

[Note]

## 해면연어의 성숙을 유도하기 위한 시상하부호르몬의 이용

박우동 · 이철호<sup>1</sup> · 손영창\*

강릉대학교 해양생명공학부  
<sup>1</sup>국립수산과학원 영동내수면연구소

### Utilization of Hypothalamic Hormones for Maturation Induction in Seawater Chum Salmon, *Oncorhynchus keta*

WOODONG PARK, CHEUL HO LEE<sup>1</sup> AND YOUNG CHANG SOHN\*

Faculty of Marine Bioscience and Technology, Kangnung National University, Gangneung, Gangwon 210-702, Korea  
<sup>1</sup>Yeongdong Inland Fisheries Research Institute, National Fisheries Research and Development Institute, Gangwon 215-821, Korea

강원도 양양군 연안으로 회귀한 성숙종의 연어(*Oncorhynchus keta*)를 국립수산과학원 영동내수면연구소로 수송하고 담수에 1일 이상 순치시킨 후, GnRH 유사체(GnRH-a)와 시상하부 도파민수용체의 길항제인 pimozide를 복강에 주사하여 생식소중량지수[GSI, (생식소중량/체중량)×100]와 간중량지수[HSI, (간중량/체중량)×100]의 변화를 조사하였다. GnRH-a와 pimozide는 각각 70 µg 및 700 µg/kg 어체중 농도로 단독 또는 혼합주사하여 주사후 7일까지 조사하였다. 2004년도의 실험에서는 GSI의 유의적인 변화가 없었다. 2005년도에도 유의적인 변화가 없었지만, 5일째 및 7일째에는 호르몬 주사군에서 약간 증가하는 경향이 관찰되었다. HSI는 주사후 7일째에 대조군에 비하여 GnRH-a 주사군 및 pimozide 혼합 주사군에서 유의적으로 감소하였다 (2004년;  $P<0.05$ ). 2005년도에도 호르몬 주사군에서 HSI는 전체적으로 감소하는 결과이었으나, GnRH-a 주사후 7일째의 연어에서만 유의적으로 감소하였다 ( $P<0.05$ ). pimozide를 단독주사 한 2005년도의 실험에서는 유의차는 없었지만, GSI는 증가하고 HSI는 감소하였다. 따라서, 성숙중인 해면연어가 연안에서 포획되었을 경우에는 담수에 일시적으로 순치시킨 다음, 시상하부호르몬 및 도파민 길항제를 주사하면 최종성숙을 조기에 유도할 수 있음이 부분적으로 시사되었으며, 향후 이에 대한 효과가 검증될 수 있게 되기를 바란다.

Freshwater-adapted maturing chum salmon (*Oncorhynchus keta*) involuntarily captured by stationary nets in Yang-yang seashore areas were transferred to freshwater in an outdoor raceway tank at Yeongdong Inland Fisheries Research Institute, NFRDI, Yang-yang, Gangwon, Korea and kept over 1 day until the start of the experiments. The freshwater-adapted females were single-injected intraperitoneally with gonadotropin-releasing hormone analogue, (GnRH-a; 70 µg/kg body weight, BW) alone or combined with a dopamine receptor antagonist, pimozide (700 µg/kg BW). Although gonadosomatic indices [GSI, (gonad weight/BW)×100] did not show significant changes in both 2004 and 2005, GSI of GnRH-a-injected fish during the 2005 trial slightly increased on the 5th and 7th days post-injection compared to those of vehicle treated fish. Hepatosomatic indices [HSI, (liver weight/BW)×100] of fish injected with GnRH-a alone and combined with pimozide decreased significantly on the 7th day post-injection in 2004 ( $P<0.05$ ). In 2005 trials, HSI was significantly reduced in GnRH-a treated fish on the 7th day post-injection ( $P<0.05$ ). Pimozide-injected fish showed a pattern with increase of GSI and decrease of HSI, without significant differences. Taken together, these results suggest that at least in part hypothalamic hormones and dopamine receptor antagonist may induce sexual maturation in freshwater-adapted maturing chum salmon. It remains to evaluate these preliminary results by further researches.

