

양식산 수컷 뱀장어 *Anguilla japonica*의 인위적 성숙유도에 따른 혈중 성호르몬 변동과 정소 발달

김응오 · 배준영¹ · 임상구 · 손맹현¹ · 박민우¹ · 박미선¹ · 조용철 · 김대중^{1*}
국립수산과학원 내수면양식연구소, ¹수산생명과학본부 양식연구팀

Plasma Sex Steroid Hormone Profiles and Testicular Development in Artificially Maturing Cultured Male Eel, *Anguilla japonica*

Eung-Oh KIM, Jun-Yong BAE¹, Sang-Gu LIM, Maeng-Hyun SON¹,
Min-Woo PARK¹, Mi-Seon PARK¹, Yong-Chul CHO¹ and Dae-Jung KIM^{1*}
Inland Aquaculture Research Institute, NFRDI, Kyeongsangnam-do 645-806, Korea
¹Aquaculture Research Team, NFRDI, Busan 619-902, Korea

We investigated the changes in body weight (BW), plasma sex steroid hormone profiles, and testicular development of cultured male eel *Anguilla japonica* during an artificial maturation process. Eels that received weekly intraperitoneal injections of eel's ringer solution containing human chorionic gonadotropin (HCG) were examined. In the ringer-treated control, BW changes decreased slowly during the experimental period. Plasma testosterone (T), 11-ketotestosterone (11-KT) and 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP) levels in the control remained low and did not show significant changes. Moreover, all germ cells in the testes of the control were spermatogonia. In the HCG-treated male eels, however, BW changes increased gradually from the fifth week and then decreased slowly. The plasma T level increased rapidly ($p < 0.05$) in the second week and then decreased slowly. The plasma 11-KT level increased dramatically ($p < 0.05$) in the second week and was maintained until the end of the experiment. The plasma DHP level increased progressively from the second week and peaked in the eighth week ($p < 0.05$). The testes of HCG-treated male eels were more developed than those of the control; most were at the spermatozoa and spermatid stages and showed active spermiation. Thus, spermatogenesis and spermiation in the cultured eel can be induced by repeated injections of HCG.

Key words: Eel, *Anguilla japonica*, Sex steroid hormone, HCG, Testicular development

서론

뱀장어 (*Anguilla japonica*)는 고부가가치의 양식어종으로 현재까지 인공종묘생산기술이 정립되지 않아 100% 자연산 실뱀장어 채포에 의존한 불완전양식으로 수행되고 있다. 또한 종묘로 이용되는 실뱀장어의 공급량과 가격이 불안정하여 뱀장어 양식의 문제점으로 지적되고 있다. 이러한 문제점을 해결하기 위해 뱀장어 인공종묘생산을 통한 완전양식을 실현하고자 많은 연구가 수행되어 왔으며 (Yamamoto and Yamauchi, 1974), 최근 일본 양식연구소 번식연구팀에서 인위적인 성숙유도에 의해 유도된 양식산 뱀장어에서 부화자어를 생산 및 실뱀장어로 변태에 성공 (Tanaka et al., 2001; Tanaka, 2003) 하여 이후 60 cm 이상 성장한 것으로 알려져 있다.

뱀장어는 인위적인 사육환경에서는 뇌하수체의 gonadotropin (GTH) 합성능력이 미흡하여 생식소가 발달하지 않는 것으로 알려져 있고 (Nagahama and Yamamoto, 1973), 이러한 당단백질성 GTH는 어류를 포함한 척추동물의 생식소 형성과

발달에 필수적인 것으로 보고되고 있다 (Kumar et al., 1997; Ma et al., 2004). 그러나, 최근 연구결과에 따르면 양식산 암컷 뱀장어를 장기간 (3개월) 해수에 순치함으로써 GSI 증가 및 초기 난황구기의 난소발달을 나타내고, 또한 외재성 GTH에 대한 반응성을 증가시켜 투여횟수를 단축시킬 수 있다고 보고하였다 (Kagawa et al., 1997).

