식소 활성화를 유도하는 요인이라고 보고하고 있다(Baek et al., 1985). 그리고 담수 산 어류에서는 대부분 춘계에 수온이 상승함으로서 생식소 활성과 성숙을 유도하고 여기에 장일주기가 보상 촉진 작용을 하나(Asahina and Hanyu, 1983), 파랑볼우럭, *Lepomis macrochirus* 은 고수온과 장일주기의 복합적 작용이 성숙 및 산란에 필요하 다고 보고하고 있다(Lee and Kim, 1987).

쏠종개의 GSI 변화 및 생식소 발달을 년중 수온과 일장변화와 결부시켜 비교해보 면 GSI는 일장의 월변화와 매우 유사한 경향을 나타냈다(Fig. 5). 저수온기 기간동안 일장의 증가시기를 전후하여 생식소 활성화를 보였고(Fig. 5, Table 2), 일장이 지속적 인 증가와 수온이 상승하는 3월에 이르러 GSI도 급격하게 증가하는 것으로 보아 그 물코 쥐치에서와 같이 성성숙에 작용하는 요인으로는 일장의 영향이 매우 크며 수온 은 보상적 역할을 하는 것으로 사료된다. 쏠종개 생식기구에 대한 환경요인의 작용에 관한 정확한 구명은 앞으로 수온과 광주기 조절을 통한 세부적인 실험을 하여야 할 것으로 사료된다.

어류에서 난황단백질은 estrogen에 의해 간에서 합성되어(Aida et al., 1973) 혈액 을 통해 난모세포에 축적되기 때문에 암컷의 HSI 변화는 생식주기와 밀접한 관계를 보일 수 있다(Lim and Han, 1997). HSI 변화는 간에서 합성된 난황물질의 난 내 이 동과 축적 시기, 체내 영양축적과 소비, 섭이할 수 있는 시기와 먹이 종류 등에 따라 차이를 보인다(Mommsen and Walsh, 1988; Smith et al., 1990; Yang et al., 1994).

쏠종개 HSI의 월 변화는 암수 모두 12월에 가장 높았고, 난소발달과 GSI변화에 따른 뚜렷한 경향은 없었다. 그리고 산란 이후에도 HSI 값이 비교적 높은 수준을 보 이는 것은 생식소 발달에 필요한 영양이 간으로부터 공급되는 것으로 사료된다.

- 28 -

agrammus (Chung and Lee, 1985), 자리돔, Chromis notatus (Lee and Lee 1987), 망 상어, Ditrema temmincki (Lee et al., 1995), 날개망둑, Favonigobius gymnauchen (Lee et al., 2000) 등이 있으며, Guraya(1979)는 난황핵이 세포소기관 및 지방체의 형 성과 증가 그리고 축적의 장소로서 난모세포의 대사과정에서 중요한 역할을 한다고 추정하였고, Yamamoto(1956)는 난황핵이 표층포의 전구물질이라고 보고하였다. 쏠종 개에 있어서도 난황핵의 소실 시점은 난황포가 형성되고 여포층이 발달하는 시기로 보아 난세포질에 난황형성과 관계가 있은 것으로 보여진다.

어류의 생식시기에 있어 난소 내 난모세포 발달 양식에는 모든 난모세포들이 동시 에 발달하는 동시발달형(synchronous), 난모세포들이 무리를 이루어 발달하는 난군 동시발달형(group-synchronous), 생식소내에 모든 발달단계의 난모세포를 갖는 비동 시발달형(asynchronous)으로 구분되고 있다(Wallace and Selmen, 1981; de Vlaming, 1983).

쏠종개의 난모세포 발달 양식은 성숙 난소내에서 크게 초기 난모세포군과 성숙 난 모세포군 두 무리로 나눌 수 있었다. 그리고 성숙기 및 산란기 난소조직상과 월별 난 모세포 구성의 변화로 볼 때 산란기 동안 1회 산란하는 난군 동시 발달형에 속하는 것으로 판단된다.

