

쥐노래미, *Hexagrammos otakii*의 난소발달에 따른 성 스테로이드 호르몬의 활성 변화

황인준·김성연¹·백혜자*

부경대학교 자원생물학과, ¹국립수산과학원 양식연구본부 양식관리팀

Activity of Sex Steroid Hormones on Ovarian Development in the Greenling *Hexagrammos otakii*

In Joon HWANG·Sung Yeon KIM¹·Hea Ja BAEK*

Department of Marine Biology, Pukyong National University, Busan 608-737, Korea

¹Aquaculture Research Team, Headquarters for Aquaculture, National Fisheries Research and
Developmental Institute, Gijang, Busan 619-902, Korea

We studied oocyte steroidogenesis in relation to oocyte development in the greenling, *Hexagrammos otakii*, a marine multiple spawner. Vitellogenic and mature oocytes were incubated *in vitro* in the presence or absence of [³H]-17 α -hydroxyprogesterone as a precursor. The major metabolites were androgens [androstenedione (A₄) and testosterone (T)] and estrogens [17 β -estradiol (E₂) and estrone (E₁)] in vitellogenic oocytes. The metabolic rate of T was lower in 1.08 to 12-mm oocytes, while that of E₂ increased with oocyte size. The endogenous productions of T, E₂ and 17 α -hydroxy, 20 β -dihydroprogesterone (17 α 20 β OHP) were quantified using a radioimmunoassay in the non-precursor group. The endogenous levels of T and E₂ were highest in 1.08 to 12-mm oocytes and 17 α 20 β OHP was produced only in 1.90 to 95-mm oocytes. The relationship between oocyte size and steroidogenesis showed that 1.08 to 12-mm oocytes are full vitellogenic following induction of the maturation process. Moreover, 17 α 20 β OHP acts as a maturation inducing hormone in *H. otakii*.

Key words: Multiple spawner, Oocyte development, Sex steroid hormones

서 론

경골어류의 난황형성기와 최종성숙과정은 여포층에서 생성·분비되는 성 스테로이드 호르몬에 의해 조절되고 있으며, 뇌하수체의 생식선자극호르몬 (gonadotropin; GtH)이 그 매개체 역할을 하고 있다 (Fostier et al., 1983; Goetz, 1983; Nagahama, 1983; Ng and Idler, 1983). 난황형성기 (vitellogenesis)에는 여포층에서 분비되는 estradiol-17 β (E₂)이 주요 성 스테로이드 호르몬으로 작용하며, 이것은 간에서 난황전구물질인 vitellogenin의 합성을 유도한다. 난황축적이 종료된 직후부터 배란시기까지는 progesterone의 유도체 즉, 17 α -hydroxy, 20 β -dihydroprogesterone (17 α 20 β OHP)나 17 α , 20 β , 21-trihydroxy-4-pregnen-3-one (17 α 20 β 21P) 등이 주요 성 스테로이드 호르몬으로 알려져 있다 (Rocha and Reis-Henrique, 1998, 2000; Pankhurst and Riple, 2000).

어류의 난소발달과정에 관여하는 호르몬들의 분비 패턴은 어종, 산란습성과 난소발달형태 등에 따라 다양하다. 산란기 중에 암컷이 1회만 산란하는 어종 (single spawner)의 경우, 난소 내 난모세포는 하나의 무리를 이루어 동시에 성장하고 성숙하지만, 한 번의 산란기 동안 암컷이 수차례 산란하는 다회산란 어종 (multiple spawner)의 경우 난소 내에 발달단계

가 각기 다른 여러 무리의 난모세포가 존재하는 특성이 있다. 특히 혈중 E₂ 농도가 최초 산란 이후에도 산란기동안 일정 농도로 유지되는 특성이 여러 어종에서 보고되어 있으며, 이러한 다회산란어종의 생식내분비 기구에 관한 연구는 대부분 담수어종을 중심으로 수행되어져 왔다 (Rinchart et al., 1993; Rinchart et al., 1997; Kobayashi et al., 1987).

쥐노래미는 양볼락목 쥐노래미과에 속하는 연안정착성 어류로서 우리나라 전 연안 및 중국 북부 연안 그리고 일본 연안의 암초지대에 분포하는 다회산란종이다 (Jung, 1974). 쥐노래미에 관한 선행 연구들은 산란 (Yasuie et al., 1978), 종묘 생산과 핵형분석 (Murata and Oda, 1988; Matsuoka et al., 1996), 난소발달과 간세포의 활성변화 (Chung et al., 2002) 그리고 성숙과 생식주기 (Lee et al., 2000; Kang et al., 2004) 등이 있으나 성 스테로이드 대사와 관련된 연구는 부족한 실정이다. 쥐노래미는 산업적으로 유용한 종이나 연안 환경오염과 남획으로 인한 자원량이 감소하고 있어 자원관리가 요구되고 있다.

