

## 인위적 환경 변화에 따른 넙치 (*Paralichthys olivaceus*)의 체색 변화

황재호 · 이성훈 · 김관석<sup>†</sup> · 연인호 · 이진희 · 이원교 · 오명주 · 한경호

전남대학교 수산해양대학 양식 생물 학전공

### Body Color Change of Flounder, *Paralichthys olivaceus* on Artificial Environmental Change

Jae-Ho Hwang · Sung-Hoon Lee · Kwan-Suk Kim<sup>†</sup> · In-Ho Yeon  
Jin-Hee Lee · Won-Kyo Lee · Myung-Joo Oh · Kyeong-Ho Han

College of Fisheries and Ocean Sciences, Chonnam National University

### ABSTRACT

Ten different artificial environmental colors changed body color of flounder, *Paralichthys olivaceus* within 20 hours. With regard to survival rate of the flounder on different color, over 80% flounders in the black, brown, and yellow tanks were survived, but flounders in red, green, and blue tanks were less than 50%. The data suggested that environmental color is crucial factor for flounder culture.

In contrast to major collagen (Type I collagen), expression level of minor collagen molecule (COLV/XI  $\alpha 1$ ) was effected by white, pink, light blue, and blue colors. MMP2 and TIMP2 equally expressed in the all individuals without artificial environmental color effect. MCH was highly expressed in white and yellow colors. It was first found that MCH-R1 and MCH-R2 coexisted in the flounder. Expression of POMC-A and MCH-R2 showed opposite result in the brown and light blue. The data suggested that flounder can visually react in the brown and light blue colors. Based on the present gene expression analysis, flounder farmer can set up more comfortable environment to flounder.

Key words : Flounder, Body Color Change, Artificial Environment, RT-PCR

---

<sup>†</sup> Corresponding Author: Kwan-Suk Kim, College of Fisheries and Ocean Sciences, Chonnam National University, Yeosu 550-749, Korea  
Tel : +82-61-659-3163; Fax : +82-61-655-0244  
E-mail : aqua2284@hanmail.net

## 1. 서 론

넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 가자미목(Pleuronectiformes) 넙치과(Paralichthyidae) 넙치속(*Paralichthys*)에 속하는 어류로, 한국에는 7종, 전 세계에는 22종이 서식하며, 우리나라 전 연안, 쿠릴열도, 사할린, 일본 및 발해, 황해, 중국해 연안에 분포한다<sup>1)</sup>. 또한, 넙치는 저서성 어류로서 체형이 납작하여 그 형태가 특이한데, 특히 다른 어류와 상이한 점은 변태(metamorphosis)라는 형태적 변화를 통해 두 눈이 머리의 한편에 모여 있다는 것이다<sup>2,3)</sup>. 선행 연구에 따르면 넙치는 부화 후 통상 10일 경과 후부터 변태를 시작하여 35~40일이 되면 변태가 완료되어 착저기에 들어가 치어가 된다고 알려져 있다<sup>4,5,6)</sup>.

보호색, 표지색, 혼인색 등의 체색변화란 생물학적 의의가 있는 체색의 변화를 말하며, 주로 어류, 양서류, 파충류에서 발견된다. 어류를 포함한 척추동물에 존재하는 멜라닌 색소포(melanophores)는 주위 환경에 따라 신경 또는 호르몬의 작용에 의해 피부색을 변화시킨다. 어류의 체색은 주로 진피에 산재하는 색소포(chromatophore)에 함유되어 있는 색소와 광채세포에 기인하며, 색소포는 어류가 가지는 색에 따라 흑색소포(melanophore), 황색소포(xanthophore), 적색소포(erythrophore)로 나뉜다<sup>3)</sup>. 어류에서는 피부 멜라닌 색소포내의 멜라닌 과립을 응집 및 자극시키는 작용을 하는 melanin concentrating hormone(MCH)과 melanin stimulating hormone(MSH) 등 두 개의 상반된 작용의 호르몬에 의해 체색이 조절된다고 알려져 있다<sup>7)</sup>.