한 산란기 동안 1회 산란하는 어종으로는 문치가자미, *Limanda yokohamae* (Lee et al., 1985)와 점망둑, *C. dolichognathus* (Baek et al., 1985), 날개망둑, *F. gymnauchen* (Lee et al., 2000) 그리고 담수어인 파랑볼우럭, *L. macrochirus* (Lee and Kim., 1987) 등이 있다.

방란된 난소에서 일부 성숙난들과 성장중인 난들은 퇴화 흡수되고 있는데, Hayashi(1972)에 의하면 난소내 여포세포는 난내 영양공급은 물론 퇴화 난모세포의 식작용에도 관여한다고 보고하고 있다. 쏠종개의 난소내에서도 난모세포 주위에 여포 가 형성된 난들은 퇴화기에 전부 세포질이 붕괴를 일으켜 퇴화 흡수되어 가나, 아직 여포를 형성하지 못한 초기 주변인기 난모세포들은 퇴화되지 않고 위축된 난소 소낭 상피위에 배열 된 채 퇴화 및 회복기를 지나고 있어 이들은 성장기에 그대로 참여하 며 조기 성숙되는 것으로 보여진다. 초기 성장기 난모세포인 주변인기 세포들로서 휴 지기를 지내는 어종은 해산 청어류, *Chanos Chanos* (Kuo and Nash, 1979), 그물코쥐 치, *R. ercodes* (Lee et al., 1984), 노래미, *A. agrammus* (Chung and Lee, 1985), 파

- 29 -

랑볼 우럭, *L. macrochirus* (Lee and Kim, 1987), 각시붕어, *Rhodeus uyekii* (An, 1995), 동자개, *P. fulvidraco* (Lim and Han, 1997), 날개망둑, *F. gymnauchen* (Lee et al., 2000)등이 보고되고 있다.

포란수 조사에서 개체별 포란수는 최소 525에서 최대 1,176개 조사되었고 전장, 체 중에 대한 절대 포란수는 전장과 체중이 증가할수록 모두 증가하는 것으로 조사되었 다. 쏠종개는 다른 어종에 비해 적은 포란수를 가지지만, 산란시기인 6월에 3.438 mm 크기에 이르는 대형의 난을 포란하였다. 쏠종개 암컷개체에 대한 군성숙도 조사에서 는 전장 15.5 cm로 나타났다.

생식소 자극호르몬 분비호르몬(GnRH)은 1971년에 뇌하수체의 황체형성호르몬의 분비를 촉진시키는 물질로서 돼지에서 분리되어, 황체형성호르몬 분비호르몬(LHRH) 으로 명명되었다(Matsuo et al., 1971). 포유류에서는 일반적으로 LHRH라 불린다. GnRH는 아미노산 10개의 잔기로 된 펩티드호르몬으로, 현재까지 16종류가 알려져 있 고(Dubois, 2001), 분자명에는 처음으로 얻어진 동물명이 붙어졌다. 이 실험에 사용된 네가지 1차 항체는 각각 포유류(mGnRH), 연어(sGnRH), 닭(cGnRH-II), 개구리 [Trp⁸]GnRH(Yoo et al., 2000)에서 얻어진 것들어다.

현재까지 밝혀진 16가지의 생식소자극호르몬 분비호르몬(GnRH)은 대부분의 경골 어류에서 2~3가지 형태가 분포하며(Amano et al., 1997; Parher et al., 1998; Fernald and White, 1999), 일부 농어목 어류에서는 4가지 형태가 존재함을 보고하고 있다 (Leandro et al., 1999).

일반적으로 경골어류 뇌에서는 cGnRH-II가 가장 많이 분포하는 형태이고(Powell et al., 1986; Yu et al., 1988; Sherwood et al., 1989), 이 외에 sGnRH, mGnRH, catfishGnRH, seabreamGnRH, 그리고 아직 구조가 알려지지 않은 다른 형태의 GnRH 가 있다는 가능성을 보고하였다(Sherwood et al., 1983, 1989; Amano et al., 1992; King and Miller, 1992, 1994;).