본 연구에서는 인공번식 기술개발을 통한 대량 종묘생산 및 자원방류를 위한 목적의 일환으로 쥐노래미의 생식과 관련된 난경별 난모세포의 조직학적 관찰, 난모세포 크기증가에 따른 난황형성기 난모세포에서 대사되는 주요 스테로이드 호르몬인 androstenedione (A₄), testosterone (T), estrone (E₁)

*Corresponding author: hjbaek@pknu.ac.kr

그리고 E₂로의 대사율의 변화 그리고 난경별 난모세포에서 생성되는 T, E₂ 그리고 17 α 20 β OHP의 농도를 조사하였다.

재료 및 방법

실험어 및 난모세포 배양

실험어는 산란기로 추정되는 11-12월에 부산 오륙도 근해에서 채집한 체장 22.2-32.5 cm, 체중 196.20-646.24 g에 해당하는 4개체를 대상으로 하였다. 실험어는 2-phenoxy-ethanol로 마취 후 헤파린 처리된 3 mL 주사기로 미부동맥으로부터 혈액을 채취한 다음 실험어를 무균상태로 옮겨 난소를 절취하였다. 절취된 난소는 ice-cold BSS (balanced salt solution, 132.96 mM NaCl, 3.09 mM KCl, 0.28 mM MgSO₄·7H₂O, 0.98 mM MgCl₂·6H₂O, 3.40 mM CaCl₂·6H₂O, 3.65 mM HEPES)로 세척한 뒤 영상분석장치 (Image-Pro, Media Cybernetics, USA)를 이용하여 난경을 측정하고 난경별로 각각의 난모세포들을 하나씩 분리하였다.

난소발달에 따른 성 스테로이드 호르몬 대사물질을 분리하기 위해 24 well plates에 well당 Leibovitz's L-15 (L-15) 배양액 (Gibco) 1 ml에 20개의 난모세포를 난경별로 (0.80-82, 0.92-96, 1.08-12, 1.90-95 mm) 각각 분주한 뒤 방사선으로 표지된 스테로이드 전구물질인 [³H]-17 α hydroxyprogesterone ([³H]-17 α OHP)을 첨가하여 24시간 배양하였다. 또한 난경별 난모세포에서 생성되는 E₂, T 그리고 17 α 20 β OHP의 농도를 측정하기 위해 L-15 배양액 1 ml에 난경별로 20개의 난모세포만 분주하여 24시간 동안 배양하였다. BSS와 L-15 배양액의 pH는 7.7, 삼투농도는 360 milliosmol로 조절하였다.

난소의 조직학적 관찰

난모세포의 조직학적 관찰을 위해 난소조직의 일부를 절취하여 Bouin's solution에 24시간 고정하고 paraffin으로 포매한 후 5-6 μ m 두께의 절편을 만들어 Mayer's hematoxylin-eosin으로 이중염색하여 광학현미경으로 관찰하였다.

스테로이드 호르몬 농도 측정

난모세포 배양 후 배양액 내의 E₂, T 그리고 17 α 20 β OHP의 농도는 방사면역측정법 (radioimmunoassay)으로 분석하였다. 스테로이드 추출은 배양액에 혼합용매 (ethylacetate : cyclohexane = 50 : 50)를 첨가하여 혼합 후 5-10분간 -70 $^{\circ}$ C에서 수층을 결빙시켰다. 상층의 유기용매층 (free steroids)만을 시험관에 옮겨 원심분리기로 완전건조시켰으며, 위의 추출과정을 2회 반복하였다. 각각의 추출물은 1 mL의 0.1% gel-PBS 완충용액 (pH=7.5)에 재용해되어 정량할 때까지 -20 $^{\circ}$ C에 보관되었다.

스테로이드 호르몬 측정은 Aida et al. (1984)의 방법에 따랐다. 3.84-0.015 ng/mL 까지 9단계로 만들어진 standard와 각각의 시료에 방사표지된 스테로이드를 첨가한 후 희석 항체를 넣고 교반시켜 4 $^{\circ}$ C에서 12시간 동안 반응시켰다. 항원 항체의 결합형과 유리형을 분리하기 위해 DCC (dextran coated

charcoal)를 첨가하여 원심분리 (2000g, 4 $^{\circ}$ C, 15 min.)한 후 상등액을 취하여 scintillation cocktail을 넣고 액체섬광계측기 (TR-CARB-2100TR, Packard, USA)로 측정하였다.