한편 양식산 수컷 뱀장어의 정소는 대부분 정원세포로 구성 되어져 있으며, 이러한 개체를 해수에 장기 사육하더라도 암컷과는 달리 성숙이 진행되지 않는다고 보고하였다 (Yamamoto et al., 1972). 그러므로 수컷 뱀장어의 인위적 성숙유도는 human chorionic gonadotropin (HCG) 처리에 의해 정자형성 (spermatogenesis) 및 배정 (spermiation)이 효과적으로 유도된다고 보고하고 있다 (Yamamoto and Yamauchi, 1974; Ohta et al., 1996; Adachi et al., 2003). 이러한 이전의 연구들은 수컷 뱀장어의 정소발달 및 배정에 HCG가 효과적임을 입증하고 있으나, HCG의 처리기간에 따른 개체들의 성숙 정도와 관련된 혈중 성호르몬의 변동에 관한 내분비학적 접근이 거의 이루어지지 않고 있는 실정이다.

*Corresponding author: djkim4128@momaf.go.kr

따라서 본 연구는 뱀장어의 인공종묘생산 기술을 확립하기 위한 목적으로 수컷 뱀장어에 있어서 HCG 처리에 의한 인위적인 성성숙 기간 동안 체중의 변화와 혈중 성호르몬의 농도 분석을 통해 성숙도를 확인하여 인위적 성성숙 유도에 의한 내분비 기구를 파악하고자 한다.

재료 및 방법

실험어 및 사육관리

실험어 (평균 220 g)는 국립수산물과학원 진해 내수면 연구소에서 제공받아, 유수식 사육시스템에 수용하여 일주일간 점차적으로 해수에 순치시켰다. 실험기간 동안 사육수온은 히터펌프를 이용하여 $19.5 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 를 유지하였고, 에어레이션을 통해 산소를 충분히 공급하였다. 실험기간 중 사료는 공급하지 않았다.

호르몬 투여

해수 순치 이후, 1회 호르몬 투여 직전에 개체식별을 위해 Tag ID microchip ($\phi 2.1 \times 12$ mm, DESTRON technologies, USA)을 뱀장어 등근육에 삽입하여 mini portable reader (HS5900LF, DESTRON technologies, USA)로 개체 ID를 식별하였다. 양식산 수컷 뱀장어에 human chronic gonadotropin (HCG; 1 IU/g body weight/week; Sigma)을 매주 복강에 주사하였고 (n=12), 대조구 (n=6)는 eel's ringer액 (Ohta et al., 1996)을 주사하였다.

어체측정 및 혈액 채취

실험어는 2-phenoxyethanol (200 ppm)로 마취하여 매주 어체측정을 실시하여 체중변화를 확인하였고, 혈액채취는 heparin을 처리한 일회용 주사기를 이용하여 격주로 채혈을 실시하여 4°C , 3,600 g에서 15분간 원심분리 후, 상층액을 방사선면역측정법으로 혈중 성호르몬 (testosterone; T, 11-ketotestosterone; 11-KT 및 $17\alpha, 20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one; DHP) 농도 측정전까지 -40°C 에서 보관하였다.

방사선 면역 측정법

혈중 T와 DHP 농도는 국립수산물과학원 수산생명물질정보센터에서 Kim et al. (2006)의 방법에 따라 방사선 면역 측정법 (Radioimmunoassay, RIA)에 의해 측정하였다. 또한 혈중 11-KT RIA계에 있어서 항체 anti-11-KT-6-CMO-BSA는 Cosmo-Bio Co. Ltd. (Tokyo, Japan), 비방사선 11-KT 호르몬은 Steraloids Inc. (Wilton, NH, USA) 및 방사선 표지 호르몬 [$2,4,6,12\text{-}^3\text{H}$]-11-KT는 Amersham Life Science (England)로부터 구입하여 측정계를 구축하였다. 11-KT RIA계에 있어서 최소 검출량은 10 pg/mL이었으며, assay내와 assay간의 변동계수는 3.9% (n=4), 7.3% (n=8)였다. 11-KT RIA계에 있어서 11-KT 항체와 dihydrotestosterone과는 1.4%, androsten-3,17-dione과는 0.1%, testosterone과는 7.5% 및 androstenedione과는 0.5%의 교차율을

을 나타내었으며, 조사된 타 steroid들과는 0.001% 이하의 교차율을 나타내었다.