쏠종개의 뇌조직에서도 cGnRH-II뿐만 아니라, sGnRH, 그리고 [Trp⁸]GnRH항체 에 대하여 양성반응을 보였다. 반응한 세 종류 생식소자극호르몬 분비호르몬의 면역 반응양성신경섬유는 단뇌, 시상하부 및 뇌하수체 그리고 소뇌와 연수에 이르기까지 뇌 전체에 넓게 퍼져 분포하였다. 이러한 결과는 쏠종개의 뇌에서도 여러 종류의 GnRH가 존재함을 보여주었고, mGnRH은 존재하지 않는 것으로 사료된다.

- 30 -

정골어류의 생식소 발달는 뇌의 GnRH 함량과 밀접한 관계가 있으며(Gentile et al., 1986; Amano et al., 1992), 전뇌의 시색전야(pre-optic area)는 경골어류를 포함한 많은 척추동물에서 성 성숙조절과 관계한다(Basant et al., 2002). 시색전야에서 발현 되는 GnRH 면역반응 신경들은 뇌하수체를 직접적으로 자극하고(Yamamoto et al., 1998), 성 성숙과 관계되는 호르몬을 활성화한다(Demski, 1984; Kah, 1986; Oka and Ichikawa, 1990). 따라서 시색전야에 보여지는 GnRH 면역반응 신경들은 어류의 생 식소 발달과 관계되어 정성적이고 정량적인 변화들을 보인다(Basant et al., 2002). 이 와 관련하여 시색전야에 분포하는 GnRH면역반응신경의 크기변화와 성성숙과의 관계 에 대해 여러 어종에서 연구되왔다. 예를 들면, plainfin midshipman, *Porichthys notatus*에서는 치어에서부터 성숙한 성어개체에 이르기까지 크기변화와 수를 조사한 바 50~100%로 증가하였고(Grober et al., 1994), 흰동가리류인 *Amphiprion melanopus* 와 ballan wrasse, *Labrus berggylta*에서는 GnRH면역반응세포수는 생식소의 크기와 밀접한 관계를 보여주었다(Elofsson et al., 1997, 1999).

쏠종개에 반응한 세 종류의 GnRH중 세포체형태로 면역반응을 보인것은 sGnRH로 시색전야에 집중적으로 분포하였다. 성숙시기인 5월과 산란후 7월에 보여진 세포체의 크기도 6.25±0.68 μm에서 4.93±0.62 μm로 크기가 감소하였고, 반응분포의 면적에서도 차이를 보였다. 이러한 결과들을 종합하여 보면 쏠종개의 생식소 발달과 관련하는 생 식 내분비계의 1차적 조절자로서 sGnRH가 관여하는 것으로 사료된다.

V. 요 약

이 연구는 2001년 9월부터 2002년 8월까지 제주도 동북부 성산포 육계도 연안 과 조 천포구에서 매월 채집한 쏠종개(*Plotosus lineatus*)의 생식년주기와 생식주기에 따른 번식생물학적 특성을 조직학적방법으로 조사하였고, 쏠종개 뇌에 분포하는 GnRH의 소재를 면역조직화학법에 의해 동정하였다.

 쏠종개 암컷개체의 GSI는 일장이 길어지고 수온이 상승하기 시작하는 3월부터 급 격히 증가하기 시작하여 6월에 최대값(14.18±10.38)을 보였고 수컷은 암컷의 GSI 변화와 유사한 경향으로 4월에 0.24±0.09로 증가한 후 높은 값을 유지하며, 7월에 최대값(0.35±1.76)을 보인 후 8월에 감소하였다. HSI는 난소발달과 GSI변화에 따 른 뚜렷한 경향이 없었다.