실험에 사용된 항체는 모두 Cosmo-Bio Co. Ltd. (Tokyo, Japan)로부터 얻었다. Standard 호르몬들은 Steraloids Inc. (Wilton, NH, USA)와 Sigma Chemical (St. Louis, USA)로부터 구입하였다. 또한 방사표지된 [2,4,6,7-³H]-E₂와 [2,4,6,7-³H]-T은 Amersham Life Science (England)로부터 구입하였고, 방사표지된 17 α 20 β OHP는 Scott et al. (1983)의 방법에 의해서 [1,2,6,7-³H]-17 α -hydroxyprogesterone을 전구물질로 효소적 전환으로 얻은 후 분리, 정제 한 것을 사용하였다.

E₂, T 그리고 17 α 20 β OHP RIA계에 있어서 최소 검출량은 각각 12.5 pg/mL, 10 pg/mL, 10 pg/mL이었고, assay 내 (intra-assay)와 assay 간 (inter-assay) 변동계수를 50% 상대결합율에서 조사한 결과, E₂ RIA계에서는 3.4 (n=3)와 11.5% (n=6), T RIA계에서는 2.3 (n=3)와 12.5% (n=6), 17 α 20 β OHP RIA계에서는 3.2 (n=4)와 9.5% (n=8)였다.

스테로이드 호르몬 대사물질 분석

배양 후 난모세포와 배양액은 함께 80% ethanol로 균질화하여 원심분리한 후 상등액만을 모아 건조시킨 뒤 증류수 500 μ L에 용해시켜 dichloromethane으로 2번 추출하여 유리 스테로이드만을 얻었다.

스테로이드 추출물은 스테로이드 표준물질과 동시에 실리카겔을 입힌 얇은 막 지지체 (60F²⁵⁴, Merck)에 점적시킨 후 밀폐된 혼합용매 (benzene : acetone = 80 : 20 와 Benzene : ethylacetate = 80 : 20)속에서 전개시켰다. 전개 후 얇은 막을 건조시킨 뒤 대사물질들의 반점 중 estrone (E₁)과 estradiol-17 β (E₂)는 요오드 증기로, 나머지 반점들은 254 nm의 자외선 하에서 확인하였다. 얇은 막에 나타난 대사물질들은 방사선 사진법 (autoradiography, Fuji Bas 3000)으로 재확인하였으며, 재확인된 반점에 해당되는 실리카겔 밴드를 잘라 5 mL의 혼합용매 (dichloromethane : methanol = 9:1)로 용리하였다.

용리된 대사물질은 HPLC (high performance liquid chromatography, Waters)를 이용하여 표준물질의 retention time과 일치하는 fraction만을 분리하였다. 분리된 fraction은 Liquid Scintillation Counter (PACKARD TR-CARB-2100T, USA)를 이용하여 radioactivity 측정 후 주요 대사물질별로 대사율을 산출하였으며, HPLC-radiodetector로 대사물질을 재확인하였다. HPLC 기기분석 조건은 Table 1과 같다. HPLC-radiodetector로 확인된 대사물질은 gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS)로 최종적으로 동정하였다. GC/MS 분석조건은 Table 2와 같다.

통계분석

스테로이드 호르몬의 대사율과 생성농도는 모두 평균 \pm 표준오차로 나타내었으며, 스테로이드 호르몬 생성농도는 Kruskal-Wallis 검정과 Bonferroni 다수 비교 검정을 통해 95%

Table 1. HPLC instruments and analysis conditions for separation of steroid metabolites

HPLC	Waters Alliance
Column	SunFire C18, 4.6×150 mm
Mobile phase	20% methanol : acetonitrile = 60 : 40
Flow rate	1 mL/min
UV detector	Waters 2487 Multiwavelength Absorbance Detector
Radio detector	β-RAM Model 4-Radio-HPLC Detector (IN/US system, USA)
Injection volume	20 μL
Ending time	15 min

Table 2. Analytical conditions of GC/MS for identification of steroid metabolites

Instrument	GC/MS (Shimadzu 5050A)
Column	DB-5MS (30 m × 0.25 mm × 0.2 μm)
Flow rate (gas)	1 mL/min (He, 99.999 %)
Injection mode	Splitless mode
Injector temperature	275.00°C
Detector temperature	280.00°C
Oven temperature	80.00°C (1.00 min) → 10.00°C/min, 250.00°C (0 min) → 3.00°C/min, 280.00°C (0 min) → 5.00°C/min, 295.00°C (4 min)

신뢰수준에서 난경증가에 따른 스테로이드 호르몬 농도간의 유의차 검정을 실시하였다.

결 과

난모세포의 조직학적 관찰

산란시기의 쥐노래미의 난소 내 난모세포의 난경증가에 따른 조직학적 관찰은 Fig. 1에 나타났다. 난경 약 0.80-0.82 mm와 0.92-0.96 mm의 난모세포에서는 핵 주변부로 난황과립이 축적되기 시작하였다 (Fig. 1-A, B). 난경 약 1.08-1.12 mm의 난모세포에서는 난황과립이 세포질 내에 충전하였다 (Fig. 1-C). 난경 약 1.90-1.95 mm의 난모세포에서는 세포질이 균질화되었으며, 여포세포가 난모세포를 둘러싸고 있는 것으로 관찰되었다 (Fig. 1-D).