넙치는 ‘바다의 카멜레온’이란 별명을 가지고 있을 정도로 주위 환경에 따라 다양한 보호

색으로 위장을 한다고 알려져 있으나, 인공종묘 생산 시에 백화와 흑화현상이 높은 비율로 나타나고 있다. 하지만 자연산과 양식산을 구분하는 중요한 육안적 척도가 되는 백화와 흑화에 관련된 사료영양학적 연구<sup>8,9,10,11,12)</sup> 및 병리조직학적 관찰<sup>13,14)</sup> 등 일부 생태적인 관찰연구가 대부분이다. 최근, 넙치의 변태과정 중 체색발현이나 백화현상이 강한 유전력에 의한 것으로 확인되고 있으나, 국내에서 이에 대한 연구는 전무한 실정이다. 본 연구에서는 넙치를 인위적인 환경변화에 노출시켜 육안으로 관찰하고 유전자 발현분석을 통해 타어종과는 다른 독특한 발생학적 특성을 지니고 있는 넙치의 체색변화 기작을 분자생물학적으로 해명하는 것을 목적으로 하였다.

## 2. 실험 방법

### 2.1 주변색 변화를 통한 넙치의 체색 변화

사육 수조(가로 50 cm×세로 33 cm×높이 22 cm)에 염분농도 32 ‰, 수온 18 °C, pH를 6.0으로 조절하고 사육수조 바닥에 검은색 및 일반 모래, 빨강색·흰색·노랑색·보라색·분홍색·녹색·하늘색·파랑색의 자갈을 깔아 총 10가지 다른 색의 인위적 환경을 조성하였다.

전라남도 여수시 돌산읍에 소재하고 있는 경양수산에서 변태 후 넙치 치어를 구입하여 수조 위 조명을 300 lux로 설치하여 12시간씩 켜고 끄도록 조절하였다. 실험실내에서 *Artemia* sp.와 미립자 사료를 순차적으로 공급하면서 실내 사육을 2주간 실시하여 안정화시킨 넙치 치어를 각 수조당 50마리씩 투입하여 매시간 광학현미경 및 육안을 통하여 넙치 치어의 체색 변화와 생존률을 관찰, 사진 촬영하고 특정

을 비교 분석하였다.

또한, 검은색 모래에서 사육한 치어를 각각 다른 색의 수조에 넣어 개체수 50% 이상의 체색 변화시간을 측정하고, 급격한 환경변화에 대한 생존률을 관찰하였다.

## 2.2 넙치의 체색변화에 영향을 미치는 유전자의 발현

각 수조에서 1주일 간 사육한 넙치 치어는 Trizol Reagent (Invitrogen)를 이용하여 RNA를 추출하고 SuperScript III First-Strand Synthesis System (Invitrogen)을 이용해 역전사하여 cDNA를 합성하였다.

넙치의 체색 변화에 영향을 미치는 유전자를 미국 국립생물정보센터(NCBI)에서 문헌 검색을 통해 선별하여, 게놈 데이터베이스로부터 EF-1 $\alpha$ , MCH, MCH-R1, MCH-R2, POMC A, POMC B, POMC C의 염기배열을 확보한 다음 프라이머 디자인 소프트웨어, Primer3를 이용해 유전자 특이 프라이머를 디자인하였다. 각 체색변화 단계에 따라 달라지는 발현패턴을 RT-PCR 기법으로 확인하였다.

또한, 넙치의 체형변화에 영향을 미치는 유전자(COLI $\alpha$ 1, COLI $\alpha$ 2, COLV/XI $\alpha$ 1, MMP2, MMP9, TIMP2, BMP2)도 동일한 방법으로 확인하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1 주변색 변화를 통한 넙치의 체색 변화와 생존률

넙치의 서식 환경 중 주변색의 변화에 대한 체색의 변화를 관찰하기 위하여 주변색을 10가지로 구분하여 실험을 실시하였으며, 그 결과

각각의 실험구에서는 체색 변화에 대한 소요시간은 일반 모래가 7.5시간, 검정 모래가 11.5시간, 흰 자갈 13.5시간, 노란 자갈 14.5시간, 하늘색 자갈 16.5시간, 보라 및 분홍 자갈 17.5시간, 빨강·녹색·파랑 자갈이 각각 18.5시간으로 다소 차이가 있었으나, 20시간 이내에 주변색과 비슷한 체색으로 모두 변화하였다(Fig 1).

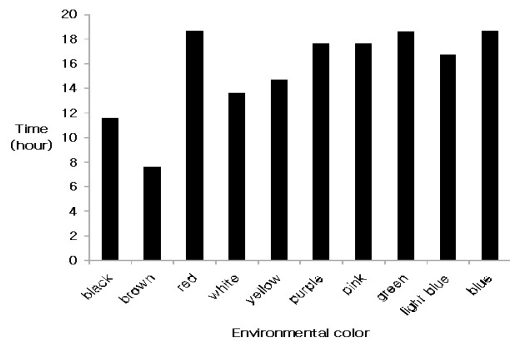


Fig 1. Body color change time of flounder on different environmental color.