■ 제주대학교 중앙도서관

- 2. 쏠종개 암수 생식소의 월별 변화를 조직학적 관찰을 통해 종합하여 볼 때 성장기, 성숙기. 산란기 및 방정기, 퇴화 및 회복기의 4단계로 구분할 수 있었다. 암컷은 성 장기(10~3월), 성숙기(3~6월), 산란기(6~7월), 퇴화 및 회복기(7~9월)이었으며 수 컷은 성장기(8~12월), 성숙기(12~5월), 방정기(5~7월), 퇴화 및 회복기(7~8월)로 조사되었다.
- 쏠종개의 난모세포 발달 양식은 난군 동기발달형(group-synchronous)으로 한 산 란기 동안에 1회 산란하는 어종으로 조사되었다.
- 4. 산란시기의 포란수는 최소 525개에서 최고 1176개였으며, 전장과 중량이 증가할수 록 절대포란수가 증가하였으며, 생식에 참여할 수 있는 암컷 개체의 크기는 전장 15.5 cm로 조사되었다.
- 5. 쏠종개 뇌에는 sGnRH에서만 신경세포체로서 면역반응을 보였으며 시색전야에 집

중적으로 분포하였다. 산란 전·후 시기에 시색전야에 발현된 sGnRH 면역반응세 포의 크기는 산란시기에 6.25±0.68 µm에서 산란후에 4.93±0.62 µm로 작아졌다. 발 현분포와 면역반응세포의 크기변화로 보아 쏠종개에 있어서 1차적 분비조절자로서 sGnRH가 관여하는 것으로 사료된다.



Ⅵ. 참고 문헌

- Aida, K. 1991. Environmental regulation of reproductive rhythms in teleostei. Bull. Inst. Zool., Academia Sinsca, Monograph., 16: 173-187.
- Aida, K.P., V. Nagama and T. Hibiya. 1973. Physiological studies on the gonadal maturation of fish. I. sexual difference in composition of plasm protein of ayu in relation to gonadal maturation. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 39: 1091–1106.
- Amano M., K. Aida, N. Okumoto and Y. Hasegawa. 1992. Changes in salmon GnRH and chiken GnRH-II contents in the brain and pituitary, and GTH contents in the pituitary in female masu salmon, *Oncorhynchus masou*, from hatching through ovulation. Zool. Sci., 9: 375–386.
- Amano, M., A. Urano and K. Aida. 1997. Distribution and function of gonadotropin releasing hormone(GnRH) in the teleost brain. Zool. Sci., 14: 1-11.
- An, C.M. 1995. Reproductive cycle of spring-spawning bitterling, *Rhodeus uyekii* (pisces: cyprinidae). Korean J. Ichthyol., 7: 33–42.
- Asahina, K. and I. Hanyu. 1983. Role of temperature and photoperiod in annual reproductive cycle of the rose bitterling *Rhodeus ocellatus ocellatus*. Bull. Jap. Soc. Sci. Fish., 52: 965–969.
- Awaji, M. and I. Hanyu. 1987. Annual reproductive cycle of wild type of medaka. Nippon Suisan Gakkaishi, 53: 959–965.
- Awaji, M. and I. Hanyu. 1988. Effect of water temperature and photoperiod on the beginning of spawning season in the orange-red type medaka. Zool. Sci., 5: 1059-1064.
- Baek, H.J., H.B. Kim, T.Y. Lee and B.D. Lee. 1985. On the maturity and spawning of the longchin goby, *Chasmichthys dolichognatus*. Bull. Korean Fish. Soc., 18: 477–483.

Basant, K.T., R. Kirubagaran and K.R. Arun. 2002. Testosterone triggers the brain

-pituitary-gonad axis of juvenile female catfish (*Heteropneustes fossilis* Bloch) for precocious ovarian maturation. Gen. Comp. Endocrinol., 126: 23–29.

