

Induction of Sexual Maturation of Tiger puffer,
Takifugu rubripes in Indoor Tank by the
Control of Photoperiod

Sam-Yeon Kim

(Supervised by professor Young-Don Lee)

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 2004

목 차

abstract	i
I. 서론	1
II. 재료 및 방법	2
III. 결과	11
1. 생식주기	11
1). 생식소 외부형태	11
2). GSI 와 HSI의 변화	13
3). 생식세포 형성과정	16
4). 생식주기	20
5). 성비	23
2. 광주기 조절에 의한 인위적 성 성숙 유도	24
1). 사육환경	24
2). GSI의 변화	25
3). 생식세포의 변화	27
4). 난경변화	30
IV. 고찰	31
V. 요약	35
VI. 참고 문헌	36
감사의 글	

Abstract

This study investigated gametogenesis, gonadal development, the reproductive cycle, and the possible induction of sexual maturation by photoperiod manipulation in cultured *Takifugu rubripes*.

Fish at SAJO CS Co., Ltd. 1-3 year old were sampled from July 2003 to June 2004.

The artificial photoperiod experiment (APE) was subdivided into APE I, II, and control phases. In APE I, the photoperiod was increased from 9.5L(light)/14.5D(dark) to 12L/12D. In APE II, it was decreased from 11L/13D to 9.5L/14.5D and then increased to 12L/12D. The specimens studied were 3- and 5-year-old *T. rubripes*.

The gonadosomatic index (GSI) of males and females reached maximum values of 11.91 ± 3.01 and 3.23 ± 2.61 in April (17.4°C , 13L/11D), respectively. The hepatosomatic index (HSI) of males reached a maximum of 13.80 ± 1.32 in May (17.3°C , 13.9L/10.1D) and that of females reached a maximum of 14.6 ± 1.08 in June (17.8°C , 14.3L/9.7D).

The reproductive cycle could be divided into the following successive stages in the ovary: growing stage (July to June), mature stage (November to April), and degenerative stage (April to July). Likewise, in the testis, the following stages were observed: growing stage (July to March), mature stage (November to June), spent stage (February to July), and degenerative and recovery stage (May to August).

In the artificial photoperiod experiment (APE I, II), in the ovary, the maximum oocyte diameter ranged from 350-400 μm ; in the testis, most of the sperm was spent and the rest was resorbed.

In 5-year-old fish (3,247.2 g), an oocytes diameter of $899.75 \pm 45.45 \mu\text{m}$ was observed on February 11 (12L/12D) and the diameter of mature oocytes was $1,065.80 \pm 55.75 \mu\text{m}$ on April 2 (14L/10D), after the photoperiod was increased to 14L/10D on March 12.

I. 서 론

자주복, *Takifugu rubripes*은 복어목 Tetraodontiformes 참복과 Tetraodontidae에 속하는 연안성 어류로서 우리나라 전지역과 일본 홋카이도 이남, 동중국해에 분포하고 (정, 1977), 우리나라와 일본을 비롯한 동남아시아 지역에서는 식용으로 각광받는 어류이다.

자주복의 수요는 급증하고 있으나 연안자원의 감소로 공급이 부족하여 완전양식에 의한 안정적인 자주복 생산이 시급한 실정이다. 일본에서는 어미관리에 의한 수정란생산과 종묘생산에서 양성에 이르기 까지 자주복의 완전양식이 이루어지고 있으며, 양식산 복어의 생산량은 약 5000톤 전후이다 (反町, 2002). 국내에서는 자주복 수정란 생산이 안 되고 있어 일본에서 수정란을 수입하여, 남해안과 제주도 일부 지역에서 종묘생산과 양성이 되고 있지만 생산량은 80여 톤 전후이다.

일본에서는 자주복의 양식 산업화를 위해 인공수정과 종묘생산 (藤田, 1962)을 시초로 종묘생산과 생산성 향상을 위한 시도 (北田·北島, 1982, 1983)들이 지속되었고, 자주복 어미 성 성숙 제어로 수정란을 생산하는 단계에 이르고 있다. 1,2월에 조기 산란된 수정란은 100만 엔/kg을 호가하고 있다.

우리나라에서도 1970년에 자연에서 어획된 자주복에서 난과 정자를 확보하여 수정란을 만들고 종묘생산을 시도 (Pyen and Rho, 1970)한 이래, 자치어 염분내성 (Ko and Rho, 1996)과 소화관 발달 (Kim et al., 2003)등 자치어 사육 생태에 관한 연구들과, 실내에서 사육한 자주복을 대상으로 태반성 성선 자극 호르몬 (HCG, human chorionic gonadotropin) 처리에 의한 인공채란 (Yang et al., 1994)등이 수행되었으나, 인공수정란 생산을 위해 자주복의 성 성숙 제어에 관한 산업적인 기술 노하우 축적이 필요한 실정이다.

이 연구는 자주복의 성 성숙 제어를 통한 양질의 수정란 확보를 위해 사조 CS (주) 제주양식장에서 사육하는 자주복의 생식소 중량지수와 간 중량지수의 월별 변화, 생식소 발달 과정 및 생식주기를 조사하였고, 광주기 조절을 통한 어미의 성 성숙 유도 가능성을 탐색하였다.

II. 재료 및 방법

1. 생식주기

1) 실험어

자주복 생식주기 조사를 위한 실험어는 사조 CS (주) 제주양식장에서 사육하고 있는 1-3년생 개체들 중에서 2003년 7월부터 2004년 6월까지 매월 7-21마리씩 총 175마리를 조사하였다. 실험어는 실험실로 옮겨 전장과 체중은 0.1 cm와 0.1 g까지 측정된 후, 실험어를 해부하고 생식소와 간을 0.01 g까지 측정하여 생식소중량지수 (gonadosomatic index: GSI)와 간중량지수 (hepatosomatic index: HSI)를 (1), (2)의 식에 의해 계산하였다.

$$\text{GSI} = \text{생식소중량} / \text{체중} \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{HSI} = \text{간중량} / \text{체중} \times 100 \dots\dots\dots(2)$$



2) 생식세포의 조직학적 관찰

측정 후 생식소와 간은 Bouin 's solution에 24시간 고정 하였으며, 고정된 조직은 파라핀 절편법에 의해 5-7 μm 두께로 조직절편을 제작한 후, Hansen 's haematoxylin과 0.5% eosin으로 비교 염색하여 현미경하에서 검정하였다.

3) 사육환경

사육수조 내의 환경 변화를 조사하기 위하여 수온을 주 2회 조사하고, 자연 광주기는 제주기상대의 기상관측자료를 이용하였다.

2. 광주기 조절을 통한 인위적 성 성숙 유도

1) 사육시설 및 관리

사육수조는 사조 CS (주) 제주양식장 내에 직경 5 m × 수심 1.5 m인 원형 콘크리트 수조 4개 (artificial photoperiod experiment: APE I-1, 2, APE II-1, 2)를 사용하였고, APE I-1과 APE II-1은 3년생 자주복 45미, APE I-2와 APE II-2에는 3년생 15미, 5년생 15미를 각각 수용하였다 (Fig. 1). 대조구로는 사조 CS (주) 제주양식장에서 사육 중인 어미관리수조의 3년생 자주복을 사용하였다. 실험기간 동안 사육수는 자연해수와 지하해수를 혼합하여 사용하였고, 사육수조의 일일 환수량은 10-12회전을 유지하였으며, 먹이는 습사료 (moist pellet, MP)를 일일 2회 오전, 오후로 나누어 공급하였다. 사육 수조내의 환경 측정은 주 2회 수온, pH, 용존산소 (DO: dissolved oxygen)를 측정하였으며, 수온은 수온 온도계, pH는 pH meter (HM-12P), DO는 DO meter (DO-14P)를 사용하였다. 성 성숙을 유도하기 위한 사육시설은 인위적인 광주기 조절이 가능하도록 수조의 윗부분과 둘레를 차광막과 검은 비닐을 이중으로 씌워 외부의 빛을 차단시켰다. 광주기 [light/dark (L/D)]조절은 100 W 백열등을 광원으로 이용하여 수면의 밝기를 50-70 lux를 유지하였으며, 광주기는 timer를 설치하여 조절하였다.

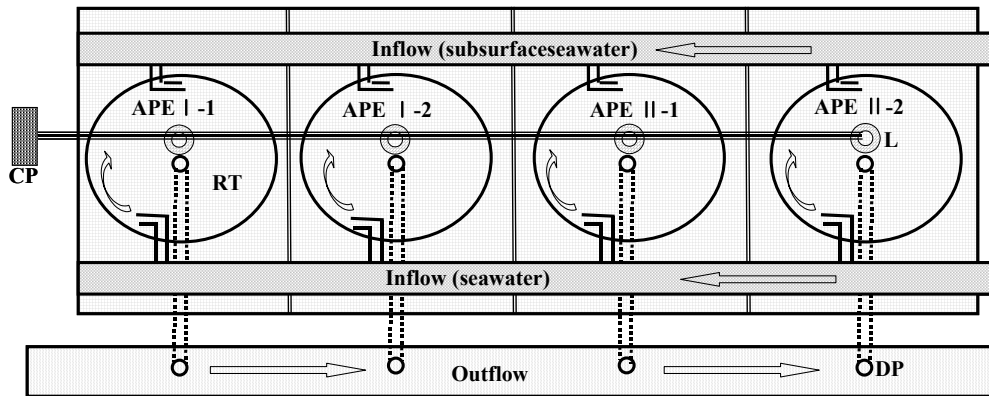
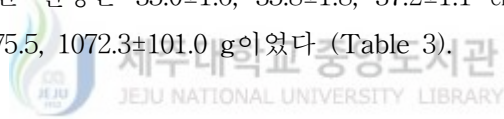


Fig. 1. Diagram of rearing system for the control of photoperiod. CP: control photoperiod, APE: artificial photoperiod experiment, DP: drain pipe (dia. 100 mm), L: light (50-70 lux), RT: rearing tank (dia. 5×1.5 m).

2) 광주기 조절

실내 사육한 3년생 자주복의 성 성숙 인위제어를 위한 광주기 조건은 사조 CS (주) 제주양식장의 사육조건에서 산란기로 추정되는 3월의 광주기 조건인 12L/12D를 토대로 하여 광주기 조절에 대한 timetable을 만들어 사육관리하였다 (Table 1). 실험에 사용된 대조구와 APE I, II의 평균전장은 35.7 ± 1.70 cm, 35.7 ± 1.48 cm, 36.4 ± 1.19 cm이었고, 평균체중은 970.9 ± 82.71 g, 932.9 ± 77.60 g, 972.7 ± 79.44 g이었다 (Table 2).