난모세포의 스테로이드 대사물질 동정과 대사율 변화

난경이 약 0.80-82 mm, 0.92-96 mm, 1.08-12 mm 그리고 1.90-95 mm인 난모세포에서 [³H]17 α-hydroxyprogesterone으로부터 생성된 스테로이드 대사물질들의 TLC상의 반점은 A₄, T, E₂, E₁ 그리고 progestogen 등의 표준물질과 일치하였다 (Fig. 2). 전구물질로부터 생성된 주요 대사물질들 중 A₄, T, E₂ 그리고 E₁은 HPLC-radiodetector를 거쳐 GC/MS에 의해 동정되었다. (Fig. 3)

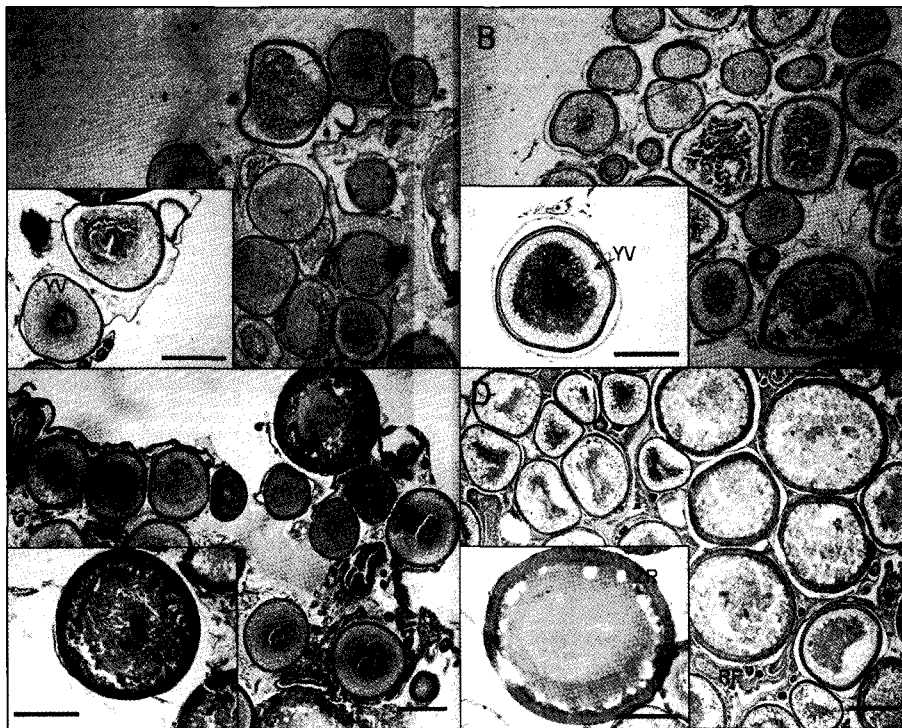


Fig. 1. Histological observation of ovary in greenling, *Hexagrammos otakii*. A; Ovary with oocytes of 0.80-0.82 mm in diameter. Yolk vesicles were shown in ooplasm. B; Ovary with oocytes of 0.92-0.96 mm diameter. Yolk granules were shown near the nucleus. C; Ovary with oocytes of 1.08-1.12 mm diameter. Fully vitellogenic oocytes and residual follicles were shown in the ovary. E; Ovary with oocytes of 1.95-1.97 mm diameter. Ripe oocytes which has well-developed zona radiata were shown in the ovary. Scale bars indicate 500 μm. N, nucleus; RF, residual follicle; YG, yolk granule; YV, yolk vesicle; ZR, zona radiata.

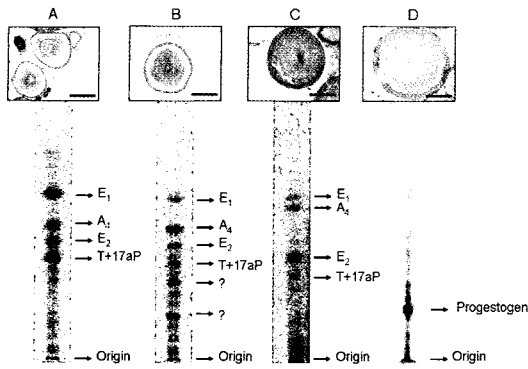


Fig. 2. Autoradiograms of steroid metabolites produced from [³H]17 α -hydroxyprogesterone after 24-h incubation with isolated oocytes. A, Oocytes of 0.80-0.82 mm group in diameter; B, Oocytes of 0.92-0.96 mm group in diameter; C, Oocytes of 1.08-1.12 mm group in diameter; D, Oocytes of 1.90-1.95 mm group in diameter. A₄, androstenedione; E₁, estrone; E₂, estradiol-17 β ; T, testosterone. Scale bars indicate 500 μ m.