- Chung, E.Y. and T.Y. Lee. 1985. Studies on the reproductive cycle of greenling, *Agrammus agrammus*. Bull. Nat'l Fish. Univ. Pusan, 25: 26-42.
- Demski, L.S. 1984. The evolution of neuroanatomical substrates of reproductive behavior: sex steroid and LH-RH specific pathways including the terminal nerve. Am. Zool., 24: 809–830.
- De Vlaming, V.L. 1975. Effects of photoperiod and temperature on gonadal activity in the cyprinid teleost, *Notemigonus crysoleucas*. Biol. Bull., 148: 402–415.
- De Vlaming, V.L. 1983. Oocyte development pattern and hormonal involvement among teleosts "Control Processes in Fish Physiology" (eds. J. C. Rankin, T. J. Pitcher and R. Duggan), Croom Helm, London, pp. 176–199.
- Dubios, E.A., S. Slob, M.A. Zandgergen, J. Peute and H.J.Th. Goos. 2001. Gonadol steroids and maturation of the species-specific gonadotropic-releasing hormone system in brain and pituitary of the male African catfish (*Clarias gariepinus*). Comp. Bio. Physiol., Part B 129: 381–387.
- Eline, A.D., A. Z. Matthijs, J. Peute, J. Bogerd and H.J.Th. Goos. 2001. Development of three distinct GnRH neuron populations expressing two different GnRH forms in the brain of the African catfish (*Clarias gariepinus*). J. Comp. Neurol., 437: 308–320.
- Elofsson, U., S. Winberg and R.C. Francis. 1997. Number of preoptic GnRH immuno reactive cells correlates the sexual phase in a protandrously hermaphroditic fish, the dusky anemonefish (*Amphiprion melanopus*). J. Comp. Physiol., 181: 484–492.
- Elofsson, U., S. Winberg and G.E. Nilsson. 1999. Relationships between sex and the size and number of forebrain gonadotropin-releasing hormone immuno reactive neurones in the ballan wrasse (*Labrus berggylta*), a protogynous hermaphrodite. Comp. Neurol., 410: 158–170.

Fernald, R.D and R.B. White. 1999. Gonadotropin-releasing hormone genes: phylo-

geny, structure, and functions. Front. Neuroendocrin., 20: 224-240.

- Gentile, F., O. Lira and D. Marcanode cotte. 1986. Relationship between brain gonado tropin-releasing hormone (GnRH) and seasonal reproductive cycle of the caribe Colorado *Pygocentrus notatus*. Gen. Comp. Endocrinol., 64: 239–245.
- Grober, M.S., S.H. Fox, C. Laughlin and A.H. Bass. 1994. GnRH cell size and number in a teleost fish with two male reproductive morphs: sexual status and body size allometry. Brain Behav. Evol., 43: 61–78.
- Guraya, S.S. 1979. Recent advances in the morphology, cytochemistry and function of Ballbiani's vitellogenin body in animal oocytes. Int. Rev. Cytol., 59: 249–321.
- Hayashi, I. 1972. On the ovarian maturation of the Japanese sea bass, *Lateolabrax japonicus*. Jap. J. Ichtyol., 19: 243–254.
- Hoar, W.S. 1957. The gonad and reproduction "The physiology of fishes" (M. E. Brown ed.). Vd. 1. Academic press. New York, pp. 287–321.
- Jalabert, B., A. Fostier, B. Breton and C. Weil. 1991. Oocyte maturation in vertebrates. In "Vertebrate Endocrinology", Fundamentals and Biomedical Implications. P. K. T. Pang and M. P. Schreibman, eds., Academic Press, New York, pp. 21–90.
- Jeong, K.S., S.M. Kim, I.C. Bang, S.Y. Kim and W.K. Lee. 1998. Induced spawning of striped knife-jaw, *Oplegnathus fasciatus* by manipulating water temperature and photoperiod. J. Aquacult., 11: 141–149.
- Kaneko, T. and I. Hanyu. 1985. Annual reproductive cycle of the chichibu goby *Tridentiger obscurus*. Bull. Japan Soc. Sci Fish., 51: 1645–1650.
- Kah, O. 1986. Central regulation of reproduction in teleosts. Fish Physiol. Biochem.,2: 25–34.
- Kim, H.B. and T.Y. Lee. 1984. Reproductive biology of shad, *konosirus punctatus*. Bull. Korean Fish. Soc., 17: 206–218.
- King, J.A and R.P. Millar. 1992. Evolution of gonadotropin-releasing hormones. Trends Endocrinol Metab., 3: 339–346.
- King, J.A and R.P. Millar. 1994. Evolutionary aspects of gonadotropin-releasing