조직학적 관찰

양식산 수컷 뱀장어의 정소 발달 정도를 확인하기 위해 실험종료 후, 각 실험구 당 3마리씩 2-phenoxyethanol (200 ppm)로 마취시킨 뒤 정소를 적출하여 Bouin's액에 고정하였다. 고정된 조직들은 paraffin 상법에 따라 paraplast로 포매한 후, 미세 조직 절편기를 이용하여 $5 \mu\text{m}$ 크기로 연속절편하였다. 각 조직의 절편은 hematoxylin-eosin으로 이중염색하여 Miura et al. (1991a)의 방법에 따라 정소 발달 정도를 관독하였다.

통계처리

통계처리는 분산분석 후, Duncan's new multiple range test에 의해서 유의성 검정을 실시하였다 ($p < 0.05$).

결 과

체중 및 성호르몬의 변화

대조구의 체중변화와 혈중 성호르몬의 변동에 관한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 각 개체별 (n=6) 체중변화에 있어서 대부분의 개체는 주사 1주 후 체중이 증가하였다가 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 혈중 성호르몬 (T, 11-KT 및 DHP) 농도 역시 실험기간 동안 검출한계 이하 혹은 저농도였고, 호르몬 투여 기간별 유의한 차이는 없었다 ($p < 0.05$).

HCG 처리구에 대한 체중변화와 혈중 성호르몬의 변동에 관한 결과를 Fig. 2에 나타내었다. 각 개체별 (n=12) 체중변화에 있어서 대부분의 개체는 HCG 투여 후 1-5주까지 점차적으로 증가하였고, 그 이후부터 실험 종료기간까지 서서히 감소하는 경향을 나타내었다. 각 개체들에 대한 혈중 T의 평균농도는 HCG 투여 2주 후에 0.96 ± 0.099 ng/mL로 최대치를 나타내었고, 투여 4주 후 0.81 ± 0.102 ng/mL로 감소하기 시작하여 투여 8주 후에는 0.26 ± 0.031 ng/mL로 감소하였다. 각 개체들에 대한 혈중 11-KT의 평균농도는 HCG 투여 후 지속적으로 증가하였고, 투여 2주 후에 6.95 ± 0.606 ng/mL, 투여 8주 후에는 최대치 7.83 ± 0.954 ng/mL를 나타내었지만, HCG 투여 후 각 기간별 유의한 차이는 없었다 ($p < 0.05$). 각 개체들에 대한 혈중 DHP의 평균농도는 HCG 투여 후부터 전 실험기간 동안 유의적으로 증가하였다 ($p < 0.05$). 투여 4주 후 혈중 DHP의 평균농도는 0.15 ± 0.027 ng/mL로 급격히 증가하였고, 투여 8주 후 0.26 ± 0.031 ng/mL로 최대치를 나타내었다 ($p < 0.05$).

HCG투여에 따른 양식산 수컷 뱀장어의 정소 발달

양식산 수컷 뱀장어의 인위적 성성숙 유도에 따른 정소내 정도세포의 발달 정도를 Fig. 3에 나타내었다. 대조구 개체들의 정소 내 생식세포 (germ cells)는 정원세포 (spermatogonia)들로 구성되어 있었고 (Fig. 3-A), 이는 실험개시 이전과 유사