인위적인 광주기 조절 실험에서 APE I은 실험 시작 시 2003년 10월 18일에 동지 기준인 9.5L/14.5D의 조건으로 조절하여 실험수조 내에 2주간 순치 시킨 후, 1주일 간격으로 명기를 15분씩 점차 증가시켜 실험 종료 시 2004년 1월 9일에 12L/12D 조건으로 맞추어 조절하였다. APE II는 실험 시작 시 2003년 10월 18일에 자연 조건인 11L/13D의 조건으로 조절하여 실험수조 내에 일주일간 순치 시킨 후, 1주일 간격으로 명기를 15분씩 증감시켜 2004년 2월 13일에 광주기를 12L/12D로 맞추어 조절하였다. 인위적인 광주기 조절 실험에서 조사한 대조구와 APE I, II의 평균 전장은 35.0 ± 1.6 , 35.8 ± 1.8 , 37.2 ± 1.1 cm이었고, 평균 체중은 970.6 ± 63.7 , 990.2 ± 75.5 , 1072.3 ± 101.0 g이었다 (Table 3).



3) 조직학적 관찰

광주기 조절에 따른 생식소 발달 상태를 조사하기 위하여 대조구에서는 11월 7일부터 2월 9일까지 매월 초에 5미씩 조사하였고, APE I, II에서는 광주기 12L/12D조건을 지난 후 3주 간격으로 5미씩 채집하여 GSI를 산출한 후 생식소 발달상태를 조직학적으로 조사하였다.

4) 난경 조사

실험기간동안 육안적으로 성 성숙이 관찰된 5년생 자주복 암컷 (체중 3247.2 g)을 대상으로 2월 11일부터 4월 2일 까지 51일간 8회에 걸쳐 난소 내 난경변화를

조사하였다. 성숙난의 난경변화는 내경 0.8 mm, 외경 1.0 mm인 실리콘 재질의 튜브를 이용한 cannulation (Fig. 2) 방법으로 수집하여 만능투영기로 조사하였다. 조사 기간동안의 수온은 17.1-17.7℃ 범위였고, 광주기는 12L/12D조건에서 점차 증가시켜 14L/10D조건으로 조절하였다.



Table 1. Timetable of photoperiod control for the induction sexual maturation of tiger puffer, *Takifugu rubripes*

Data	Photoperiod (Light : Dark)		
	control	APE I	APE II
18. Oct. – 24. Oct.2003	11.20 : 12.80	9.50 : 14.50	11.00 : 13.00
25. Oct. – 31. Oct.	10.98 :13.02	9.50 : 14.50	10.75 : 13.25
1. Nov. – 7. Nov.	10.76 : 13.24	9.75 : 14.25	10.50 : 13.50
8. Nov. – 14. Nov.	10.57 : 13.43	10.00 : 14.00	10.25 : 13.75
15. Nov. – 21. Nov.	10.39 : 13.61	10.25 : 13.75	10.00 : 14.00
22. Nov. – 28. Nov.	10.23 : 13.77	10.50 : 13.50	9.75 : 14.25
29. Nov. – 5. Dec.	10.11 : 13.89	10.75 : 13.25	9.50 : 14.50
6. Dec. – 12. Dec.	10.01 : 13.99	11.00 : 13.00	9.75 : 14.25
13. Dec. – 19. Dec.	9.97 : 14.03	11.25 : 12.75	10.00 : 14.00
20. Dec. – 26. Dec.	9.94 : 14.06	11.50 : 12.50	10.25 : 13.75
27. Dec. – 2. Jan.2004	9.97 : 14.03	11.75 : 12.25	10.50 : 13.50
3. Jan. – 9. Jan.	10.03 : 13.97	12.00 : 12.00	10.75 : 13.25
10. Jan. – 16. Jan.	10.13 : 13.87		11.00 : 13.00
17. Jan. – 23. Jan.	10.27 : 13.73		11.25 : 12.75
24. Jan. – 30. Jan.	10.44 : 13.56		11.50 : 12.50
31. Jan. – 6. Feb.	10.62 : 13.38		11.75 : 12.25
7. Feb. – 13. Feb.	10.82 : 13.18		12.00 : 12.00

APE: artificial photoperiod experiment.

Table 2. Total length and body weight of experimental fish in the control, APE I and APE II

Fish No.	Control		APE I		APE II	
	TL (cm)	BW (g)	TL (cm)	BW (g)	TL (cm)	BW (g)
1	37.6	930.0	36.2	932.0	37.5	1114.0
2	37.5	907.0	34.3	844.0	35.4	1014.0
3	37.4	874.0	35.6	966.0	37.2	924.0
4	36.0	950.0	35.6	930.0	36.1	986.0
5	34.8	946.0	36.5	976.0	38.6	978.0
6	34.0	889.4	37.4	1112.0	34.2	942.0
7	34.4	843.8	35.4	1002.0	35.6	1070.0
8	37.5	1106.4	31.7	816.0	34.6	868.0
9	37.3	1024.5	36.2	898.0	35.6	918.0
10	35.0	893.4	33.8	838.0	37.0	1064.0
11	32.0	1025.5	36.3	1018.0	36.3	1058.0
12	36.2	1034.6	36.0	918.0	37.4	934.0
13	33.6	990.7	37.6	916.0	37.4	978.0
14	36.5	1093.2	35.5	868.0	36.9	840.0
15	36.0	1055.5	36.7	960.0	36.2	982.0
Mean±SD	35.7±1.70	970.9±82.71	35.7±1.48	932.9±77.60	36.4±1.19	972.7±79.44

APE: artificial photoperiod experiment, BW: body weight, SD: standard deviation, TL: total length.

Table 3. Total length and body weight of the sampling fish in the control, APE I and APE II

		control		APE I		APE II	
Date	Number of Fish	TL (cm) Mean±SD	BW (g) Mean±SD	Date	Number of Fish	TL (cm) Mean±SD	BW (g) Mean±SD
7. Nov. 2003	5	36.7±1.2	921.4±31.6	14. Nov. 2003	5	36.6±1.1	1037.3±85.6
8. Dec.	5	35.6±1.6	951.5±109.7	5. Dec.	5	35.0±2.0	921.6±44.3
2. Jan. 2004	5	34.9±2.0	1039.9±37.9	26. Dec.	5	35.7±2.1	1011.9±96.6
9. Feb.	5	32.9±1.5	969.6±75.8	26. Jan.	5	37.6±1.8	1081.2±106.8
Average	20	35.0±1.6	970.6±63.7	Average	15	35.8±1.8	990.2±75.5
				Average	15	37.2±1.1	1072.3±101.0

APE: artificial photoperiod experiment, BW: body weight, SD: standard deviation, TL: total length.



Fig. 2. Examination steps for sexual development of tiger puffer, *Takifugu rubripes* by cannulation method. A: anesthetization in 200 ppm 2-phenoxy-ethanol, B: body weight measurement, C: cannulation, D: treatment with 100 ppm in Tiamulin Hydrogen Fumarate cline-HCl.

Ⅲ. 결 과

1. 생식주기

1) 생식소 외부형태

자주복은 자웅이체이며, 난소는 체강 등쪽의 척추골을 따라 좌우 한 쌍인 낭상형의 주머니 모양으로 일부가 체벽에 부착되어 있고, 등쪽 체강벽으로부터 난소 간막에 의해 체강 내에 매달려 있으며, 난소 뒤 끝에서 합쳐져 짧은 수란관에 이어 진다. 정소는 한 쌍의 좌우 비대칭으로 일부가 체벽에 부착되어 있고, 성숙이 진행되면서 비후해지고 유백색을 띤다 (Fig. 4).





Fig. 3. External feature of tiger puffer, *Takifugu rubripes*.



Fig. 4. External features of gonad of tiger puffer, *Takifugu rubripes*. A: male, B: female, TE: testis, OV: ovary, SB: swim bladder, M: muscle. Scale bar= 1 cm.

2) GSI와 HSI의 월 변화

실내 사육수조의 수온 변화는 8월에 21.3℃에서 9월에 20.3℃로 하강하기 시작하였으나 저수온기인 11월부터 3월까지의 지하해수를 이용하여 최저 수온이 17℃ 전후를 유지하였다. 광주기 변화는 6월 하지일 때 14.4L이었고, 12월 동지일 때 9.9L이었다 (Fig. 5).

GSI 월별변화는 수컷의 경우 11월 (수온 18.6℃, 광주기 10.5L/13.5D)에 1.14 ± 0.59 에서 4월 (수온 17.4℃, 광주기 13L/11D)에 11.91 ± 3.01 로 최대값이었다. 암컷의 경우 수컷과 유사한 경향을 보여 4월에 3.23 ± 2.61 로 최대값이었고, 5월에 1.62 ± 1.00 으로 감소하기 시작하여 고수온기인 8월에 0.21 ± 0.02 로 최저값이었다 (Fig. 5).

HSI 월별변화는 수컷의 경우 11월 10.98 ± 0.54 에서 증가하기 시작하여 5월 13.80 ± 1.32 로 최대값이었고, 6월 (수온 17.8℃, 광주기 14.3L/9.7D)에 10.87 ± 1.14 로 감소하기 시작하여 8월에 8.91 ± 0.61 로 최저값이었다. 암컷의 경우 4월 12.38 ± 2.88 에서 증가하기 시작하여 6월 14.6 ± 1.08 로 최대값이었고, 7월 (수온 19.5℃, 광주기 14.1L/9.9D)에 6.81 ± 0.77 로 급격히 감소하여 최저값 이었다 (Fig. 6).