hormone and its receptor. Cellular and Molecular Neurobiology, 15: 5-23.

- Kiyohara, S., J. Kitoh., A. Shito and S. Yamashita. 1996. Anatomical studies of the medullary facial lobe in the sea catfish, *Plotosus lineatus*. Fisheries Science, 62: 511–519.
- Kuo, C.M. and C.E. Nash. 1979. Annual reproductive cycle of milkfish, *Chanos chanos* Forskal, in hawaiian waters. Aquaculture, 16: 247–251.
- Leandro A.M., D.M. Alejandro, M.A. Montaner, M.A. Jorge and M.S. Gustavo. 1999. Characterization of brain gonadotropin-releasing hormone (GnRH) molecular variants in barin extracts from different perciform fishes from Antarctic waters. Polar Biol., 21: 122–127.
- Lee, J.S., J.W. Kim, J.C. Kang., Y.K. Shin and P. Chin. 2000. Reproductive cycle and gonadal development of the naked-headed goby, *Favonigobius gymnauchen* (Teleostei : Gobiidae). J. Korean Fish. Soc., 33: 219–224.
- Lee, J.S., C.M. An and P. Chin. 1995. Sexual maturation of viviparous teleost surfperch, *Ditrema temmincki*. Korean J. Ichthyol., 7: 150–159.
- Lee, S.J., Y.B. Go, Y.D. Lee, J.H. Jung and C.H. Han. 2000. Annual reproductive cycle of the file fish, *Thamnconus modestus*, of the southern coast of Jeju island. Korean J. Ichthyol., 12: 71–84.
- Lee, T.Y. and I.S. Kim. 1987. Experimental studies on the mechanism of reproductive cycle in the bluegill, *Lepomis macrochirus*. Bull. Kor. Fish. Soc., 20: 489–500.
- Lee, T.Y., Y.J. Kang and B.D. Lee. 1985. Reproduction and population dynamics of marbled sole *Limanda yokohamae*. Bull. korean Fish. Soc., 18: 253–261.
- Lee, T.Y., I. Hanyu and K. Furukawa. 1984. Effects of photoperiod and temperature on the gonadal activity in small filefish *Rudarius ercodes*. Bull. Korean. Fsih. Soc., 17: 523–528.
- Lee, Y.D. and T.Y. Lee. 1987. Studies on the reproductive cycle of damselfish, *Chromis notatus*. Bull. Korean Fish. Soc., 20: 506–519.
- Lim, S.K. and C.H. Han. 1997. Annual reproductive cycle of the banded catfish, *Pseudobagrus fulvidraco* (Richardson). J. Korean Fish. Soc., 30: 823–833.