**Keywords:** Chum Salmon, Freshwater Adaptation, Hypothalamic Hormone, Gonadosomatic Index, Hepatosomatic Index

\*Corresponding author: ycsohn@kangnung.ac.kr

어류의 번식활동은 뇌-뇌하수체-생식선로 이어지는 내분비기관이 주로 담당하고 있으며, 그 중에서 뇌의 시상하부에서 생성되는 생식선자극호르몬 방출호르몬(gonadotropin-releasing hormone, GnRH), 뇌하수체에서 합성되는 생식선자극호르몬(GTH) 및 생식선에서 분비되는 성호르몬은 생식선 발달에 매우 중요한 역할을 하고 있다(Yaron *et al.*, 2003). 또한, 외부환경요인 및 생식선에서 분비되는 내분비정보물질은 뇌의 생식중추에 통합되어 배우자형성을 조절한다고 알려져 있다. GnRH는 뇌하수체로부터 생식선자극호르몬의 분비를 자극하고 생식선자극호르몬은 난소로부터 성숙유도스테로이드의 합성과 최종성숙 및 배란을 자극한다(Nagahama *et al.*, 1983; Nagahama and Adachi, 1985). 한편, GTH 생산과 분비를 억제하는 신경전달물질이나 성숙억제성인자들이 존재하는데 그 중에서 대표적인 인자가 dopamine으로 알려져 있다(Chang and Peter, 1983; Chang *et al.*, 1984; Yaron *et al.*, 2003). dopamine이 GnRH의 GTH방출효과를 억제하여 그 이후의 과정, 즉 생식선의 발달과 성스테로이드의 분비를 억제하게 된다(Dufour *et al.*, 2005).

어류의 성숙촉진 또는 억제물질에 관한 기초적인 지식의 축적은 경골어류의 성숙촉진 유도를 용이하게 하며, 자원조성 및 수산양식 산업현장에서 유용하게 응용된다. 실제로 인공적인 사육조건이나 양식과정에서 어류의 자연적인 성숙이 유도되지 않는 경우, 난모세포의 최종성숙과 산란을 유도하기 위해서 호르몬 제어를 통한 성숙조절방법이 사용되어 왔다(Zohar and Mylonas, 2001). 특히 호르몬의 반감기를 연장시킨 GnRH유사체는 연어과 어류를 포함한 다양한 경골어류의 산란과 성숙을 유도한다고 알려져 있다(Slater *et al.*, 1995; Berlinsky *et al.*, 1996; Larsson *et al.*, 1997; Mylonas *et al.*, 1998). 또한, pimoizide는 도파민수용체의 길항제로 작용하여 어류의 자연산란을 촉진하는데 효과적인 것으로 밝혀져 있다(Billard *et al.*, 1984; Tan-Fermin *et al.*, 1997; Dufour *et al.*, 2005).

연어과 어류는 하천에서 부화되어 해양에서 성장하고 산란하기 위해서 모천으로 회귀하는 습성이 잘 알려진 소하성 회유어이다. 최근, 강원도 양양 남대천으로 소상하는 연어(*Oncorhynchus keta*)의 회귀율은 부침현상이 빈번히 발생하여 매년 안정된 종묘생산량을 확보하는데 어려움이 있다. 또한, 인근 동해안 연안에 설치된 정지망에 포획되어 친어의 소상율이 감소하고 있는 실정이다. 최근, 정지망에 채포된 해면연어를 담수에 순치하면 서서히 성숙하지만, 성숙된 난모세포로 발달하기 전에 물곰팡이 등의 기생생물에 의해 친어가 사망하는 비율이 매우 높은 현상을 관찰하였다. 따라서 담수에 순치된 친어의 성숙을 조기에 유도할 수 있는 방법이 필요한 실정이다. 본 연구에서는 연어의 종묘생산성을 극대화하고 안정적으로 치어를 방류하기 위한 연구의 일환으로, 해안의 정지망에서 포획된 성숙과정중의 해면연어를 담수에 순치시킨 후에 시상하부 호르몬을 주사하여 생식소의 발달을 조사하였다.

본 연구에서는 2004년 및 2005년 10월 강원도 양양군 연안에 설치된 정지망으로 유입된 해면연어를 구입하여 국립수산물과학원 영동내수면연구소(국립수산물과학원 동해수산연구소 연어연구센터)의 레이스웨이형 콘크리트제 담수사육시설(14.2-16.0)에 자연일장조건으로 1일 이상 순치시켰다. 순치 후, 암컷 연어를 선별하고 2-phenoxyethanol(0.5 ml/L; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA)를 사용하여 마취시킨 다음, GnRH analogue (GnRH-a; des-Gly<sup>10</sup>[D-Ala<sup>6</sup>]-luteinizing hormone releasing hormone ethylamide, Sigma-