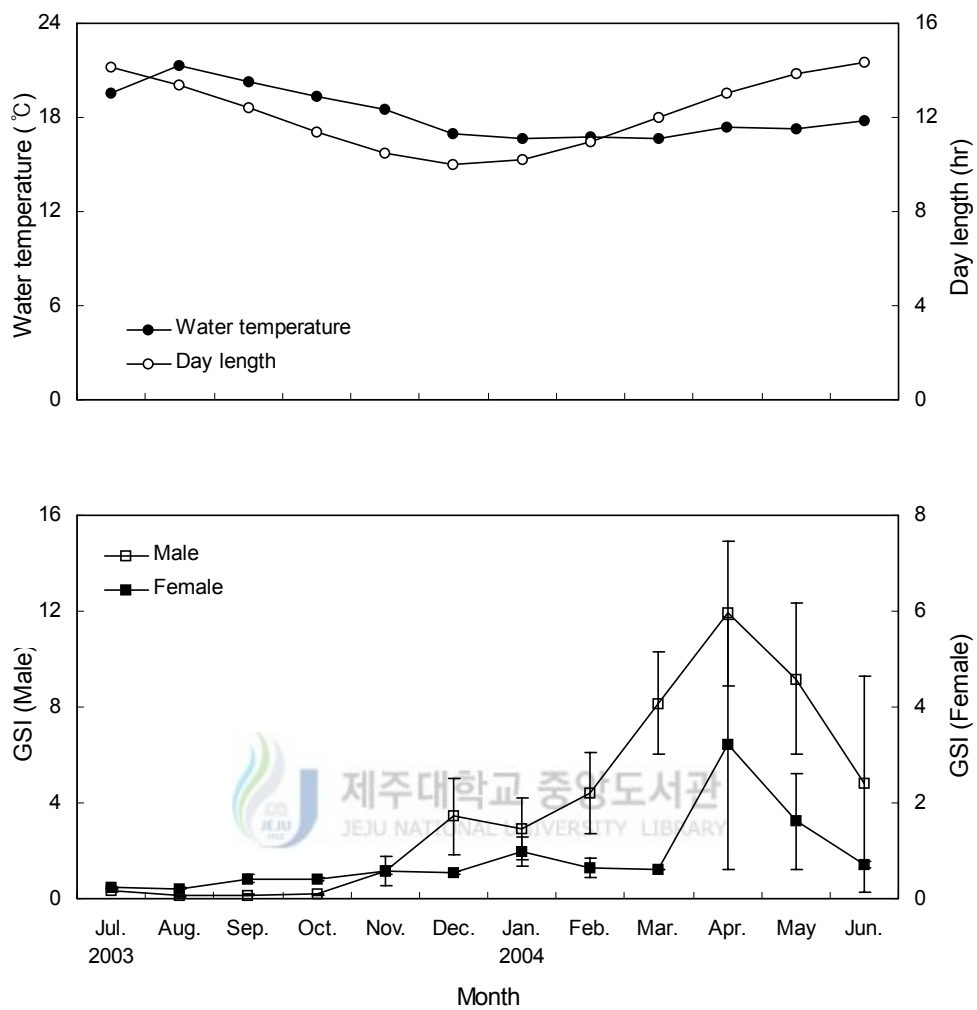


Fig. 5. Monthly changes in water temperature, day length and gonadosomatic index (GSI) of tiger puffer, *Takifugu rubripes* from July 2003 to June 2004. Vertical bars represent standard error.

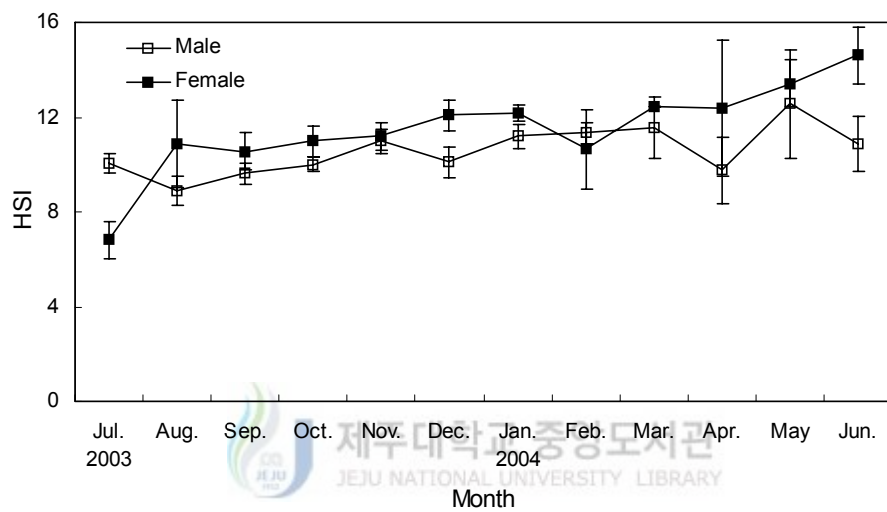


Fig. 6. Monthly changes in hepatosomatic index (HSI) of tiger puffer, *Takifugu rubripes* from July 2003 to June 2004. Vertical bars represent standard error.

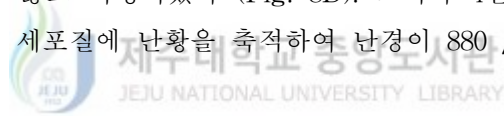
3) 생식세포 형성과정

(1) 정소 발달

성장기의 정소에는 소엽상피를 따라 정원세포들이 성숙 분열하여, 정소 소엽 내에 정모세포군, 정세포군, 소수의 정자무리가 관찰되었다 (Fig. 7A). 소엽 내에 정세포군이 정자로 변태되면서 정자 무리들로 가득 찼고 (Fig. 7B), 2월에 성숙한 일부 개체들의 정소에는 방정 후의 잔존 정자가 분포하였다 (Fig. 7C). 이 후, 7월에 정소의 소엽 상피는 재배치되었고, 소엽상피를 따라 정원세포들이 출현하였다 (Fig. 7D).

(2) 난소 발달

성장기의 난소에는 난경이 7-30 μm 의 주변인기 난모세포와 세포질 내에 유구가 형성되어 난경이 75-190 μm 에 달하는 유구기 난모세포들이 분포하였다 (Fig. 8A). 이들 난모세포들이 성숙 발달하여 방사선대가 형성되고, 세포질에는 난황구와 유구들이 축적되기 시작하여 난경이 310-450 μm 에 달하였으나 (Fig. 8B), 더 이상 성숙발달하지 않고 퇴행되었다 (Fig. 8D). 그러나 4월 한 개체에서만 방사선대가 두꺼워지고 세포질에 난황을 축적하여 난경이 880 μm 전후까지 발달하였다 (Fig. 8C).



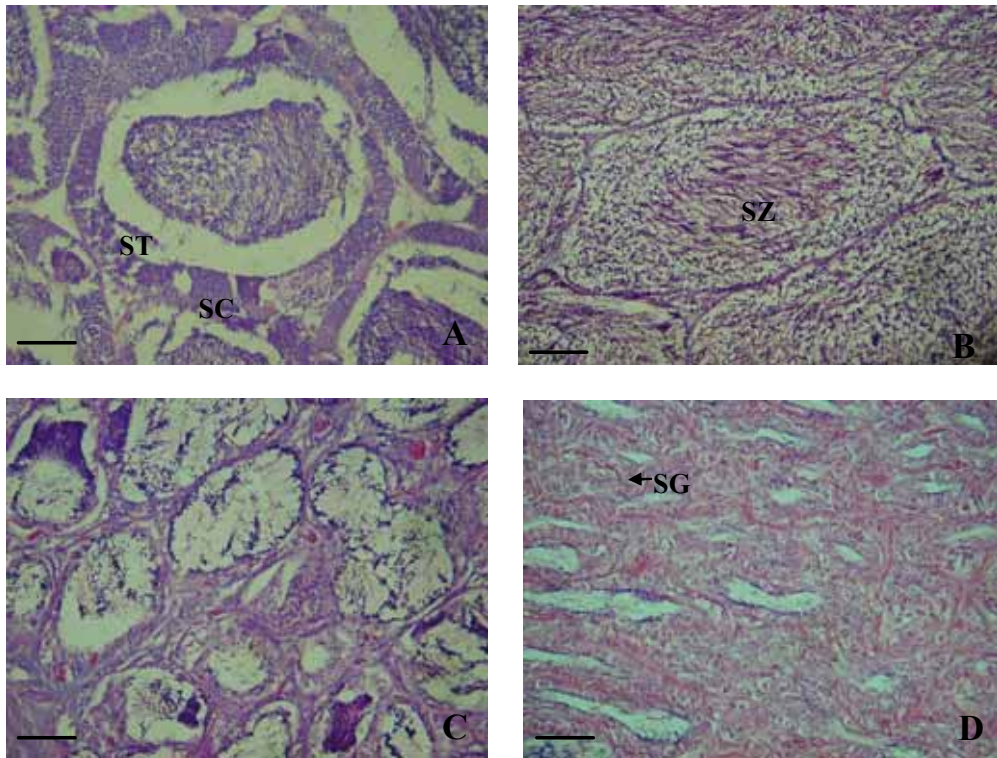


Fig. 7. Photomicrographs of testis development of tiger puffer, *Takifugu rubripes*. A: testis of the growing stage, B: testis of the mature stage, C: testis of the spent stage, D: testis of the degenerative and recovery stage. Scale bar= 50 μ m. SC: spermatocyte, SG: spermatogonia, ST: spermatid, SZ: spermatozoa.

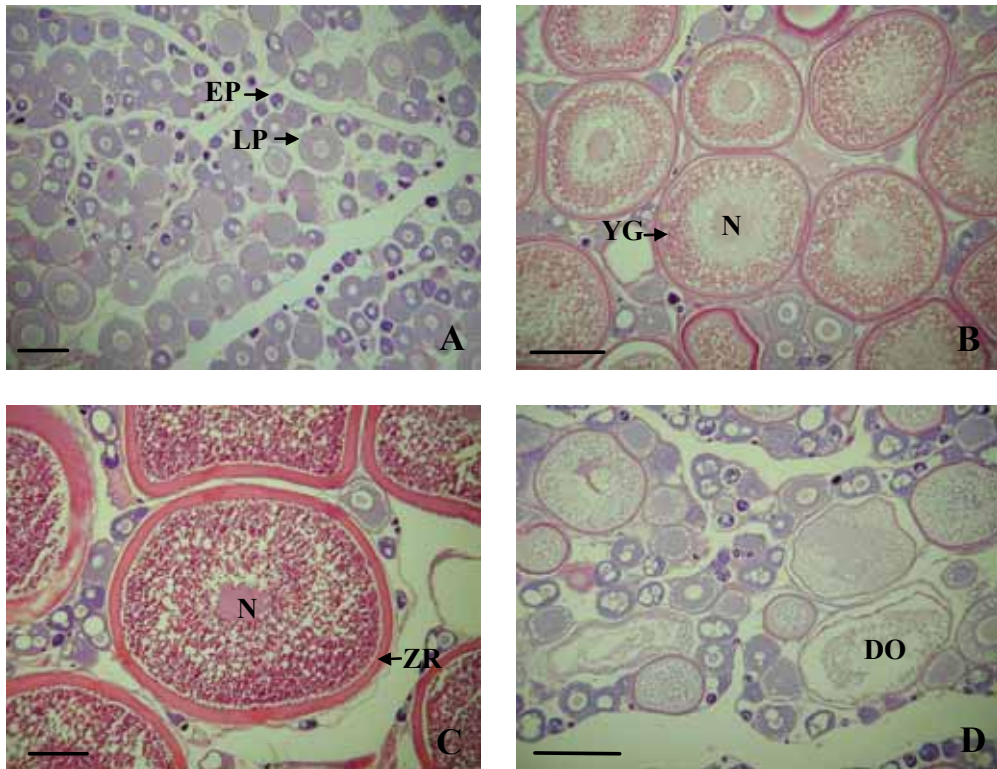


Fig. 8. Photomicrographs of ovary development of tiger puffer, *Takifugu rubripes*. A: ovary of the growing stage (Scale bar= 140 μm), B: ovary of early mature stage (Scale bar= 225 μm), C: ovary of mature stage (Scale bar= 220 μm), D: ovary of the degenerating stage (Scale bar= 250 μm). DO: degenerating oocyte, EP: early perinucleolus oocyte, N: nucleus, LP: late perinucleolus oocyte, YG: yolk globules, ZR: zona radiata.