- Lim, S.K., H.J. Baek and C.H. Han. 1997. Effect of studies and HCG on the in vitro maturation and ovulation of oocyte in banded catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. J. Korean Fish. Soc., 30: 203–210.
- Matsuo, H., Y. Baba, R. Nair. A. Arimura and A.V. Schally. 1971. Classic pages in obstetrics and gynecology. Structure of the porcine LH-and FSH releasing hormone. I. The proposed amino acid sequence. Biochemical and Biophysical Research Communications, 43, pp. 1334–1339.
- Mommsen, T.P. and P.J. Walsh. 1988. Vitellogenesis and oocyte assemble. In Fish Physiology, 11A, W.S. Hoar and D.J. Randall, ed. Academic Press, New yolk, pp. 347–406.
- Nishi, K. and K. Takano. 1979. Effects of photoperiod and temperature on the ovary of the bittering, *Rhodeus ccellatus ccellatus*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido univ., 30: 63–73.
- Noriyuki, H., S. Nakamura, H. Yoshikawa, T. Abe and H. Kobayashi. 1994. A role of olfaction in schooling of Japanese sea catfish, *Plotosus lineatus*. Japan. J. Ichthyol., 41: 7–13.
- Oka, Y and M. Ichikawa. 1990. Gonadotropin-releasing hormone(GnRH) immuno reactive system in the brain of the dwarf gourami (*Colisa lalia*) as revealed by light microscopic immunocytochemistry using a monoclonal antibody to common amino acid sequene of GnRH. J. Comp. Neurol., 300 : 511-522.
- Oliveira, C., R. Diogo, P. Vandewalle. and M. Chardon. 2001. Osteology and myology of the cephalic region and pectoral girdle of *Plotosus lineatus*, with comments of Plotosidae (Teleostei: Siluriformes) autapomorphies. J. Fish. Bio., 59: 243–266.
- Parhar, I.S., T. Soga, Y. Ishikawa, Y. Nagahama. and Y. Sakuma. 1998. Neurons synthesizing gonadotropin-releasing hormone mRNA subtypes have multiple developmental origins in medaka. J. Comp. Neurol., 401: 217–226.
- Powell, R.C., R.P. Millar and J.A. King. 1986. Divers molecular forms of gonado tropin releasing hormone in an elasmobranch and a teleost fish. Gen. Comp.

Endocrinol., 63: 77-85.

- Reutter, K. 1992. Structure of the peripheral gustatory organ, represented by the siluroid fish *Plotosus lineatus* (Thunberg). Fish Chemoreception, 60~78.
- Sherwood, N.M., D.A. Lovejoy and I.R. Coe. 1993. Origin of mammalian gonadotropin releasing hormones. Endocr Rev., 14: 241–254.
- Sherwood, N.M., L. Eiden, M. Brownstein, J. Spiess, J. River and W. Vale. 1983. Chracterization of a teleost gonadotropin releasing hormone. Proc Natl. Acad. Sci. USA, 80: 2794–2798.
- Sherwood, N.M., R. Leeuwde and H. Goos. 1989. A new member of the gonadotropin releasing hormone family in teleost: catfish gonadotropin releasing hormone. Gen. Comp. Endocrinol., 75: 427–436.
- Shimizu, A. and I. Hanyu. 1982. Environment regulation of annual reproductive cycle in a spring-spawning bittering Ascheilognathus tabra. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 48: 1563–1568.
- Smith, R.L., A.J. Paul and J.M. Paul. 1990. Seasonal changes in energy and the energy cost of spawning in Gulf of Alaska Pacific cod. J. Fish. Biol., 36: 307–316.
- Takano, K. 1964. On the formation and follicular changes in *Lebistes reticulatus*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ., 15: 147–155.
- Takano, K. 1989. Oogenesis and structure of ovary, in "Monographs on aquaculture science vol. 4, Reproductive biology of fish and shellfish" (ed, by Takeshima and Hanyu), Tokyo, pp. 3–34.
- Thisen, B., E. Zeiske, W.L. Silver, T. Marui and J. Capio. 1991. Morphological and physiological studies on the olfactory organ of the striped eel catfish, *Plotosus lineatus*. Marine biology, 110: 127–135.
- Wallace, R.A. and K. Selmen. 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. Am. Zoo., 21: 325–343.
- Yamamoto, N., I.S. Parhar, N. Sawai, Y. Oka. and H. Ito. 1998. Preoptic gonadotropin releasing hormone (GnRH) neurons innervate the pituitary in teleosts. Neurosci.

Res., 31: 31-38.