Aldrich) 단독 또는 pimoizide(PIM, Sigma-Aldrich)와 혼합하여 복강에 주사하였다. GnRH-a와 PIM은 Freund's incomplete adjuvant (FIA; Difco, Detroit, MI, USA)와 혼합하여 0.25 ml 주사하였다. 주사액 중의 GnRH-a와 PIM의 최종농도는 각각 70 µg/kg body weight(BW) 및 700 µg/kg BW이었다(22-30 마리/그룹). 주사 후 2, 5, 7일째에 2-phenoxyethanol을 사용하여 각각 5-10마리씩 마취시킨 후 체장과 체중을 측정하고 다음, 해부하여 생식소와 간의 무게를 측정하고 생식소중량지수(GSI)와 간중량지수(HSI)를 다음과 같이 계산하였다.

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

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

또한 호르몬이 포함되지 않은 FIA를 동등량 주사하였으며, 해면 암컷연어(실험 최종일에 조사)와 함께 대조군으로 설정하여 조사하였다. 자료의 통계학적 분석은 SPSS(V.12) 통계패키지를 이용하여 one way-ANOVA에 의한 분산분석을 실시하고 Duncan의 다중검정으로 유의성을 검정하였다( $P < 0.05$ ).

GnRH-a 단독주사 또는 PIM을 혼합 주사한 후, 2, 5 및 7일째 생식소중량지수(GSI)의 변화는 Fig. 1에서 나타내고 있다. 2004년도

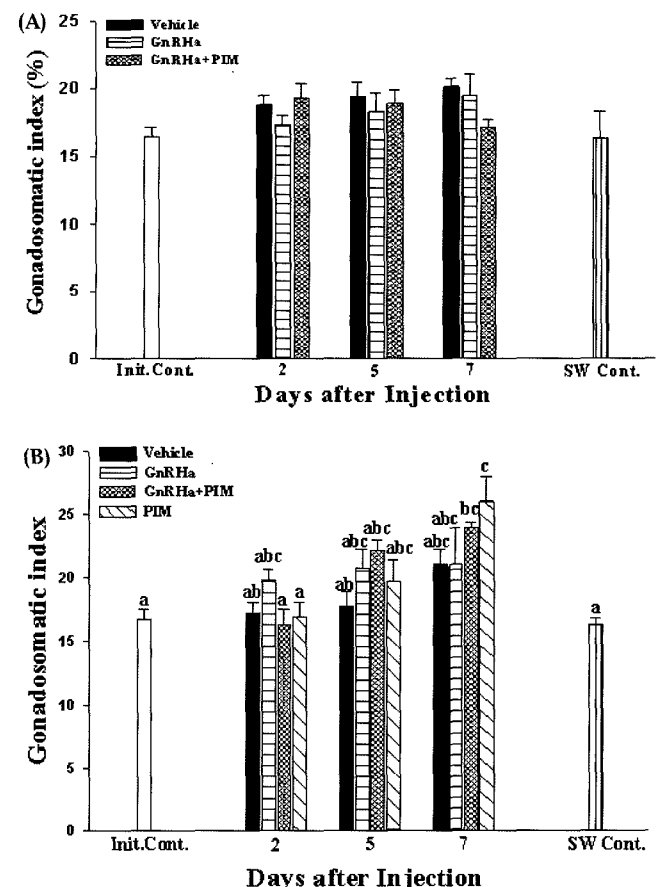


Fig. 1. Changes of gonadosomatic index (GSI) in freshwater-adapted female chum salmon in 2004 (A) and 2005 (B). Vertical bars represent the mean±SEM. Init.Cont and SW cont indicate initial control fish in freshwater and seawater control fish, respectively. Significant differences at  $P < 0.05$ .