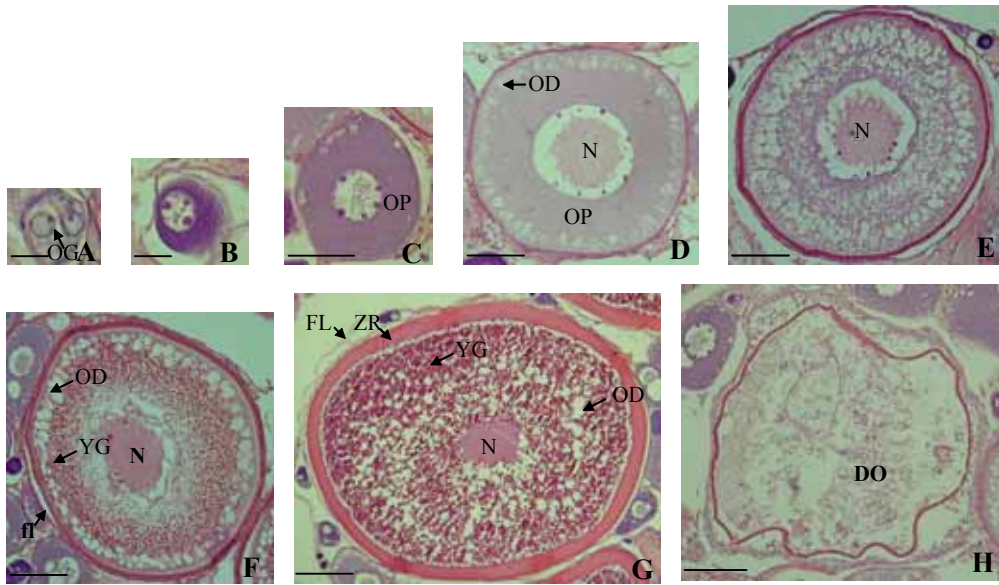


Fig. 9. Photomicrographs of oocyte development of tiger puffer, *Takifugu rubripes*. A: chromatin-nucleolus stage (Scale bar= 5 μm), B: peri-nucleolus stage (Scale bar= 15 μm), C: early oil droplet stage (Scale bar= 40 μm), D: late oil droplet stage (Scale bar= 50 μm), E: primary yolk stage (Scale bar= 70 μm), F: secondary yolk stage (Scale bar= 110 μm), G: tertiary yolk stage (Scale bar= 130 μm), H: degenerative stage (Scale bar= 80 μm) DO : degenerating oocyte, FL : follicle layer, N : nucleus, OD : oil droplet, OG : oogonia, OP : ooplasm, YG : yolk globules, ZR : zona radiata.

4) 생식주기

월별로 조사된 생식소중량지수 (GSI), 난소와 정소의 생식세포 발달단계 및 특징을 조직학적으로 관찰한 결과 자주복의 생식주기는 수컷의 경우, 성장기 (growing stage), 성숙기 (mature stage), 방정기 (spent stage), 퇴행 및 회복기 (degenerative and recovery stage)로 구분되었고, 암컷의 경우, 성장기 (growing stage), 성숙기 (mature stage), 퇴행기 (degenerative stage)로 구분되었다.

성장기 (growing stage): 7월부터 3월까지 정소의 GSI 변화는 0.35 ± 0.05 - 8.17 ± 2.16 이었고, 수온은 19.5 - 16.7°C , 광주기는 14.1L/9.9D-12L/12D범위였다. 정소 소엽 내에는 정모세포군, 정세포군, 그리고 정자무리들이 주로 분포하였다. 7월에서 이듬해 6월 까지 난소의 GSI 변화는 0.22 ± 0.02 - 3.83 ± 3.08 이었고, 수온은 19.5 - 17.8°C , 광주기는 14.1L/9.9D-14.3L/9.7D범위였다. 난소 내에는 주변인기 난모세포와 유구기 난모세포들이 분포하였다.

성숙기 (mature stage): 11월부터 6월까지 정소의 GSI 변화는 1.14 ± 0.59 - 4.78 ± 4.50 이었고, 수온은 18.6 - 17.8°C , 광주기는 10.5L/13.5D-14L/10D범위였다. 정소 소엽 내에 대부분의 정세포가 정자로 변태되고 소엽들은 비후되었다. 11월에서 4월 까지 난소의 GSI 변화는 0.59 ± 0.08 - 3.23 ± 2.61 이었고, 수온은 18.6 - 17.4°C , 광주기는 10.5L/13.5D-13L/11D범위였다. 난모세포들은 eosin에 짙게 염색되는 방사선대와 세포질에 유구와 난황구가 축적되어 난경 310 - $450\ \mu\text{m}$ 에 달하였으며 이후 성숙·발달하여 난경 $880\ \mu\text{m}$ 전후의 난모세포들이 관찰되었다.

방정기 (spent stage): 2월에서 7월까지 정소의 GSI 변화는 4.39 ± 1.69 - 0.35 ± 0.05 이었고, 수온은 16.8 - 19.5°C , 광주기는 11L/13D-14.1L/9.9D 범위였으며, 변태된 정자들이 정소의 수정세관을 통해 수정관으로 모여들어 방정을 하였다.

퇴행 및 회복기 (degenerative and recovery stage): 5월에서 8월까지 정소의 GSI 변화는 9.17 ± 3.16 - 0.12 ± 0.03 이었고, 수온은 17.3 - 21.3°C , 광주기는 13.9L/10.1D-13.4L/10.6D범위였다. 방정 후 정소 소엽 상피는 위축되고, 소엽 내에 잔존 정자들은 퇴화 흡수되면서 소엽상피를 따라 정원세포들이 출현하였다. 일부 성숙

한 개체들은 3월에 출현하였다.

퇴행기 (degenerative stage): 4월에서 6월까지 난소의 GSI 변화는 3.23 ± 2.61 - 3.83 ± 3.08 이었고, 수온은 17.4 - 17.8°C , 광주기는 13L/11D-14.3L/9.7D범위였으며, 방사선대와 여포세포층이 형성된 성숙한 난모세포들이 퇴화되었다.



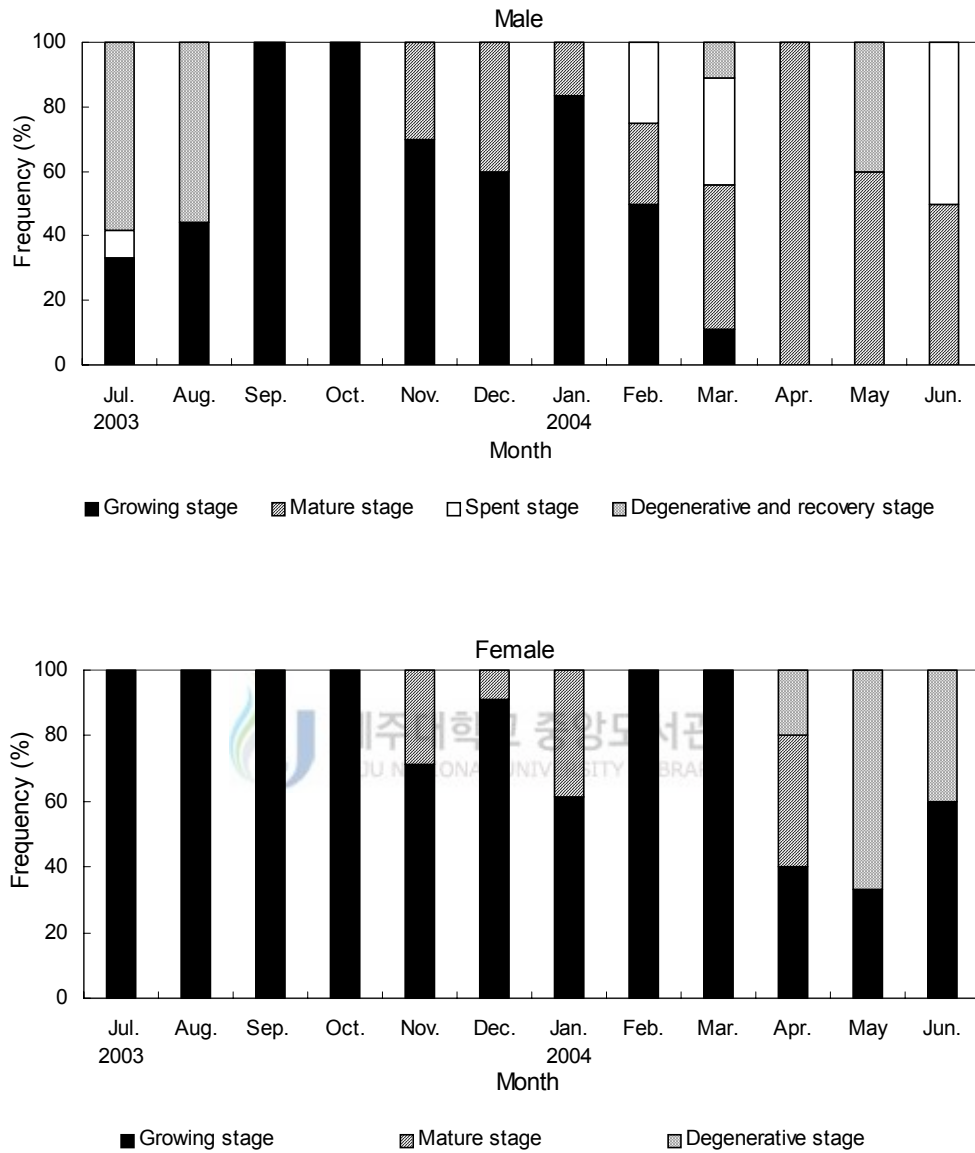


Fig. 10. Monthly changes in frequency distribution of male and female developmental phase of tiger puffer, *Takifugu rubripes* from July 2003 to June 2004.

4) 성비

생식주기 조사기간 동안 채집된 자주복은 총 175마리였으며, 이중 암컷은 70마리이며 수컷은 105마리로 χ^2 검정결과 채집된 암·수컷의 성비는 1:1.5 ($P < 0.05$)였다 (Table 4).