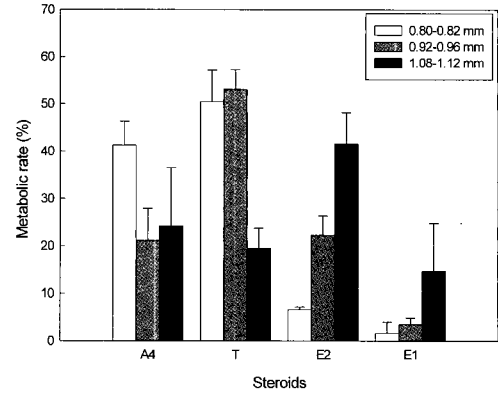


Fig. 4. Metabolic rate of steroids in vitellogenic oocytes with each diameter from *H. otakii*. The percentage of radioactivity associated with each isolated steroid was calculated to the percentage of total steroid recovered from initial TLC. Values are mean \pm SE (in duplicate well, 20 oocytes/well). A₄, androstenedione; T, testosterone; E₂, estradiol-17 β ; E₁, estrone.

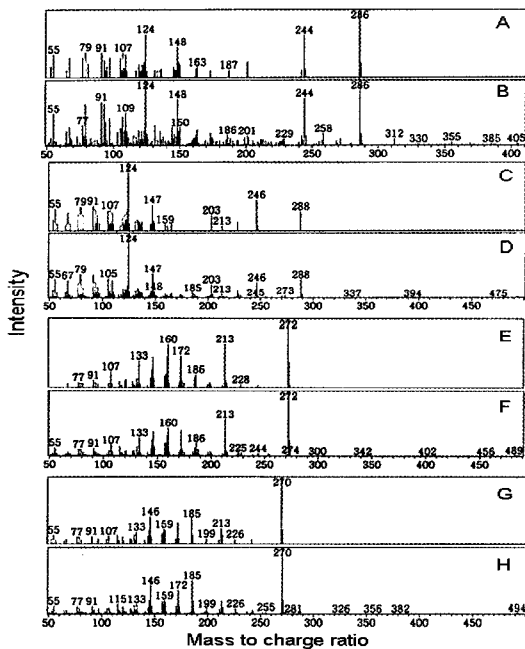


Fig. 3. Mass spectra of steroid metabolized by greenling oocytes identified as androstenedione (A₄), testosterone (T), estradiol-17 β (E₂) and estrone (E₁). A, authentic A₄; B, metabolized A₄; C, authentic T; D, metabolized T; E, authentic E₂; F, metabolized E₂; G, authentic E₁; H, metabolized E₁.

난황형성기 난모세포의 스테로이드 대사물질의 대사율을 살펴보면 (Fig. 4), A₄로의 대사율은 난경 0.80-0.82 mm인 난모세포에서 41.28%의 대사율을 보였으나 난경이 증가함에 따라 각각 21.13, 24.24%로 감소하였다. T로의 대사율에서는 난경 0.80-0.82, 0.92-0.96 mm인 난모세포에서 50% 이상의 높은 대사율을 보였으나, 난경 1.08-1.12 mm인 난모세포에서 19.44%의 낮은 대사율을 나타냈다.

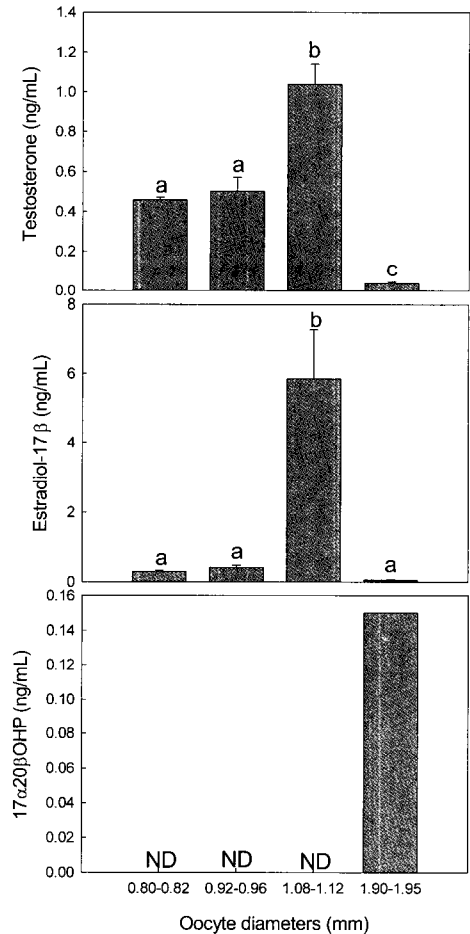


Fig. 5. Steroid production by separated oocytes from *H. otakii*. Values are mean \pm SE (in triplicate well, 20 oocytes/well). Bars marked with different superscripts are significantly different (P<0.05). ND, not detected.