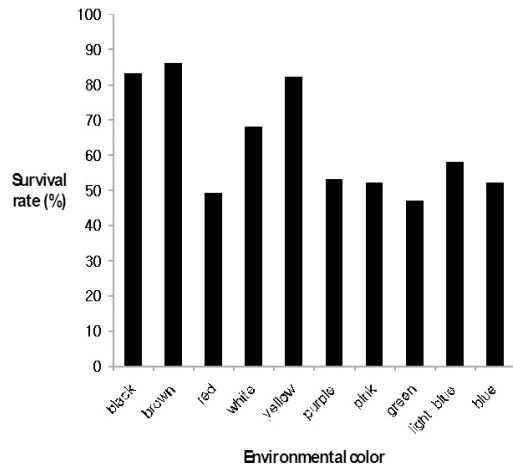


Fig 2. Survival rate of flounder on different environmental color.

또한 주변색의 변화에 따른 생존률을 알아보기 위하여 72시간 동안 생존한 넙치의 개체수를 확인한 결과 검정 및 일반 모래, 노란 자갈에서 약 80 % 이상의 높은 생존률을 보였고 자갈

적인 원색 계통의 빨강·녹색·파랑색 자갈에서는 46% 내외로 생존률이 낮게 나타났다(Fig 2).

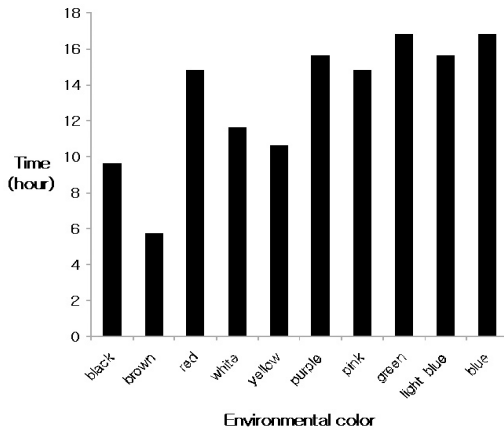


Fig 3. Body color change time of flounder on rapid environmental color change.

넙치의 급격한 주변색 변화에 따른 체색의 변화시간을 조사한 결과 전반적으로 모든 실험 구에서 체색변화 시간이 평균 2시간 정도 단축되었다(Fig 3). 이는 주변 환경의 급격한 변화에 대처하는 본능적인 반응이라고 판단된다.

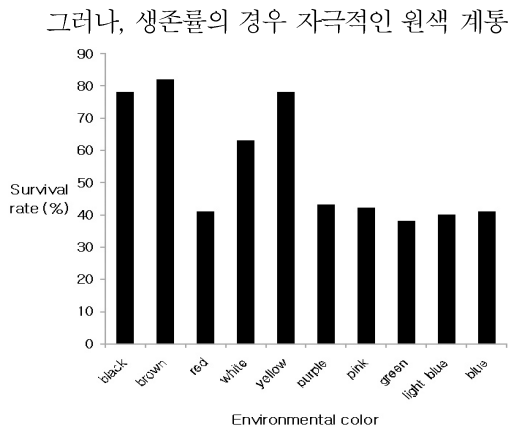


Fig 4. Survival rate of flounder on rapid environmental color change.

의 주변색(빨강·파랑·보라·분홍색 자갈)에서 검정 및 일반 모래, 노란 자갈로 이동시 생존율은 80 % 내외로 높은 반면, 검정 및 일반 모래, 노랑 자갈에서 원색계통의 주변색으로 이동시 40 % 내외로 생존률이 떨어지는 것을 알 수 있었다(Fig 4). 이는 주변 환경의 급격한 변화로 인하여 스트레스 및 생리적 장애로 넙치의 폐사율이 높게 나타난 것으로 사료된다.