에는 호르몬 투여그룹에서 7일째까지 GSI의 유의적인 변화가 없었다. 2005년도에도 대조군과는 유의적인 변화가 없었지만, 5일째 및 7일째에는 호르몬 주사군에서 약간 증가하는 경향이 관찰되었다. 또한, PIM을 단독주사한 그룹에서도 유의적인 증감을 관찰할 수 없었지만, 7일째에는 GSI의 증가가 기록되었다. 2005년도에는 실험시작전 담수순치 대조군(Init. Cont.)과 해면연어 대조군(SW Cont.)에 비하여 GnRH-a와 PIM 혼합주사군 그리고 PIM 단독주사군에서 GSI의 유의적인 증가가 관찰되었다( $P < 0.05$ ). 2004년도와 2005년도 실험의 차이점으로는 호르몬이 주사된 2004년도의 실험어는 주사 후 5일 이전에 이미 산란이 유발된 개체가 관찰되었기 때문에 비교적 대조군과 유사하거나 또는 더 낮은 GSI가 기록되었으며, GSI가 증가된 2005년도의 실험과는 상이한 결과가 관측된 것으로 추정된다. 2005년도의 결과를 기준으로 고찰하면, 담수에 일시적으로 순치된 연어는 서서히 난소의 성숙이 진행되며 GnRH-a와 PIM을 주사하게 되면 해안으로 접안한 연어에 비하여 성숙이 보다 빠르게 진행되는 것을 알 수 있었다. 성성숙의 지표가 되는 GSI의 증가는 주로 난모세포의 흡수현상에 의하여 생식소의 중량이 증가하는 것으로 알려져 있다(Craik, 1982). 한편, 연어과 어류는 최종성숙기에는 성호르몬의 급격한 변화가 알려져 있다. 해면연어를 4-7일 간 담수에 순치시킨 경우에도 혈중 성호르몬(estradiol-17 $\beta$ , testosterone)이 감소하며 최종성숙유기호르몬의 증가가 관찰되었으므로(Hirano et al., 1990; Onuma et al., 2003), 담수에 일시적으로 적응시키는 것만으로도 다소간 성성숙을 촉진시킬 수 있음을 시사하고 있다. 따라서, GnRH-a와 PIM을 주사한 담수에 일시적으로 순치한 해면연어는 비교적 짧은 기간내에 (1주일이내) 성성숙이 유도되어 산란할 수 있었다고 추정할 수 있다. 실제로 이와 같은 방법에 의하여 해면연어의 산란이 유도되어 주사후 5일째부터 비교적 높은 배란율(> 66%)이 관찰되었다(박 등, 미발표 데이터). 향후, 해면연어의 생식소의 발달과 배란에 관한 연구가 지속적으로 이루어지기를 기대한다.

간중량지수(HSI)는 주사후 7일째에 대조군에 비하여 GnRH-a 주사군에서 유의적으로 감소하였다(Fig. 2; 2004년도,  $P < 0.05$ ). 2005년도에도 또한 호르몬 주사군에서 HSI는 전체적으로 감소하는 결과였으며, 유의성 검정에서는 GnRH-a 주사후 7일째의 연어에서 유의적으로 감소하였다( $P < 0.05$ ). PIM을 단독으로 주사한 2005년도의 실험에서 유의차는 없었지만, HSI는 감소하는 결과가 얻어졌다. 실험시작전 담수순치 대조군과 비교하였을 경우, 통계학적인 유의차는 없었지만 HSI는 감소하였으며, 2005년도의 실험에서는 7일째 GnRH-a 주사군이 해면연어와 비교해서 유의적으로 감소되었다( $P < 0.05$ ). HSI는 연어과 어류를 포함한 경골어류에서 성성숙의 진행과 매우 밀접한 관계를 가지고 있음이 알려져 있다. 특히, 난모세포가 미숙한 시기에 여성호르몬 estradiol-17 $\beta$  주사하였을 경우 미성숙한 어류의 HSI가 증가하며 간의 난황단백전구물질의 합성과 혈중 분비가 증가하지만(Benfey et al., 1989; Carragher and Sumpter 1991), 성성숙이 진행된 최종성숙기에 인접한 어류의 HSI는 GSI와 반비례하여 감소한다고 알려져 있다(Yoneda et al., 1998; Galloway and Munkittrick, 2006). 이와 같은 간중량의 감소는 에너지원으로 축적된 글리코겐의 급격한 분해와 난모세포로의 이동에 그 원인이 있을 것으로 추정된다. 연어과 어류에서는 실제로 간의 글리코겐 함량이 성성숙에 따라 급격히 감소되며 당의 신생합