Table 4. Total length and body weight of tiger puffer, *Takifugu rubripes* from July 2003 to June 2004

Month	Sex	Fish number	TL (cm)	BW (g)
			Mean \pm SD	Mean \pm SD
Jul. 2003	F	5	22.1 \pm 1.6	161.4 \pm 27.8
	M	16	26.9 \pm 5.8	455.8 \pm 281.3
Aug.	F	5	23.5 \pm 2.3	243.4 \pm 40.2
	M	10	25.3 \pm 2.8	290.2 \pm 77.9
Sep.	F	5	29.5 \pm 4.6	484.0 \pm 215.9
	M	15	27.4 \pm 2.4	379.2 \pm 107.5
Oct.	F	7	30.0 \pm 1.8	538.3 \pm 109.9
	M	10	29.0 \pm 1.9	481.8 \pm 58.7
Nov.	F	7	32.9 \pm 1.7	642.1 \pm 109.3
	M	10	32.1 \pm 3.3	693.1 \pm 212.6
Dec.	F	12	34.5 \pm 2.7	696.7 \pm 111.8
	M	9	34.2 \pm 1.6	735.0 \pm 189.6
Jan. 2004	F	13	34.5 \pm 1.4	839.3 \pm 156.0
	M	6	34.6 \pm 2.5	815.7 \pm 96.5
Feb.	F	2	31.0 \pm 4.2	824.6 \pm 9.7
	M	8	34.3 \pm 2.6	864.1 \pm 273.8
Mar.	F	1	33.0	981.6
	M	9	35.5 \pm 1.6	832.3 \pm 327.8
Apr.	F	5	35.7 \pm 1.3	1011.3 \pm 148.6
	M	5	35.7 \pm 1.3	1001.2 \pm 136.6
May	F	3	35.4 \pm 1.2	1001.0 \pm 154.1
	M	5	35.0 \pm 1.8	936.0 \pm 16.9
Jun.	F	5	35.8 \pm 2.3	1000.5 \pm 111.0
	M	2	34.5 \pm 2.2	808.7 \pm 26.2
Average	F	70	31.5 \pm 2.1	702.0 \pm 99.5
	M	105	32.0 \pm 2.5	691.1 \pm 150.5

BW: body weight, SD: standard deviation, TL: total length.

2. 광주기 조절을 통한 인위적 성성숙 유도

1) 사육환경

광주기 조절을 통한 인위적 성 성숙 유도 실험기간 동안 사육 수 내 DO는 6.5-9.7mg/L, pH는 7.0-8.0범위였고, 수온은 17.5℃ 이내를 유지하였다 (Fig. 11).

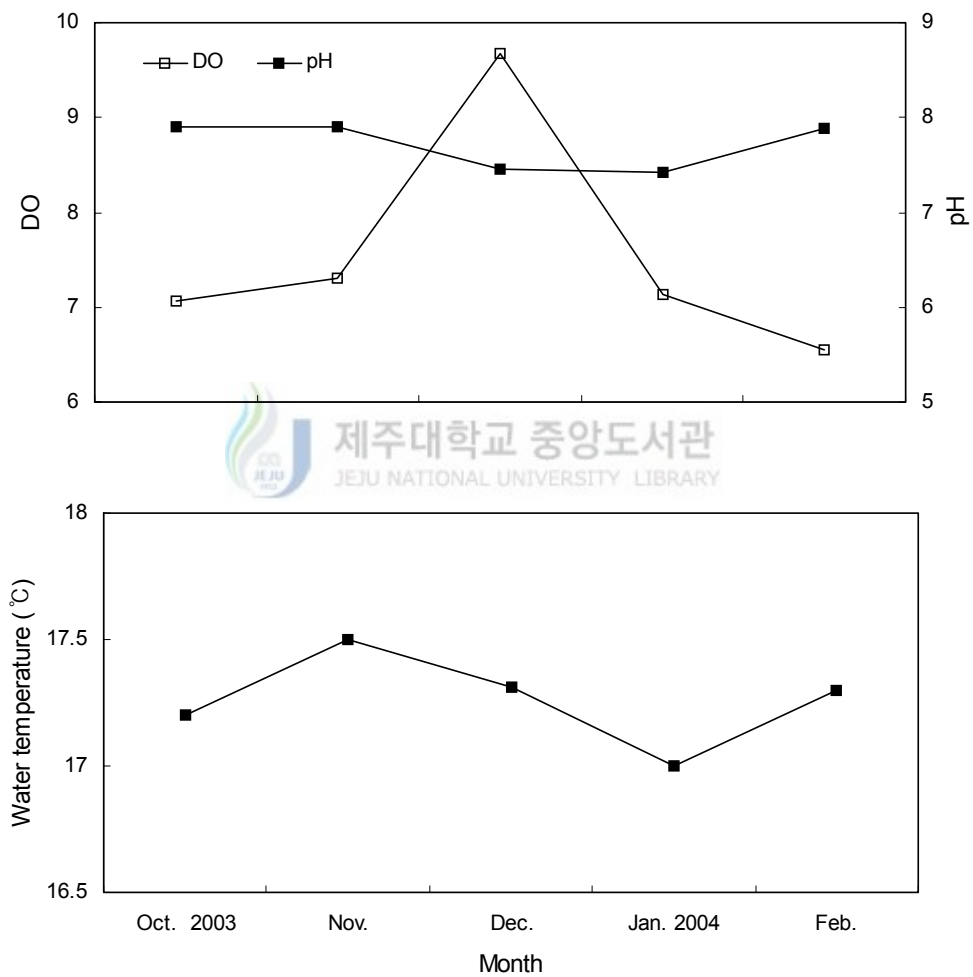
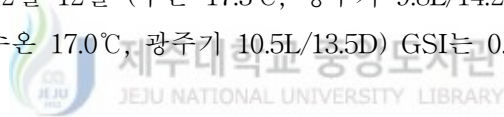


Fig. 11. Monthly changes of dissolved oxygen (DO), pH and water temperature during period of artificial photoperiod experiment.

2) 3년생 자주복의 GSI 변화

수컷의 GSI는 대조구의 경우, 11월 7일 (수온 17.5℃, 광주기 10.8L/13.2D) GSI는 0.70±0.44에서 12월 6일 (수온 17.3℃, 광주기 10L/14D) 8.72±6.77로 급격히 증가하였으며, 2월 9일 (수온 17.3℃, 광주기 10.8L/13.2D) GSI는 7.84±6.98이었다. APE I의 경우, 11월 14일 (수온 17.5℃, 광주기 10L/14D) GSI는 3.25±4.12에서 12월 5일 (수온 17.3℃, 광주기 10.8L/13.2D) 7.75±0.87로 증가하였으며, 12월 26일 (수온 17.3℃, 광주기 11.5L/12.5D) GSI는 5.91±4.02로 서서히 감소하였다. APE II의 경우, 12월 12일 (수온 17.3℃, 광주기 9.8L/14.2D) GSI는 3.35±4.29에서 이듬해 1월 26일 (수온 17.0℃, 광주기 11.5L/12.5D) GSI는 1.66±1.80으로 감소하였다 (Fig. 12).

암컷의 GSI는 대조구의 경우 12월 6일 (수온 17.3℃, 광주기 10L/14D) GSI는 0.50±0.12에서 1월 2일 (수온 17.0℃, 광주기 10L/14D) GSI가 1.31±0.73으로 증가하였다. APE I의 경우, 11월 14일 (수온 17.5℃, 광주기 10L/14D) GSI는 0.57에서 12월 26일 (수온 17.3℃, 광주기 11.5L/12.5D) GSI는 0.70±0.19로 증가하였다. APE II의 경우, 12월 12일 (수온 17.3℃, 광주기 9.8L/14.2D) GSI는 1.10이었고, 이듬해 1월 2일 (수온 17.0℃, 광주기 10.5L/13.5D) GSI는 0.90±0.09로 감소하였다 (Fig. 12).



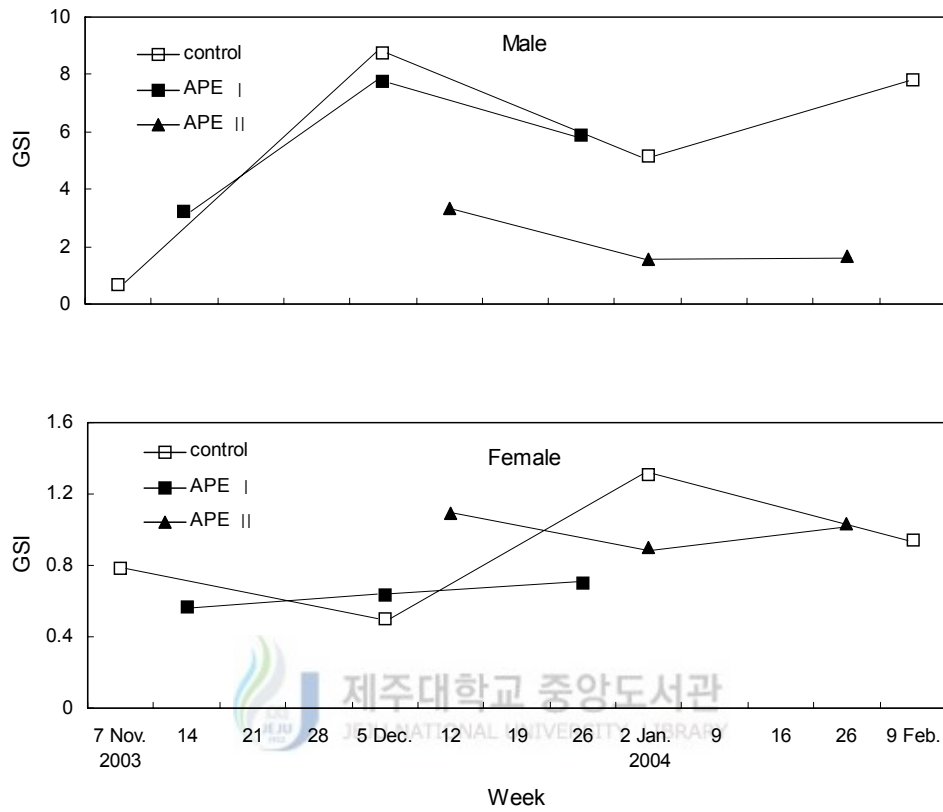


Fig. 12. Changes of gonadosomatic index (GSI) of tiger puffer, *Takifugu rubripes* under the two different artificial photoperiod experiment (APE I, II) and control from November 7 2003 to February 9 2004.

3) 생식세포의 변화

대조구와 광주기 조건이 서로 다른 APE I, II의 생식세포 발달단계 및 특징은 조직학적 관찰을 통하여 조사하였다. 대조구 (10.8L/13.2D)와 APE I (10L/14D)에서 처음 sample들의 난소는 성장기 단계로 주변인기 난모세포들과 난 세포질의 피질층으로부터 유구들이 형성된 난경 160 μm 의 유구기 난모세포들이 분포하였다 (Fig. 13A, C). 대조구 (10.8L/13.2D)와 APE I (11.5L/12.5)에서 실험 최종 sample들의 난소는 성숙·발달하여 방사선대와 여포세포층이 형성된 난경 340-370 μm 의 난모세포들이 출현하였다 (Fig. 13B, D). APE II의 경우, 처음 Sample (9.8L/14.2D)에서 난소는 300-340 μm 의 성숙기 단계였으며 (Fig. 13E), 최종 sample (11.5L/12.5D)에서는 세포질에 난황과립들이 축적되기 시작하고 난경 350-400 μm 의 난모세포들이 분포하였다 (Fig. 13F).