### 3.2 넙치의 체색변화에 영향을 미치는 유전자의 발현

넙치의 체색변화에 관련된 사육실험은 변태 후의 넙치치어를 사용했으므로, positive control인 housekeeping gene, EF-1  $\alpha$ 의 발현이 모든 개체에서 확인되었다(Fig 5). 어류의 흑색소포내의 멜라노솜을 응집시켜 경골어류의 피부색을 밝게 보이게끔 만든다고 알려진 MCH는 흰색, 노란색 등 밝은 계통의 주변색에서 사육한 넙치에서 상대적으로 높은 발현을 보였다. MCHR(MCH 수용체)은 모든 포유동물에서 발현하는 MCH-R1과, 식육류에서는 발현하지만 치설류에는 존재하지 않는 MCH-R2로 구성된다. MCH-R1은 흰색, 노란색, 보라, 분홍, 하늘, 파랑 등 밝은 색에서 발현하는 등 MCH와 유사한 발현패턴을 보였지만, 모래에서 사육한 넙치에서는 발현하지 않았다. MCH-R2는 미비한 발현량을 보인 일반 모래와 하늘색 자갈을 제외한 모든 구간에서 높은 발현이 인정되었다. 또한 경골어류인 넙치에 있어서 MCH-R1 및 MCH-R2가 모두 존재한다는 것을 본 실험을 통해서 밝혔다. POMC는 부신피질자극호르몬, MSH(멜라닌보유세포 자극호르몬), END(엔도르핀)의 전구체이다. 경골어류의 MSH는 사료섭취 및 체색변화와 관

런이 있으며, MCH와 상반된 작용을 하여 피부 색을 검게 보이게끔 만드는 작용을 한다. POMC에는 3개의 서브타입이 존재하는데, 본 결과에서는 발현량이 높은 POMC-A와 MCH-R2의 발현패턴 비교를 통해 일반 모래와 하늘색 자갈에서 상반되는 발현패턴이 관찰되었다. 이것은 넙치가 시각적으로 갈색(일반 모래)과 하늘색에서 반응을 보인다는 점을 반영해준다. 이러한 유전자 분석을 기반으로 넙치에게 보다 안정적인 인위적 환경을 조성해 줄 수 있고, 또한 양식어민의 소득증대에도 직접적으로 기여할 수 있다고 판단된다.

체색변화의 관찰을 위해 사육한 넙치는 성장률이 상당히 높은 변태 후의 개체이므로, 인위적인 환경변화에 있어서 체형변화에 관련하는 유전자(COLI  $\alpha 1$ , COLI  $\alpha 2$ , COLV/XI  $\alpha 1$ , MMP2, MMP9, TIMP2, BMP2)의 발현분석을 실시해 보았다. 그 결과, 구조단백질인 콜라겐 중 I형 콜라겐의  $\alpha 1$ 체인(COLI  $\alpha 1$ ) 및  $\alpha 2$ 체인(COLI  $\alpha 2$ )은 체색변화와는 상관없이 모든 구간에서 발현이 관찰되었다. 하지만 COLI  $\alpha 1$ 의 경우, 모래와 빨간 자갈에서 그 발현도가 다른 주변색에서 사육한 넙치와 비교해 상대적으로 약했다.

COLI  $\alpha 2$ 의 경우, 넙치의 발생단계별 체형변화 결과(테이타 안나타넴)와 유사하게 발현량이 COLI  $\alpha 1$ 보다 높게 나타나서 넙치에 있어서도 발생마커로 사용된다는 점이 입증되었다. 반면, 변태과정을 거쳐 치어가 된 개체에 있어서 EF-1 $\alpha$ 의 발현량이 콜라겐보다 높다는 점을 통해 치어기의 넙치는 생리적으로 안정을 찾고, housekeeping gene인 EF-1 $\alpha$ 가 제 기능을 발휘한다는 점이 시사되었다. 미량콜라겐인 COLV/XI  $\alpha 1$ 의 발현은 흰색, 분홍, 하늘, 파랑