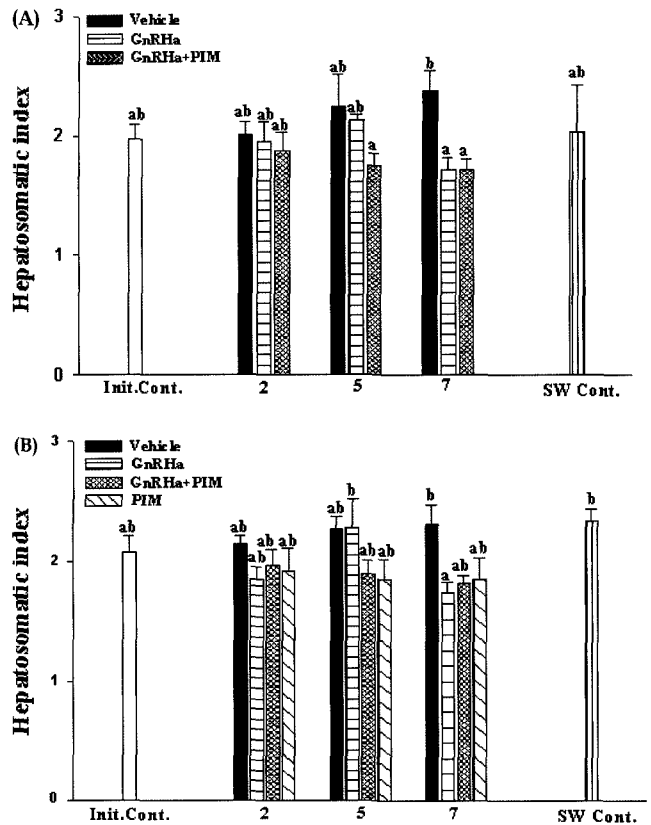


Fig. 2. Changes of hepatosomatic index (HSI) in freshwater-adapted female chum salmon in 2004 (A) and 2005 (B). Other notes are indicated in Fig. 1.

성(gluconeogenesis) 활성이 난모세포의 성숙기에는 억제된다고 알려져 있다(Whiting and Wiggs, 1978; Soengas et al., 1993). 또한 이 시기에는 생식소의 글리코겐 함량이 증가된다(Soengas et al., 1993), 따라서 본 연구에서 조사된 GnRH-a 및 PIM이 주사된 성숙 연어의 HSI 감소는 간의 글리코겐 함량이 급격히 감소되었을 가능성을 시사하고 있다.

본 연구결과는 성숙중인 해면연어가 강 하구로 이동하는 과정에서 연안에 설치된 정치망등의 고정구조물에 포획되었을 경우에는 담수에 일시적으로 순치시킨 다음, GnRH-a 및 PIM과 같은 시상하부호르몬 또는 도파민억제성 길항제로 난모세포의 최종성숙을 조기에 유도할 수 있음을 시사하고 있다. 또한, 연어의 생물학적 자원을 안정적으로 제공할 수 있는 방법을 모색할 수 있는 데에도 기여할 것으로 기대된다.

## 사 사

본 논문을 위해 현장 작업을 함께 한 국립수산과학원 영동내수면연구소의 직원분들에게 감사드립니다. 저자 박우동은 학술진흥재단 2단계 BK21핵심사업팀의 수혜대학원생임을 밝히며 이에 사의를 표합니다. 본 논문은 국립수산과학원 연어 자원증강 및 보존연구(RP-2007-FR-016)의 지원으로 수행되었습니다.