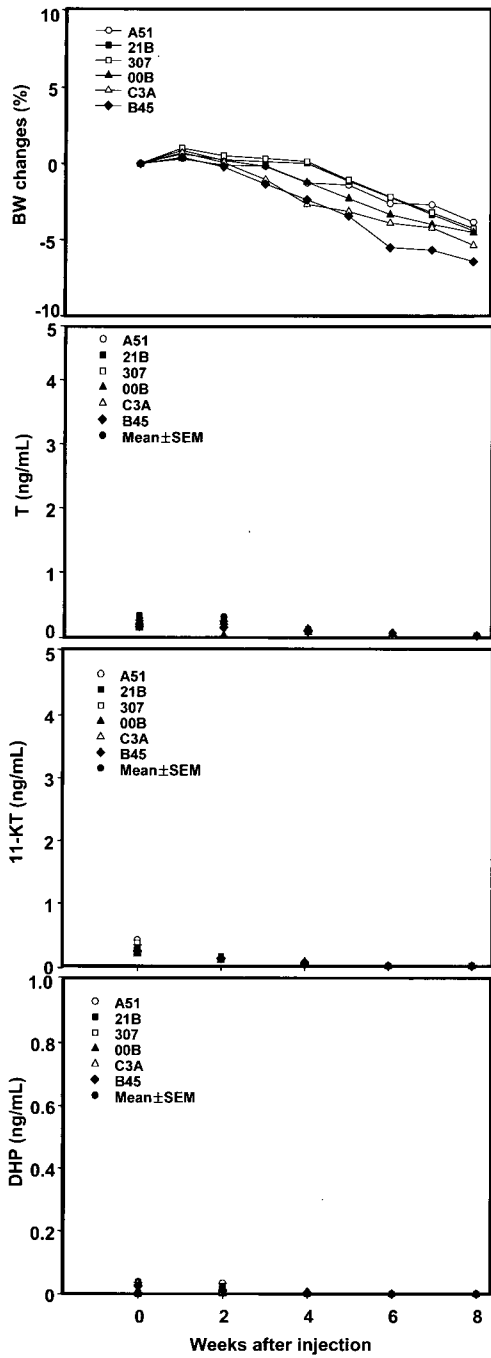


Fig. 1. Changes in body weight (BW) and plasma levels of sex steroid hormone (testosterone; T, 11-ketotestosterone; 11-KT, 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one; DHP) in cultured male eel injected with eel's ringer solution (control). Different symbols indicate individual fish. Closed circles (●) represent mean \pm SEM at each point. A significant difference was observed between points indicated by different letters ($p < 0.05$).

한 발달정도를 나타내었다 (data not shown). 8주간 HCG를 투여한 개체들의 정소는 정세포 (spermatid)와 정자포낭 (cysts

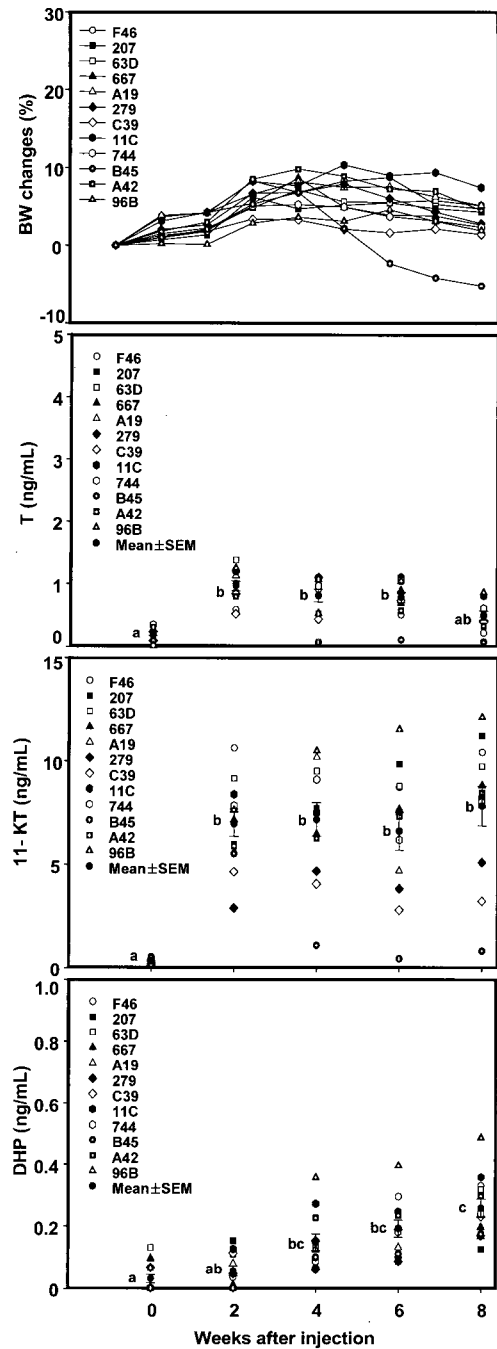


Fig. 2. Changes in body weight (BW) and plasma levels of sex steroid hormone (testosterone; T, 11-ketotestosterone; 11-KT, 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one; DHP) in cultured male eel injected with human chronic gonadotropin (HCG). Different symbols indicate individual fish. Closed circles (●) represent mean \pm SEM at each point. A significant difference was observed between points indicated by different letters ($p < 0.05$).

of spermatozoa)으로 구성되어 있었으며 (Fig. 3-B), 대부분의 개체들에서 배정이 유도되었다 (data not shown).