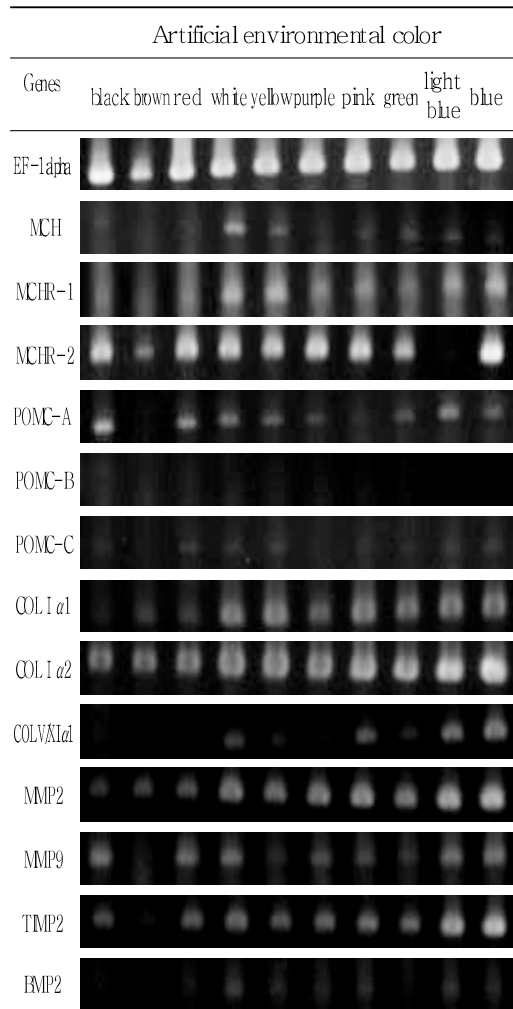


Fig 5. Expression pattern of flounder on artificial environmental color change.

등 인위적 환경변화에 영향을 받았다.

세포외 기질(extracellular matrix)을 분해하는 효소인 MMP(MMP2, MMP9)와 MMP의 효소활성을 억제하는 TIMP2의 발현은 인위적 환경변화에 영향을 받지 않고 모든 개체에서 균일하게 발현패턴이 확인되었다. 이것은 변태 후의 치어일지라도 성체가 될 때까지 지속적으로 성장해 나가면서 새로운 세포외 기질을 형

성하고 또 분해시키는데 MMP, TIMP의 기능이 지속적으로 수행된다는 점에서 흥미롭다. BMP2는 넙치의 발생단계별 체형변화에서도 확인되지 않았고(데이터 안나타냄), 인위적 환경 변화에서도 별다른 발현패턴이 탐지되지 않았다. 이 점은 15개의 다른 서브타입으로 나뉘어져 있는 BMP 유전자군 중 다른 형이 넙치의 발생단계에 영향을 미칠 것이라는 점을 뒷받침 해주었다.

#### 4. 결 론

넙치의 서식 환경 중 주변색의 변화에 대한 체색변화를 관찰한 결과 주변색과 비슷한 체색으로 변화하는데 소요되는 시간은 다소 차이가 있었으나, 일반 모래가 7.5시간으로 가장 짧고, 흰색 계통인 빨강·녹색·파랑 자갈이 각각 18.5시간으로 가장 길었다. 주변색의 변화에 따른 72시간 동안 넙치의 생존율은 검정·일반 모래, 노란 자갈에서는 80 % 이상의 높은 생존율을 보였고, 자극적인 흰색 계통의 빨강·녹색·파랑 자갈에서는 46 % 내외로 생존율이 낮게 나타났다. 넙치의 급격한 주변색 변화에 따른 체색의 변화시간을 조사한 결과 모든 실험구에서 체색 변화시간이 단축되었다. 넙치의 급격한 주변색 변화에 따른 생존율을 조사한 결과 체색 변화시간은 단축되었으며, 자극적인 흰색 계통의 주변색(빨강·파랑·보라·분홍색 자갈)에서 자연 계통색(검정·일반 모래, 노란 자갈)으로 이동시 생존율이 80 % 내외로 높은 반면, 자연계통색에서 흰색계통의 주변색으로 이동시 40 % 내외로 생존율이 급격히 떨어지는 것을 알 수 있었다.