E₂로의 대사율에서는 난경이 증가함에 따라 대사율이 지속적으로 증가하여 난경 1.08-12 mm인 난모세포에서 41.58%의 높은 대사율을 나타냈다. E₁으로의 대사율도 E₂로의 대사율과 같이 난경증가에 따라 증가하여 난경 1.08-12 mm인 난모세포에서 14.74%의 최고치를 나타냈다.

난모세포에서의 스테로이드 호르몬 생성

난모세포에서 생성되는 E₂, T 그리고 17 α 20 β OHP의 농도를 RIA로 측정하였다 (Fig. 5). T의 생성농도는 난경증가에 따라 증가하였으며, 난경 1.08-12 mm인 난모세포에서 1.039 \pm 0.101 ng/mL로 난경 0.80-82 그리고 0.92-96 mm인 난모세포에서의 T의 생성농도에 비해 유의하게 증가하였다 (P<0.05). 난경 1.90-95 mm인 난모세포에서 0.040 \pm 0.006 ng/mL로 유의하게 감소하였다 (P<0.05). E₂의 생성농도 역시 T의 생성농도와 같이 난경증가에 따라 증가하였으며, 난경 1.08-12 mm인 난모세포에서 5.858 \pm 1.405 ng/mL로 급격히 증가하여 난경이 작은 다른 두 그룹의 난모세포에 비해 유의하게 증가하였다 (P<0.05). 이후 난경이 1.90-95 mm인 난모세포에서 0.063 \pm 0.008 ng/mL로 급격히 감소하였다. 17 α 20 β OHP의 농도는 난경 1.90-95 mm인 난모세포에서만 0.160 ng/mL의 농도로 검출되었다.

고 찰

쥐노래미는 주산란기가 11-12월인 동계산란어종으로 난소는 비동시발달형으로서 난소 내에 발달단계가 다른 난모세포들이 혼재해 있으며 한 개체가 한 산란기에 2회 이상 산란하는 다회산란어종이다 (Kang et al., 2004). 본 연구에 사용된 난황형성기 난모세포는 난경별로 분리하여 난경 약 0.80-82, 0.92-96 그리고 1.08-12 mm 에 해당하는 난모세포들을 대상으로 하였다. 쥐노래미의 난경별 난모세포의 조직학적 관찰결과, 난경이 약 1.08-12 mm에 이르면 세포질 내에 난황과립이 충만하였으며, TLC에 의한 스테로이드 대사물질 분리 결과, 난경 1.08-12 mm인 난모세포에서는 progestogens이 대사되지 않는 점을 미루어 보아, 이 시기가 난황형성완료시기로 사료된다. 또한 난경이 1.90-95 mm인 난모세포는 세포질이 균질화되고, TLC 분석결과 (Fig. 2) progestins이 뚜렷하게 대사되는 것으로 보아 최종성숙 단계로 생각된다.

쥐노래미의 난황형성기 난모세포에서 합성되는 주요 스테로이드 호르몬은 androgens인 A₄와 T, estrogens인 E₂와 E₁으로 확인되었다 (Fig. 3). 난경증가에 따른 주요 스테로이드 호르몬의 대사율의 변화를 살펴보면 E₂로의 대사율은 난경증가와 함께 증가하였으며, 난경 1.08-12 mm인 난모세포에서 가장 높은 대사율을 나타냈다. T로의 대사율은 E₂로의 대사율 변화와는 상반되게 난경 1.08-12 mm인 난모세포에서 가장 낮은 대사율을 나타냈다. 난소발달과정에서 T의 역할은 aromatase에 의해 E₂로 전환되는 전구물질로서 (Kagawa et al., 1982), 난소에서 GtH의 반응을 높여주는 것으로 보고되어 있다 (Fostier et al., 1983). 또한 T는 aromatase에 의해 E₂로의 전환이

충분히 이루어진 후에는 혈중으로 분비된다고 알려져 있으나 (Campbell et al., 1976), 참돔, *Pagrus major*의 난소 스테로이드 대사과정에서는 T가 아닌 E₁이 E₂ 대사의 주요 전구물질로 작용한다고 보고되어 있다 (Ohta et al., 2002). 쥐노래미 난모세포의 스테로이드 대사율 변화를 살펴볼 때, 난경증가에 따라 T의 대사율이 감소하는 동시에 E₂의 대사율이 증가하는 것으로 보아 T는 aromatase에 의해 E₂로 전환되는 것으로 생각된다. Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*의 난소에서도 aromatase mRNA의 발현, aromatase의 농도와 활성이 난황형성초기에 해당하는 난모세포에서는 낮으나, 난황형성과정이 진행될수록 증가하고 난황형성기 이후의 난모세포에서는 감소한다고 알려져 있다 (Chang et al., 1997).