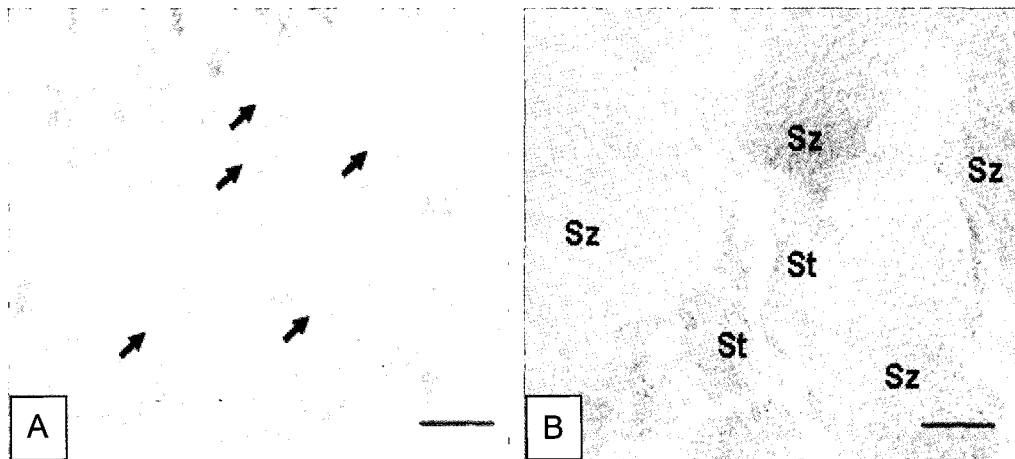


Fig. 3. Light micrographs of the testes in the cultured male eels with or without repeated injections of HCG. (A) Portion of testis of male eel that received weekly injections with eel's ringer solution (control). Arrows (in A) indicate germ cell (spermatogonia). (B) Portion of testis of male eel that received weekly injections with HCG at a dose of 1 IU/g BW. Abbreviations: Sz, spermatozoa; St, spermatid. Bars indicate 100 μ m.

고 찰

뱀장어를 포함한 경골어류에서 정자형성과정은 spermatogonial proliferation (정원세포 증식기), meiosis (감수분열기) 그리고 spermiogenesis (정자완성기)의 3가지 과정으로 나눌 수 있는데, 정원세포는 유사분열을 통해 증식하고, 정모세포 (spermatocytes)로 발달하여 감수분열을 통해 반수체의 정세포 (spermatids)가 생산되어 정자 (spermatozoa)로 분화한다 (Miura et al., 2002). 뇌하수체에서 분비되는 당단백질 호르몬인 GTHs (FSH, LH)는 어류를 포함한 척추동물의 생식소 형성과 발달에 관여하는 주요 호르몬이지만, 직접적으로는 작용하지 않고 GTHs의 자극에 의해 정소에서 합성되는 여러 스테로이드 호르몬들의 작용으로 유도된다 (Nagahama, 1994). 그러나 뱀장어는 암컷과 수컷 모두 이들의 사육환경에서는 뇌하수체의 GTH의 합성능력이 미약하여 생식소 발달 및 최종성숙이 이루어지지 않기 때문에 외제성 호르몬을 처리하여 인위적으로 성숙을 유도하고 있다.

뱀장어 (*Anguilla japonica*)에 있어서, GTH의 일종인 HCG를 처리하게 되면 HCG가 정소내 Leydig cell를 자극하여 수컷의 주요 안드로젠인 11-KT의 합성을 유도하며, 11-KT는 Sertoli cell에 작용하여 activin B를 생산하여 정원세포의 증식을 유도한다. 한편 정자 성숙과정에 있어서 DHP 전구체가 Leydig cell에서 합성되어 정자내 존재하는 20 β -hydroxysteroiddehydrogenase (20 β -HSD)의 작용에 의해 DHP로 전환되며, 수정 관내 pH를 상승시켜 정자의 성숙을 유도한다고 알려져 있다 (Miura et al., 1991a; 1991b, 2003).