주요(major) 콜라겐 분자종인 I형 콜라겐과는 대조적으로 미량(minor) 콜라겐 분자종인 V/XI형(COLV/XI $\alpha$ 1)은 흰색, 분홍, 하늘, 파랑 등 인위적 환경변화에는 영향을 받았다. 세포 외 기질(extracellular matrix)을 분해하는 효소인 MMP 중 MMP2와 MMP의 효소활성을 억제하는 TIMP2는 넙치 초기 발생단계에 있어서는 발현패턴이 동일하여 콜라겐을 비롯한 세포 외 기질의 생합성 및 분해가 활발하게 이루어지면서 개체의 성숙이 이뤄진다는 것을 나타내 주었으나, 인위적 환경변화에서는 영향을 받지 않고 모든 개체에서 균일하게 발현패턴이 확인되었다. 뼈와 연골의 발생에 중요한 역할을 수행하는 BMP2는 넙치의 초기 발생 중에는 발견되지 않았으나, 그 기능의 특성상 BMP2 이외의 다른 15개의 서브타입 BMP 유전자가 넙치 초기 발생과정 중 발현할 것이라 사료된다. 어류의 흑색소포내의 멜라노솜을 응집시켜 경골 어류의 피부색을 밝게 보이게끔 만든다고 알려진 MCH는 흰색, 노란색 등 밝은 계통의 배경색에서 사육한 넙치에서 상대적으로 높은 발현을 보였으며, 경골어류인 넙치에 있어서 MCH-R1 및 MCH-R2가 모두 존재한다는 것을 본 실험을 통해서 밝혔다. POMC에는 3개의 서브타입이 존재하는데, 발현량이 높은 POMC-A와 MCH-R2의 발현패턴을 비교해보면 보통 모래와 하늘색 모래에서 상반되는 발현패턴이 관찰되었다. 이것은 넙치가 시각적으로 갈색(보통 모래)과 하늘색에서 반응을 보인다는 점을 반영해준다. 이러한 유전자 분석을 기반으로 넙치에게 보다 안정적인 인위적 환경을 조성해 줄 수 있고, 더불어 양식어민의 소득증대에도 기여할 수 있다고 판단된다.

## 사 사

이 논문은 2009년 정부(교육과학기술부)의 재원으로 한국연구재단의 지원을 받아 수행된 연구임(2009-0077476).

## 참고문헌

- 정문기, 한국어도보, 일지사, 1~727 (1986).
- 손맹현, 박민우, 김웅오, 임한규, 김대중, 안철민, 엄기혁, 김성길, 조용철, 이창훈, 황형규, 윤성중, 한석중, 최낙중, 박영병, 어윤양, 넙치 양식 표준 지침서. 국립수산물과학원, 4~5(2006).
- 김용익, 어류학 총론, 태화출판사, 1~199(1989).
- 박철원, 허형택, 김종만, 이순길, 손진기, 전중균, 김형배, 명정구, 박인석, 김병기, 김형선, 홍경표, 김민석, 박용주, 최희정, 노봉호, 김용구, 박한영, 이남주, 손완호, 박삼순, 김후관, 넙치 종묘 대량 생산 기술 개발, 과학기술처, 114~118(1993).
- 한경호, 김용익, “넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 초기생활사에 관한 연구 I. 난 발생과정 및 자치어의 형태발달”, 여수수산대학교 논문집, 제11권, 2호, 225~229(1997).
- 유진형, Toshio Takeuchi, 정관식, “넙치 변태기에 있어 저수온 스트레스가 갑상선 호르몬과 백화현상에 미치는 영향”, 한국수산학회지, 제36권, 1호, 65~67(2003).
- 전정민, 송영환, “넙치(*Paralichthys olivaceus*)에서 멜라닌 농축 호르몬 cDNA 유전자의 클로닝”, 한국수산학회지, 제36권, 5호, 442~446(2003).
- 강석중, 조창환, “넙치의 백화현상 규명에 관한 연구 I. 멜라닌 색소 생성에 미치는 효소와 기질의 영향”, 한국양식학회지, 제3권, 2호, 155~165(1990).
- 김종현, “양식산 넙치의 백화현상에 따른 아미노산 조성의 비교”, 한국식품영양학회지, 제12권, 5호, 496~501(1999).
- 김종현, “양식산 넙치의 백화현상에 따른 지질 및 지방산의 비교”, 한국식품영양학회지, 제12권, 5호, 502~507(1999).
- 유진형, 정관식, “넙치 변태기에 있어 저수온 스트레스가 갑상선 호르몬과 백화현상에 미치는 영향”, 한국수산학회지, 제36권, 1호, 65~67(2003).
- 유진형, 정관식, “브라질산 알테미아의 지방산 성분이 넙치의 백화발현에 미치는 영향”, 한국양식학회, 2001년도 추계 한국양식학회 학술대회 요약집, 267~268(2001).
- 허민도, 강형길, 최희정, “복수를 동반하는 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 병증예에 대한 병리조직학적 관찰”, 한국수의병리학회, 2001년도 추계 학술대회 요약집, 32(2001).
- 최희정, 강형길, 조병열, “넙치(*Paralichthys olivaceus*)의 pasteurellosis에 관한 병리조직학적 관찰”, 한국어업기술학회, 2001년도 춘계 수산관련학회 공동학술대회발표요약집, 507~508(2001).