대조구 (10.8L/13.2D)와 APE I (10L/14D)에서 처음 sample들의 정소는 성장기 단계로 정소 소엽 내에 정모세포군, 정세포군, 소수의 정자들이 관찰되었다 (Fig. 14A, C). APE II의 경우, 처음 sample (9.8L/14.2D)에서의 정소는 성숙하여 소엽들이 비후되었고, 소엽 내에 정세포군들이 변태되어 정자 무리를 형성하였다 (Fig. 14E). 최종 sample 대조구 (10.8L/13.2D)의 정소는 실험 시작시의 APE II와 유사한 형태로 소엽이 비후 되고, 소엽 내에 정자무리들이 가득 차 있었다 (Fig. 14B). APE I, II (11.5L/12.5, 11.5L/12.5D)의 정소는 정자들이 방정되었고, 방정 후 잔존 정자들이 퇴화 흡수 되었다 (Fig. 14D, F).

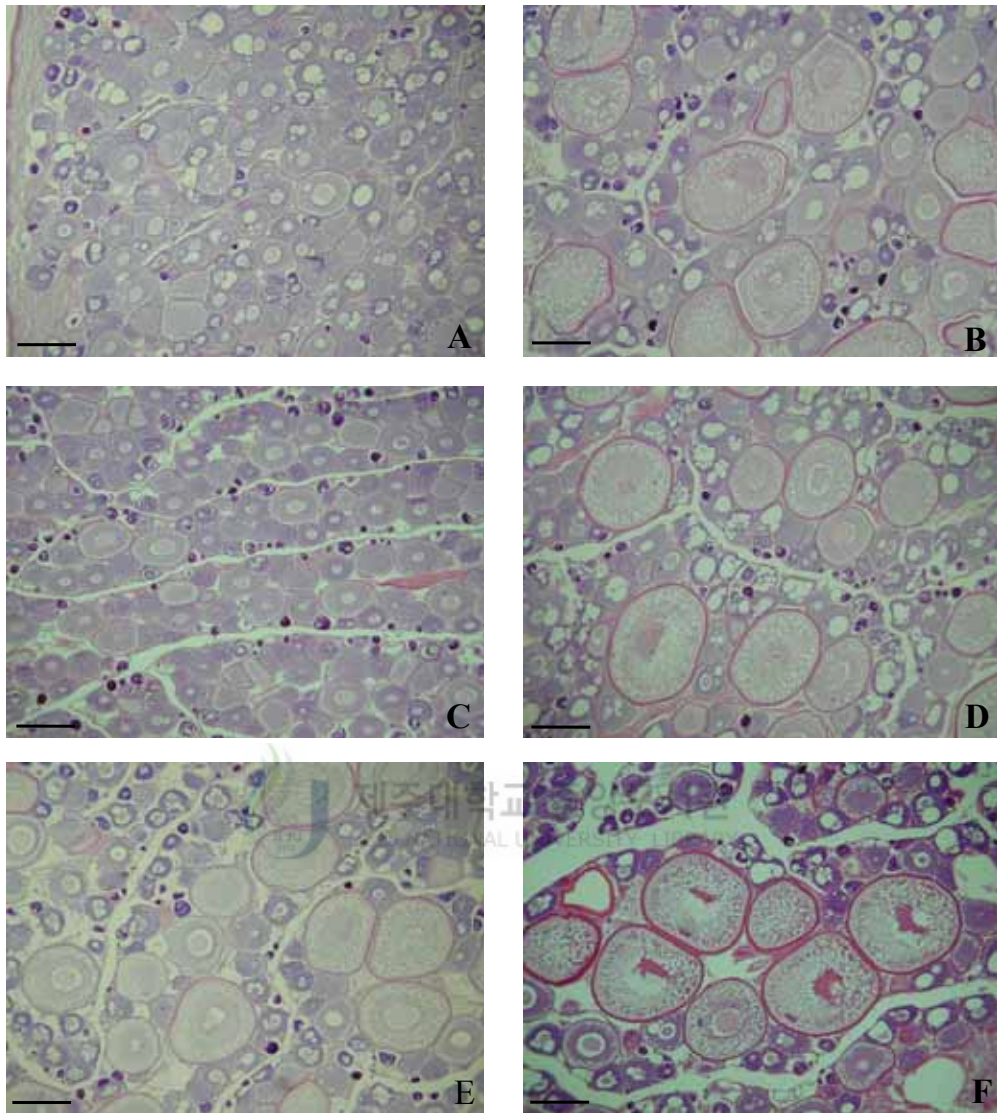


Fig. 13. Changes of ovary in control and two different artificial photoperiod experiment (APE I, II) of tiger puffer, *Takifugu rubripes* from November 7 2003 to February 9 2004. A: control (7 Nov.), B: control (9 Feb.), C: APE I (14 Nov.), D: APE I (26 Dec.), E: APE II (12 Dec.), F: APE II (26 Jan.). Scale bar= 220 μ m.

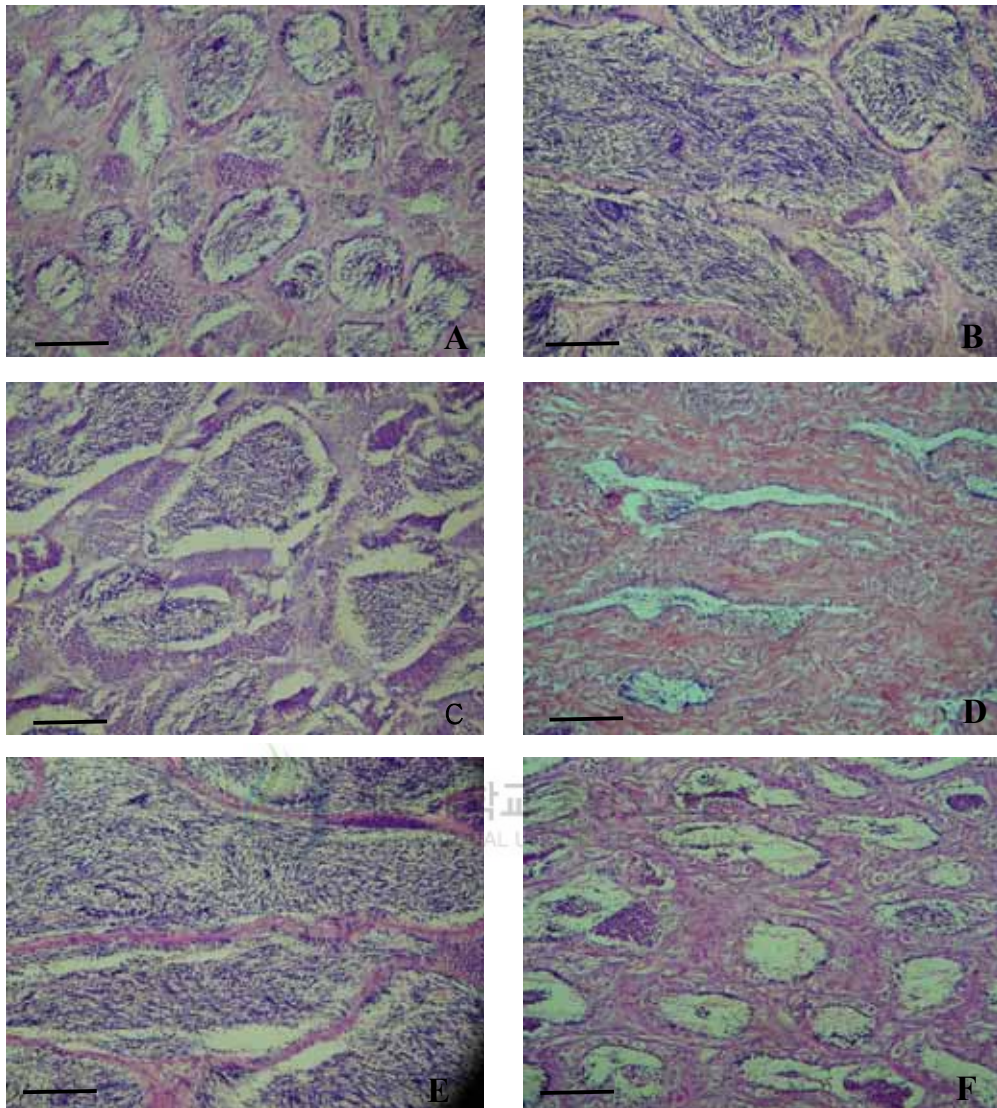


Fig. 14. Changes of testis in control and two different artificial photoperiod experiment (APE I, II) of tiger puffer, *Takifugu rubripes* from November 7 2003 to February 9 2004. A: control (7 Nov.), B: control (9 Feb.), C: APE I (14 Nov.), D: APE I (26 Dec.), E: APE II (12 Dec.), F: APE II (26 Jan.). Scale bar= 55 μ m.

4) 난경 변화

APE II에서 5년생 자주복 암컷의 난경변화를 조사한 결과, 2월 11일부터 3월 5일 까지 광주기 조건 12L/12D에서 난경변화는 $899.75 \pm 45.45 - 947.41 \pm 36.77 \mu\text{m}$ 범위였으나, 3월 12일에 광주기 조건을 14L/10D로 증가시켜 4월 2일까지의 난경변화는 $952.76 \pm 54.59 - 1065.80 \pm 55.75 \mu\text{m}$ 로 증가하였다 (Fig. 15).