난황형성기와 최종성숙기의 난모세포에서 생성되는 E₂, T 그리고 17 α 20 β OHP의 농도 변화를 살펴보면 T의 생성 농도변화는 난경증가와 함께 증가하는 경향을 보였으며 난경 1.08-12 mm인 난모세포에서 최고농도를 나타낸 후 난경 1.90-95 mm인 난모세포에서는 0.040 ng/mL의 저농도로 나타났다. E₂의 생성 농도변화에서도 난경증가에 따라 지속적으로 증가하여 난경 1.08-12 mm인 난모세포에서 최고농도를 나타낸 후 난경 1.90-95 mm인 난모세포에서는 0.063 ng/mL의 저농도로 나타났다. 난경 1.08-12 mm인 난모세포에서는 다른 난경의 난모세포에서보다 T의 생성농도에 비해 E₂의 생성농도가 5배 이상 측정된 것으로 미루어 보아, 이 시기의 난모세포에서 aromatase의 활성이 가장 높을 것으로 사료된다. 17 α 20 β OHP는 최종성숙기의 난모세포에서만 0.160 ng/mL로 측정되었으며 Lee et al., (2000)에서 밝힌 바와 같이 17 α 20 β OHP가 쥐노래미의 최종 성숙 유도호르몬으로 작용할 것으로 생각되나, GC/MS 분석을 통해 확인해야 할 부분이다.

산란기 쥐노래미의 혈중 T와 E₂의 농도는 3 ng/mL 이상의 연중 최고농도를 나타낸다고 보고되어 있으며 (Lee et al., 2000), 쥐노래미의 산란기에 혈중 T와 E₂ 농도가 높게 유지되는 것은 최초의 산란 이후 난소 내 잔존하는 난모세포들이 성숙단계로 이행되는 스테로이드 대사과정에 의한 것으로 생각된다. 금붕어의 난소에서도 산란 이후 잔존하는 난황형성기 난모세포들이 T와 E₂를 생성한다고 보고되어있으며 (Kagawa et al., 1984) 잉어과, *Gobio gobio*, 납자루아과, *Acheilognathus rhombea*, gilthead seabream, *Sparus aurata*, 범가자미, *Verasper variegatus* 등과 같은 쥐노래미 이외의 다른 다회산란 어종에서도 유사한 결과가 관찰되었다 (Rinchart et al., 1993; Kobayashi et al., 1987; Shimidzu et al., 1985; Kadmon et al., 1985; Kim et al., 1998).

난황형성완료시기에서 최종성숙기로 이행하는 단계의 난모세포에서의 progestogen의 활성변화와 이에 수반되는 steroidogenic enzyme activity에 대한 앞으로의 연구가 요구된다.

사 사

본 연구는 2004년 부경대학교 기성회 학술연구비의 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참 고 문 헌