## 참고문헌

- Benfey, T.J., H.M. Dye and E.M. Donaldson, 1989. Estrogen-induced vitellogenin production by triploid coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), and its effect on plasma and pituitary gonadotropin. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **75**: 83–87.
- Berlinsky, D.L., V.W. King, T.I.J. Smith, R.D. Hamilton, J. Holloway and C.R. Sullivan, 1996. Induced ovulation of Southern flounder *Paralichthys lethostigma* using gonadotropin releasing hormone analogue implants. *J. World Aquacult. Soc.*, **27**: 143–152.
- Billard, R., P. Reinaud, M.G. Hollebecq and B. Breton, 1984. Advancement and synchronisation of spawning in *Salmo gairdneri* and *S. trutta* following administration of LRH-A combined or not with pimozone. *Aquaculture*, **43**: 57–66.
- Carragher, J.F. and J.P. Sumpter, 1991. The mobilization of calcium from calcified tissues of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced to synthesize vitellogenin. *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, **99**: 169–172.
- Chang, J.P. and R.E. Peter, 1983. Effects of pimozone and Des Gly<sup>10</sup>, (D-Ala<sup>6</sup>) luteinizing hormone releasing hormone ethylamide on serum gonadotropin concentrations, germinal vesicle migration and ovulation in female goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **52**: 30–37.
- Chang, J.P., R.E. Peter and L.W. Crim, 1984. Effects of dopamine and apomorphine on gonadotropin release from the transplanted pars distalis in goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **55**: 347–350.
- Craik, J.C.A., 1982. Levels of phosphoprotein in the eggs and ovaries of some fish species. *Comp. Biochem. Physiol. Part B*, **72**: 507–510.
- Dufour, S., F.A. Weltzien, M.E. Sebert, N. Le Belle, B. Vidal, P. Vernier and C. Pasqualini, 2005. Dopaminergic inhibition of reproduction in teleost fishes: ecophysiological and evolutionary implications. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **1040**: 9–21.
- Galloway, B.J. and K.R. Munkittrick, 2006. Influence of seasonal changes in relative liver size, condition, relative gonad size and variability in ovarian development in multiple spawning fish species used in environmental monitoring programmes. *J. Fish Biol.*, **69**: 1788–1806.
- Hirano, T., T. Ogasawara, S. Hasegawa, M. Iwata and Y. Nagahama, 1990. Changes in plasma hormone levels during loss of hypoosmoregulatory capacity in mature chum salmon (*Oncorhynchus keta*) kept in seawater. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **78**: 254–262.
- Larsson, D.G.J., C.C. Mylonas, Y. Zohar and L.W. Crim, 1997. Gonadotropin-releasing hormone analogue GnRH-A induces multiple ovulations of high-quality eggs in a cold-water, batch-spawning teleost, the yellowtail flounder *Pleuronectes ferrugineus*. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **54**: 1957–1964.
- Mylonas, C.C., L. Curry Woods III, P. Thomas and Y. Zohar, 1998. Endocrine profiles of female striped bass *Morone saxatilis* in captivity, during postvitellogenesis and induction of final oocyte maturation via controlled-release GnRH-a-delivery systems. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **110**: 276–289.
- Nagahama, Y., K. Hirose, G. Young, S. Adachi, K. Suzuki and B. Tamaoki, 1983. Relative in vitro effectiveness of 17 alpha, 20 beta-dihydroxy-4-pregnen-3-one and other pregnene derivatives on germinal vesicle breakdown in oocytes of ayu (*Plecoglossus altivelis*), amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*), rainbow trout (*Salmo gairdneri*), and goldfish (*Carassius auratus*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **51**: 15–23.
- Nagahama, Y. and S. Adachi, 1985. Identification of maturation-inducing in a teleost, the amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*). *Dev. Biol.*, **109**: 428–435.
- Onuma, T., T. Kitahasi, S. Taniyama, D. Saito, H. Ando and A. Urano, 2003. Changes in expression of genes encoding gonadotropin hormone subunits and growth hormone/prolactin/somatolactin family hormones during final maturation and freshwater adaptation in prespawning chum salmon. *Endocrine*, **20**: 1–11.
- Slater, C.H., C.B. Schreck and D.F. Amend, 1995. GnRH-a injection accelerates final maturation and ovulation/spermiation of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in both fresh and salt water. *Aquaculture*, **130**: 279–285.
- Soengas, J.L., B. Sanmartin, P. Barciela, M. Aldegunde and G. Rozas, 1993. Changes in carbohydrate metabolism related to the onset of ovarian recrudescence in domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp. Biochem. Physiol. Part A*, **105**: 293–301.
- Tan-Fermin, J.D., R.R. Pagador and R.C. Chavez, 1997. LHRHa and pimozone-induced spawning of Asian catfish *Clarias macrocephalus* (Gunther) at different times during an annual reproductive cycle. *Aquaculture*, **148**: 323–331.
- Whiting, S.J. and A.J. Wiggs, 1978. Effect of sexual maturation and estradiol-17-β on liver glycogen and tyrosine aminotransferase activity of brook trout, *Salvelinus fontinalis* Mitchell. *Comp. Biochem. Physiol. Part B*, **60**: 463–465.
- Yaron, Z., G. Gur, P. Melamed, H. Rosenfeld, A. Elizur and B. Levavi-Sivan, 2003. Regulation of fish gonadotropins. *Int. Rev. Cytol.*, **225**: 131–185.
- Yoneda, M., M. Tokimura, H. Fujita, N. Takeshita, K. Takeshita, M. Matsuyama and S. Matsuura, 1998. Reproductive cycle and sexual maturity of the anglerfish *Lophiomus setigerus* in the East China Sea with a note on specialized spermatogenesis. *J. Fish Biol.*, **53**: 164–178.
- Zohar, Y. and C.C. Mylonas, 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, **197**: 99–136.

2007년 3월 26일 원고접수

2007년 4월 13일 수정본 채택

담당편집위원: 강수경