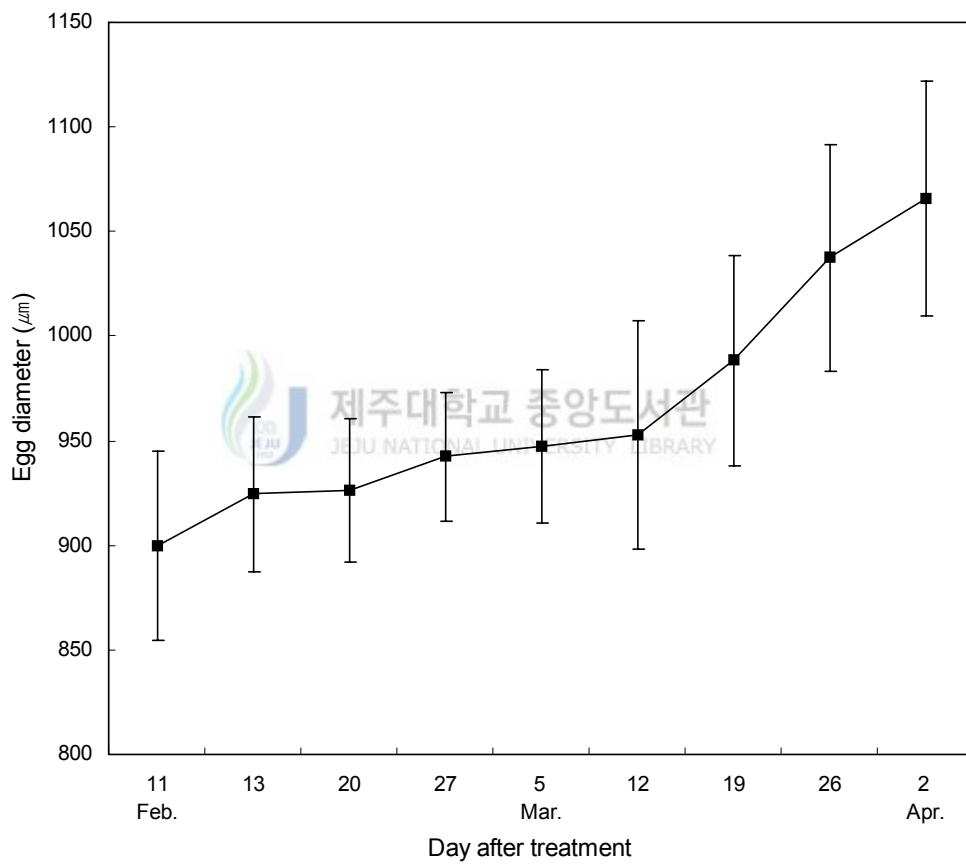


Fig. 15. Changes of egg diameter collected by cannulation of tiger puffer, *Takifugu rubripes* in APE II.

IV. 고 찰

경골어류의 난소는 생식 수란관의 구조와 관련하여 나상형 (gymnovarian condition)과 낭상형 (cystovarian condition)으로 구분하며 (Hoar, 1957), 낭상형은 난소의 조직학적 특성에 따라 다시 낭상형 I 과 낭상형 II의 두가지로 구분된다 (Takano, 1964, 1989). 자주복의 난소는 좌우 비대칭형으로 난소 실질부의 등쪽 좌우측에 밀착되어 길게 체축을 따라 커지며 난소 후측 끝부분에서 합쳐져서 수란관으로 연결되어지는 낭상형 I 에 속한다.

경골어류의 정소는 내부 조직학적 구조에 의해 소엽형 (lobule type)과 세관형 (tubule type)으로 구분된다 (Billard et al., 1982). 소엽형의 정소를 가지는 어류로는 자리돔, *Chromis notatus* (Lee and Lee, 1987), 쓸종개, *Plotosus lineatus* (Heo, 2002) 등이 있고 세관형의 정소를 가지는 어류로는 불볼락, *Sebastes thompsoni* (Lee et al., 1998), 동자개, *Pseudobagrus fulvidraco* (Lim and Han, 1997), 날개망둑, *Favonigobius gymnauchen* (Lee et al., 2000) 등이 있다. 자주복 정소의 내부조직상은 엽상형으로 각각 분리되는 소엽형에 속한다.

어류의 산란리듬 유형을 수온과 빛 등의 환경요인과 관련하여 봄 산란형 (spring spawner), 봄·여름 산란형 (spring-summer spawner), 여름 산란형 (summer spawner), 봄·가을 산란형 (spring-autumn spawner), 가을 산란형 (autumn spawner), 그리고 겨울 산란형 (winter spawner) 등의 6가지 형태로 나누고 있다 (Aida, 1991).

이 연구에서 육상수조에서 사육된 1-3년생 자주복의 생식소 발달 양상은, 수컷의 경우 수온이 하강하고, 일장이 점점 짧아지는 11월부터 활성화되기 시작하여 수온이 상승하고 일장이 길어지는 4월부터 7월사이에 방정이 이루어졌다. 암컷의 경우 수컷과 유사하게 4월부터 6월까지 난경 880 μm 전후의 난모세포 단계까지 발달하였으나 더 이상 발달하지 않고 퇴행되었다. 이러한 결과로 자주복은 봄·여름 산란형으로 생각되며, 산란에 영향을 미치는 환경요인은 수온상승과 광주기의 장일화가 주요한 작용 요인인 것으로 생각되어진다.

봄·여름 산란형 어류에는 그물코쥐치, *Rudarius ercodes* (Lee et al., 1984), 감성돔, *Acanthopagrus schlegeli* (Hwang, 1999), 그리고 말쥐치, *Thamnaconus modestus* (Lee et al., 2000) 등이 있다. 말쥐치에서는 수온 상승과 광주기 증가에

의해 산란이 개시되고, 고수온과 광주기 감소에 의해 산란 종료되며 (Lee et al., 2000), 그물코 쥐치에서는 생식소 성숙은 장일주기에 의해 개시되고 여기에 수온이 보상적 역할을 하여 산란에 이른다 (Lee et al., 1984).

어류의 난황단백질은 estrogen에 의하여 간에서 vitellogenin이 합성되어 (Aida et al., 1973) 혈액을 통하여 난 내로 들어와 축적되고 생식 활동에 이용된다 (Mommensen and Walsh, 1988; Wallace and Selman, 1990). 어류에 있어서 생식 세포의 발달과 밀접하게 연관되어 변화를 보이는 HSI의 월 변화는 수컷의 경우 GSI가 최고값을 가지는 4월에 HSI값이 감소하였고, 암컷의 경우 GSI의 상승하는 2월에 HSI값이 감소하였다.

자주복의 HSI의 변화양상은 수컷인 경우 이 시기에 정자형성과 방정 그리고 체 에너지 유지에, 암컷의 경우에는 난황물질의 축적과 이용에 관계된 것으로 사료된다. 이러한 변화는 간에서 생식소 발달에 관여하는 난황전구물질의 합성 및 저장시기와 간으로부터 난소에 공급되는 시기의 차이 그리고 각 어종에 따른 서식 습성 및 먹이관계에서 오는 체내영양에너지 축적의 차이에서 오는 것으로 보고하고 있다 (Lee and Lee, 1988).

자주복의 생식주기를 조사한 결과 1-3년생의 자주복에서는 암컷의 경우 방사선대가 형성되고, 세포질 내에 난황구와 유구들이 축적되어 난경 310-450 μm 의 성숙 난모세포들이 발달되었으나, 대부분이 성 성숙에 가입을 하지 못하고 퇴화되는 경향을 보였지만, 4월 한 개체에서만 방사선대가 두꺼워지고 세포질에 난황을 축적하여 난경이 880 μm 전후까지 발달한 성숙난을 관찰할 수 있었으며, 수컷의 경우 변태된 정자들이 무리를 지어 나타나서 기능적 성 성숙에 도달하였다. 이와 유사한 결과는 Yang et al.,(1994)이 보고한 만 2년생에서의 수컷은 첫 성숙이 일어나지만, 암컷은 첫 성숙이 일어나지 않는 것과 일치하였다.

환경요인의 인위적 조절에 의한 조기 산란 유도에서 넙치의 경우 수온 13 $^{\circ}\text{C}$ 전후에서 광주기를 14L/10D에서 14.5L/9.5D로 전환 시켰을 때 조기 산란이 유도되었고 (Kim and Hur, 1991), 참돔에서는 수온 12.2 $^{\circ}\text{C}$ 에서 16.5 $^{\circ}\text{C}$ 로 상승시키고 광주기를 11L/13D에서 14L/10D로 전환될 때 1개월 정도 조기 채란이 가능하였으며 (Kim and Kim, 1990), 돌돔에서는 수온 14.5 $^{\circ}\text{C}$ 에서 21.0 $^{\circ}\text{C}$ 으로 상승시키고 광주기는 10.5L/13.5D에서 15.5L/8.5D로 전환될 때 4개월 정도 조기 채란 되었다 (Kim et al., 2000).

광주기 조절을 통한 인위적인 성 성숙 유도 실험 결과 암컷의 경우 대조구와

APE I의 처음 sample에서는 160 μm 전후의 난모세포들이 분포하기 시작하여 최종 sample에서는 340-370 μm 전후의 난모세포들이 분포하였고, APE II는 처음 sample에서는 300-340 μm 의 성숙기 난모세포단계였고, 최종 sample에서는 난황과립들이 축적되어 350-400 μm 의 난모세포들이 분포하였다. 수컷의 경우 대조구에서 처음 sample에서는 정소 소엽 내에 정모세포군, 정세포군, 소수의 정자들이 분포하는 성장단계에서, 최종 sample에서는 정소 소엽 내에 정세포군이 변태되어 정자 무리를 형성한 성숙단계를 보였고, APE I, II 모두 최종 sample인 11.5L/12.5D에서 퇴화·흡수하는 개체들이 나타났다. 난소의 경우 APE I에는 대조구보다 45일 먼저 성숙 난모세포들이 분포하였으나 APE II에는 대조구와 유사한 난모세포 발달양상을 보였다. APE II의 양상은 처음 sample한 APE II의 암컷 난소가 이미 난소 내 난모세포로 활성이 시작된 시기에 기인한 것으로 사료된다. 반면에 정소의 경우 APE I, II의 정자 형성과정이 대조구 보다 일찍 활성화 되어 난모세포의 경우와 차이를 보였다.

5년생 (3247.2 g) 자주복에서는 2월 11일 12L/12D에서 $899.8 \pm 45.5 \mu\text{m}$ 에서 3월 12일 14L/10D로 전환시킨 후 4월 2일에서의 난모세포는 $1065.8 \pm 55.8 \mu\text{m}$ 의 성숙난들이 분포하였다 (Fig. 11).

경골어류의 난형성은 수온 및 광주기 등 환경요인이 시상하부-뇌하수체-생식소로 이어지는 내분비계의 호르몬 분비를 촉진 또는 억제함으로써 조절된다 (Peter et al., 1991). 그리고 어류의 성숙과 산란리듬은 광주기와 월주기에 따라서 멜라토닌의 분비 활성이 일어나 이들이 GnRH, GTH에 간접적이 작용을 한다고 보고되고 있다 (Niall et al., 2001). 따라서 시상하부에서 환경정보 및 내적 요인들이 종합되어 생식소자극호르몬방출호르몬 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH)의 합성 및 분비를 조절하고, 이 GnRH의 자극으로 뇌하수체에서 생식소자극호르몬 (gonadotropin, GTH)이 분비되어 암컷의 난소 내 난모세포를 둘러싸고 있는 여포세포의 자극을 통해 생성되는 성스테로이드 호르몬에 의하여 난형성 과정이 조절되는데 (Lee, 1998), 이때 난소 여포의 과립막세포에서 생성되는 estradiol-17 β (E2)에 의해 간에서 난황전구체가 합성되어 순환계를 통해서 난모세포에 축적되어 성장하게 되고, 정소는 뇌하수체에서 생성, 분비되는 GTH의 자극에 의해서 스테로이드호르몬을 생성한다. 그중 T와 11-K은 간질조직 (interstitial tissue)중의 스테로이드 생성세포인 interstitial cell에서 생성되어 정자 형성과 2차 성징발현에 관여하고 있다 (Nakamura et al., 1998; Lee et al., 2000). 3년생

자주복 암컷에서 한 개체를 제외한 대부분 암컷의 난모세포가 퇴화되어 성숙에 가입하지 않는 원인은 생식내분비계의 활성화에 따른 것으로 사료되나 생식 생리적인 측면에서 심도 있는 조사가 요구된다.