- Yamamoto, K. 1956. Studies on the formations in fish eggs. I. Annual cycle in the developmental of ovarian eggs in the flounder, *Lioseptta obscura*. J. Fac. Sci. Hokkaido Univ. Ser., 6: 362–373.
- Yang, S.K., Y.D. Lee and C.K. Pyen. 1994. A study on the gonadal maturation and egg-stripping by hormone treatments of Tiger puffer, *Takifugu rubripes*. J. Aquaculture., 7: 189–205.
- Yoo, M.S., H.M. Kang, H.S. Choi, J.W. Kim, E.T. Brigitte, P.M. Robert. and H. B. Kwon. 2000. Molecular cloning, distribution and pharmacological characterization of a novel gonadotropin-releasing hormone([Trp⁸]GnRH) in frog brain. Mol. Cell. Endocrinol., 164: 197–204.
- Yoshikuni, M. and Y. Nagahama. 1991. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. Bull. Inst. Zool., Academia Sinica, Monograph 16: 139–172.
- Yu, K.L., N.M. Sherwood and R.E. Peter. 1988. Differential distribution of two molecular forms of gonadotropin releasing hormone in discrete brain area of goldfish (*Carassius aurarchus* labrax L.) Peptides, 9: 625–630.
- 김용억 ·명정구 ·김영섭 · 한경호 · 강충배 · 김진구. 2001. 한국해산어류도감. 한글그라픽스. 부산, 183 pp.

정문기. 1977. 한국어도보. 일지사. 서울, pp.221-222.

감사의 글

학부 과정부터 시작했던 실험실 생활이 이제 조그마한 결실과 새로운 출발에 설수 있도록 항상 가르침과 격려로 배움을 일깨워 주신 노섬 교수님께 감사를 드립니다. 바쁘신 중에도 지도교수님 이상으로 논문지도에 관심을 가져 주시고 부족한 논문을 정성껏 다듬어 주신 이영돈 교수님과 최광식 교수님께 감사드리고, 또한 많은 관심을 가지고 지도와 격려를 해주신 이정재 교수님, 정상철 교수님, 이기완 교수님께 감사드 립니다.

면역조직실험에 있어서 많은 조언과 도움을 주신 서남대학교 김정우 교수님과 제주 대학교 해부학실 김명주 교수님께 감사드리며 수의학과 대성이게도 고마움을 전합니 다. 또한 바쁜 업무중에서도 샘플채집에 도움을 준 표선 사조산업의 영수선배, 영철 형, 형철형 그리고 해양과환경연구소의 김명학 선생님께 감사드립니다.

언제나 따뜻한 격려로 저에게 힘이 되어주신 변수철 선배님, 종수형, 필연누나, 실 험실 생활동안 친형처럼 큰 힘이 되어 준 영웅형 그리고 정호, 영석, 남룡이에게도 감 사드리고 늘 옆에서 많은 조언을 해주신 강도형 선배님, 박경일 선배님, 상균이형, 그리고 최영진 선배님, 홍충희 선배님, 고광종 선생님에게 감사드립니다. 아울러 바쁜 시간을 쪼개어 실험기간 동안 많은 도움을 준 해양과환경연구소 발생학 실험식 가족 (김병호 선배님, 나오수 선배님, 송영보 선배님, 이치훈 선배님, 창범, 지응, 영석, 상 우, 삼연, 문수)에게 감사드리고, 함께 했던 시간들 잊지 못할 겁니다.

끝으로 오늘의 제가 있기까지 언제나 한결같은 사랑과 믿음으로 보살펴 주신 부모 님과 철없는 막내를 이해하고 도와주신 형, 누나에게 오늘의 작은 결실을 바칩니다.

이 연구는 제주대학교 해양연구소의 시설과 기자재를 이용하여 수행하였 고, 연구수행에 큰 도움을 주신 해양연구소의 직원 여러분들게 진심으로 사의를 표합니다.