- Aida, K., T. Kato and M. Awaji. 1984. Effects of castration on the smoltification of precocious male masu salmon, *Oncorhynchus masou*. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 50, 565-571.
- Campbell, C.M., J.M. Walsh and D.R. Idler. 1976. Steroids in the plasma of the winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* Walbaum: a seasonal study and investigation of steroid involvement in oocyte maturation. Gen. Comp. Endocrin., 29, 14-20.
- Chang, X.T., T. Kobayashi, H. Kajiura, M. Nakamura and Y. Nagahama. 1997. Isolation and characterization of the cDNA encoding the tilapia (*Oreochromis niloticus*) cytochrome P450 aromatase (P450arom): changes in P450arom mRNA, protein and enzyme activity in ovarian follicles during oogenesis. J. Mol. Endocrinol., 18, 57-66.
- Chung, E.Y., H.W. Kang and K.W. Lee. 2002. Changes in activity of the hepatocytes of the greenling, *Hexagrammos otakii* with the ovarian developmental phases. Kor. J. Ichthyol., 14, 132-142.
- Fostier, A., B. Jalabert, R. Billard, B. Breton and Y. Zohar. 1983. The gonadal steroids. In: Fish Physiology. Vol. 9A. Hoar W.S., D.J. Randall and E.M. Donaldson, eds. Academic Press, New York., 272-372.
- Goetz, F. W. 1983. Hormonal control of oocyte final maturation and ovulation in fishes. In: Fish Physiology, Vol. 9. Reproduction. Part B: Behavior and Fertility Control, Hoar, W.S., D.J. Randall and E.M. Donaldson, eds. Academic Press, New York., 117-170.
- Jung, M.K. 1974. The Fishes of Korea. Iljisa, Seoul, 1-522.
- Kadmon, G., Z. Yaron and H. Gordin. 1985. Sequence of gonadal events and estradiol levels in *Sparus aurata* (L.) under two photoperiod regimes. J. Fish Biol., 26, 609-620.
- Kagawa, H., G. Young, S. Adachi, and Y. Nagahama. 1982. Estradiol-17 α production in amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicles: role of the thecal layer and granulosa cells. Gen. Comp. Endocrin., 47, 440-448.
- Kagawa, H.G. Young and Y. Nagahama. 1984. In vitro estradiol-17 β and testosterone production by ovarian follicles of the goldfish, *Carassius auratus*. Gen. Comp. Endocrin., 54, 139-143.
- Kang, H.W., E.Y. Chung and J.H. Kim. 2004. Sexual maturation and spawning characteristics in greenling, *Hexagrammos otakii* of the west coast in Korea. J. Kor. Aqua. Soc., 17, 30-38.
- Kim, Y., C.M. An, K.K. Kim and H.J. Baek. 1998. Sexual maturation of the spotted flounder, *Verasper variegatus*. Kor. J. Ichthyol., 10, 191-199.
- Kime, D.E. 1993. "Classical" and "non classical" reproductive steroids in fish. Rev. Fish Biol. Fisher., 3, 160-180.
- 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. Endocrin., 67, 24-32.
- 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. Kor. Fish. Sci., 33, 302-306.
- Matsuoka, N., T. Asanuma and T. Sugiyama. 1996. Genetic relationship and enzyme polymorphism in the two fishes *Hexagrammos otakii* and *H. agrammus*. Sci. Rep. Hiroasaki Univ., 43, 239-246.
- Murata, M. and T. Oda. 1998. Mass production of seeding of fat greenling *Hexagrammos otakii*. Bull. Fish. Exp. Stn. Okayama Prefect., 3, 211-212.
- Nagahama, Y. 1983. The functional morphology of teleost gonads. In: Fish Physiology. Vol. 9. Reproduction. Part A: Endocrine Tissues and Hormones, Hoar, W.S., D.J. Randall and E.M. Donaldson, eds. Academic Press, New York., 223-275.
- Ng, T.B. and D.R. Idler. 1983. Yolk formation and differentiation in teleost fishes. In: Fish Physiology. Vol. 9. Reproduction. Part A: Endocrine Tissues and Hormones Hoar, W.S., D.J. Randall and E.M. Donaldson, eds. Academic Press, New York., 373-404.
- Ohta, K., S. Yamaguchi, A. Yamaguchi, K. Okuzawa, K. Gen, H. Kagawa and M. Matsuyama. 2002. Biosynthesis of estradiol-17 β in the ovarian follicles of the red seabream *Pagrus major* during vitellogenesis. Fish. Sci., 68, 680-687.
- Pankhurst, N.W. and G. Ripley. 2000. Characterization of parameters for in vitro culture of isolated ovarian follicles of greenback flounder *Rhombosolea tapirina*. Comp. Biochem. Physiol., 127A, 177-189.
- Rinchard, J., P. Kestemont, E.R. Kuhn and A. Fostier. 1993. Seasonal changes in plasma levels of steroid hormones in an asynchronous fish the gudgeon *Gobio gobio* L. (Teleostei, Cyprinidae). Gen. Comp. Endocrin., 92, 168-178.
- Rinchard, J., P. Kestemont and R. Heine. 1997. Compar-

- tive study of reproductive biology in single and multiple-spawner cyprinid fish. II. Sex steroid and plasma protein phosphorus concentrations. *J. Fish Biol.*, 50, 169-180.
- Rocha, M.J. and M.A. Reis-Henriques. 1998. Steroid metabolism by ovarian follicles of the tilapia *Oreochromis mossambicus* (Teleostei, Cichlidae). *Comp. Biochem. Physiol.*, 121B, 85-90.
- Rocha, M.J. and M.A. Reis-Henriques. 2000. Steroid metabolism by ovarian follicles of the sea bass *Dicentrarchus labrax*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 125C, 85-91.
- Scott, A.P., E.L. Sheldrick and A.P.F., Flint. 1983. Measurement of $17\alpha, 20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one in plasma of trout (*Salmo gairdneri* Richardson): Seasonal changes and response to salmon pituitary extract. *Gen. Comp. Endocrin.*, 49, 128-134.
- Shimidzu, A., K. Aida and I. Hanyu. 1985. Endocrine profiles during the short reproductive cycle of an autumn-spawning bitterling, *Acheilognathus rhombea*. *Gen. Comp. Endocrin.*, 60, 361-371.
- Yasuie, S., T. Fukuda and M. Shinohara. 1978. On the spawning of fat greenling, *Hexagrammos otakii* in the waters of Ushimado region. *Bull. Fish. Exp. Stn. Okayama Prefect.*, 2, 93-99.
-
- 2007년 3월 8일 접수
2007년 6월 14일 수리