V. 요약

이 연구는 자주복 성 성숙 제어를 통한 인공수정란 생산을 위하여 수조에서 사육하는 자주복의 배우자형성과정, 생식소 발달단계 및 생식주기를 조사하고, 광주기를 통해서 어미의 성 성숙 유도 가능성을 탐색하였다.

1. GSI 월별변화는 수컷과 암컷 모두 4월 (수온 17.4℃, 광주기 13L/11D)에 11.91±3.01, 3.23±2.61로 최대값을 가졌다. HSI 월별변화는 수컷은 11월에 10.98±0.54로 증가하기 시작하여 5월에 13.80±1.32로 최대값이었고, 암컷은 4월부터 12.38±2.88로 증가하기 시작하여 6월에 14.6±1.08로 최대값을 보였다.
2. 1-3년생 자주복 생식소의 조직학적 월별변화는 암컷은 성장기 (7-6월), 성숙기 (11-4월), 퇴행기 (4-6월)로 구분할 수 있었고, 수컷은 성장기 (7-3월), 성숙기 (11-6월), 방정기 (2-7월), 퇴화 및 회복기 (5-8월)로 구분되었다.
3. 3년생 자주복의 광주기 조절을 통한 인위적 성 성숙 유도 실험에서 난소는 난경 350-400 μm 까지 발달하였고, 정소는 정자가 방출되어 퇴화·흡수 되었다.
4. 5년생 (3247.2 g)인 자주복에서는 2월 11일 12L/12D에서 899.75±45.45 μm 의 난모세포들이 관찰되었고 3월 12일 14L/10D로 전환시킨 후 4월 2일에서의 난모세포는 1065.80±55.75 μm 의 성숙난들이 분포하였다.

VI. 참고문헌

- Aida, K., 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. Japan Soc. Sci. Fish., 39: 1091-1106.
- Aida, K. 1991. Environmental regulation of reproductive rhythms in teleostei. Bull. Inst. Zool., Academia Sinica, Monograph., 16: 173-187.
- Billard, R., A. Fostier, C. Weil and B. Breton. 1982. Endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. Can. J. Fish. Aquaculture Sci., 39: 65-79.
- Heo, S.I. 2002. Studies on the reproductive cycle of the stripe-eel catfish, *Plotosus lineatus*(Thunberg). MS. Thesis, Cheju Nat 'l. Univ., 27pp. (in Korean)
- Hoar, W.S. 1957. The gonad and reproduction. In: Brown, M. E. (ed.), The physiology of fishes. Academic press. New York, pp. 287-321.
- Hwang, S.I. 1999. Artificial control in sex and reproductive cycle of black seabream, *Acanthopagrus schlegeli*. Ph. D. Thesis Cheju Nat 'l. Univ., 97pp. (in Korean)
- Kim, B.W., O.S. Na, C.B. Park, H.B. Go, B.S. Kang, Y.C. Choi and Y.D. Lee. 2003. Development of the digestive tract in tiger puffer, *Takifugu rubripes*. Dev. Reprod., 7(1): 29-34. (in Korean)
- Kim, H.B. and J.M. Kim. 1990. Induced spawning of red sea bream, *Pagrus major*, by controlling photoperiod and water temperature. Korean J. Aqua., 3(1): 1-11. (in Korean)
- Kim, S.Y., I.C. Bang and S.M. Kim. 2000. Sexual maturation inducement of striped knife-jaw, *Oplegnathus fasciatus* by manipulating environmental condition. Korean J. Ichthyol., 12(1): 46-53. (in Korean)
- Kim, Y. and S.B. Hur. 1991. Spawning inducement of flounder, *Paralichthys olivaceus* by the control of water temperature and photoperiod. Korean J. Aqua., 4(2): 85-95. (in Korean)

- Ko, H.B. and S. Rho. 1996. Low salinity tolerance of eggs and juveniles of tiger puffer, *Takifugu rubripes*. Korean J. Aqua., 9(1): 43-55. (in Korean)
- Lee, J.K., H.K. Lim, C.H. Han, J.H. Jeung, D.J. Kim and K. Aida. 2000. Changes of gonadosomatic index and sex steroid hormone of serum in cultured greenling (*Hexagrammos otakii*). J. Korean Fish. Soc., 33(4): 302-306. (in Korean)
- Lee, J.S., C.H. An and S.H. Huh. 1998. Reproductive cycle of the rockfish, *Sebastes thompsoni* (Teleostei: Scorpaenidae). J. Korean Fish. Soc., 31(1): 8-16. (in Korean)
- 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*. J. Korean Fish. Soc., 33(3): 219-224. (in Korean)
- Lee, S.J., Y.B. Go, Y.D. Lee, J.H. Jung and C.H. Han. 2000. Annual reproductive cycle of the file fish, *Thamnaconus modestus*, on the southern coast of cheju island. Korean J. Ichthyol., 12(1): 71-84. (in Korean)
- 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 Fish. Soc., 17(6): 523-528. (in Korean)
- Lee, W.K. 1998. Annual reproductive cycle and changes in plasma levels of sex steroid hormones of the female korean dark sleeper, *Odontobutis platycephala* (Iwata et Jeon). J. Korean Fish. Soc., 31(4): 559-607. (in Korean)
- Lee, Y.D. and T.Y. Lee. 1987. Studies on the reproductive cycle of damselfish, *Chromis notatus*. Bull. Korean Fish. Soc., 20: 506-519. (in Korean)
- Lee, Y.D. and T.Y. Lee. 1988. Activity of the liver and gonadotrophic cells with sexual maturation of damselfish, *Chromis notatus*. Bull. Mar. Res. Inst. Cheju Nat. Univ., 12: 73-78. (in Korean)
- Lim, S.K. and C.H. Han. 1997. Annual reproductive cycle of the banded catfish, *Pseudobagrus fulvidraco* (Richardson). J. Korean Fish. Soc., 30(5): 823-833. (in Korean)

- Mommsen, T.P. and P.J. Walsh. 1988. Vitellogenesis and oocyte assemble. In Fish physiology, Vol. 11A, W.S. Hoar and D.J. Randall, ed. Academic Press. New York, pp. 347-406.
- Nakamura, M., T. Kobayashi, X.T. Chang and Y. Nagahama. 1998. Gonadal sex differentiation in teleost fish. J. Exp. Zool., 281: 362-373.
- Niall Bromage., Mark Porter and Clive Randall. 2001. The environmental regulation of maturation in farned finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. Aquaculture, 197: 63-98.
- Peter, R.E., V.L. Trudeau and B.D. Sloley. 1991. Brain regulation of reproduction in teleost. Bull. Inst. Zool., Academia Sinsca, Monograph, 16: 89-118.
- Pyen, C.K. and S. Rho. 1970. Breeding of the puffer, *fugu rubripes*. Bull. Korean Fish. Soc., 3(1): 52-64.
- 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.
- Wallace, R.A. and K. Selman. 1990. Ultrastructure aspects of oogenesis and oocyte growth in fish and amphibians. J. Electron Microsc., 16: 175-201.
- Yang, S.G., 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*. Korean J. Aqua., 11(4): 189-205. (in Korean)
- 藤田失郎. 1962. 日本産主要フグ類の生活史と養殖に関する研究. 長崎縣水産試験場 論文集., 2: 13-31.
- 北田哲夫 · 北島 力. 1982. トラフグの 種苗生産實驗. 長崎縣水試事報., 57: 238-247.
- 北田哲夫 · 北島 力. 1983. トラフグの 種苗生産實驗. 長崎縣水試事報., 58: 170-177.
- 反町稔. 2002. 수산증양식 연구개발의 현황과 앞으로의 방향. 제13회 해양수산자원 배양에 관한 연구자 협의회, 2002. 11.7-11. 8, 부산, 한국

정문기. 1977. 한국어도보. 일지사, pp. 601-602.



감사의 글

삶의 한 계단을 올라서면서 뒤돌아 볼 수 있는 여유와 새로운 출발에 대한 기대로 흥분되는 이 시점에서, 지금까지 내가 여기까지 올 수 있게 따끔한 가르침과 부드러운 격려로 지도해주신 이영돈 교수님께 진심으로 감사드립니다.

바쁘신 중에도 저의 부족한 논문에 관심을 가지고 정성스럽게 다듬어주신 노섬 교수님과 사조 CS (주) 제주양식장 강법세 이사님께 감사드리고, 또한 관심과 조언을 아끼지 않고 지도해주신 정상철 교수님, 이기완 교수님, 최광식 교수님, 이경준 교수님께 감사드립니다.

실험을 할 수 있게 많은 조언과 도움을 주신 사조 CS (주) 박길수 대표 이사님, 고환봉 차장님, 고영수 선배님, 김형철 선배님을 비롯한 양식사업팀 가족여러분께 감사드립니다.

항상 아낌없는 격려와 힘을 실어주신 강도형 선배님, 최영웅 선배님, 운영석 선배님에게 감사드리고, 아울러 시설과 기자재를 이용하여 연구수행에 큰 도움을 주신 해양과환경연구소 강태연 선생님, 김봉길 선생님, 고성대 선생님, 변수철 선생님을 비롯하여 직원 여러분께 감사드립니다.

그리고 항상 곁에서 같이 동거동락하며 사소한 것까지 신경써주신 발생학 실험실 식구들인 김병호 형님, 나오수 형님, 오성립 형님, 김성준 형님, 임봉수 형님, 송영보 형님, 김봉원 형님, 이치훈 형님, 고호진 형님, 김한준 형님, 최정권 형님, 박창범 형님, 고범호 형님, 강지웅 형, 진영석 형, 그리고 상우, 성민, 문수, 성표, 권우, 재형과 외국에서 공부하고 있는 박용주 형님과 문순주 누님에게 감사드립니다.

마지막으로 지금까지 이 조그마한 결실을 얻을 수 있도록 어려운 여건 속에서도 아무 말 없이 사랑으로 뒷바라지 해주신 부모님에게 진심으로 감사드리고, 막내인 저를 이해하고 마음의 든든함을 갖게 해주신 형님가족들과 누님 가족들에게도 진심으로 감사드립니다.