Ohta and Takano et al. (1996)은 *A. japonica* (14.8 cm, 3.2 g)에 methyl-testosterone 을 경구투여한 결과 정자형성 및 배정을 유도한 반면, Chiba 등 (1996)은 *A. japonica* (29 cm, 30-50 g) 수컷에 HCG를 주사한 결과 혈중 11-KT 농도에 영향이 없거나 정자가 형성되지 않았지만, 32 cm 이상의 개체들은

혈중 11-KT 농도의 증가에 의해 정소의 성숙이 유도되었다. 이러한 연구결과는 HCG에 대한 뱀장어 수컷의 정자형성과정은 정소에서 합성되는 안드로젠 생산능력에 의해 좌우됨을 제시하고 있으며, 향후 뱀장어 수컷의 안드로젠 생산능력에 관한 세부적인 연구가 수반되어야 할 것으로 생각된다.

본 연구는 양식산 수컷 뱀장어에 있어서 8주간의 HCG 처리에 따른 인위적인 성숙유도 기간에 대한 체중과 혈중 성호르몬의 변화 및 정소 발달양상을 조사하였다. 혈중 11-KT의 농도는 HCG 처리 2주 후부터 급격히 증가하여 이후 소량 감소하거나 유지되는 경향을 보였고, 이는 HCG를 처리한 뱀장어는 정소에서 11-KT를 생산하여 정원세포의 증식과정과 감수분열에 중요한 역할을 수행했음을 나타내고 있다. 또한, 본 연구에서 뱀장어의 혈중 T 농도는 HCG 처리 2주 후부터 급격히 증가하여 이후 점차적으로 감소하는 경향을 나타내었고, 이는 HCG 처리 2주 후부터 뱀장어 수컷의 정소에서 정자형성에 접어든 것으로 판단된다. 이러한 결과는 경골어류에 있어서 T는 정자형성기간동안 증가하여 정자완성기가 시작되면 감소함으로써 정자형성과정에 중요한 역할을 수행하는 것으로 알려져 있는 결과와 일치하나 (Fostier et al., 1983), 정어리 (*Sardinops melanostictus*)에서는 정자형성보다는 배정과정에서 중요한 역할을 수행한다는 보고도 있다 (Matsuyama et al., 1991).

Ohta et al. (1996)은 양식산 수컷 뱀장어 (*A. japonica*)에 HCG (1 IU/g body weight (BW)/week)를 5-6주간 반복주사하여 정자형성 (spermatogenesis) 및 배정 (spermiation)을 효과적으로 유도하였고, Miura et al. (1991a)은 고농도의 HCG (5 IU/g BW) 주사 18일 후 정자형성이 유도되었다고 보고하였다. 또한 유럽산 뱀장어 *A. anguilla*의 경우, HCG (250 IU/g 40-110 g BW) 처리에 의해 3개월 이내에 배정이 유도되었다 (Khan et al., 1987). 이러한 이전의 연구들은 뱀장어 수컷의 정소발달 및 성숙에 HCG가 효과적임을 입증하고 있다. 한편, HCG의 처리

간격에 대한 연구에 있어서, Ohta et al. (1997)은 *A. japonica*에 HCG 1회 주사 후 1, 3, 7, 14 그리고 21일 후 혈중 성호르몬 농도를 측정된 결과, 주사 후 3일까지는 유의한 차이가 없다고 보고하였다. 이는 뱀장어에 대한 HCG 주사간격은 일주일 정도가 적합한 것으로 판단된다. 이에 대해 본 연구에서 호르몬 주사는 일주일 간격으로 실시했으나 혈액채취는 2주 간격으로 실시했으므로 이전의 결과와 직접적인 비교는 할 수 없으나, 향후 이에 대한 세부적인 연구를 통해 호르몬 주사에 관한 적절한 간격을 설정해야 할 것으로 판단된다.

뱀장어를 포함한 다수의 경골어류에서는 정자의 성숙에 DHP가 관여하는 것으로 보고된 바 있으며, 연어과 어류의 난성숙유도에도 관여하는 것으로 알려져 있다 (Nagahama and Adachi, 1985). DHP는 정자에 직접적으로 작용하지 않고, 정자의 pH를 상승시켜 정자 내 cAMP의 함량을 증가시킴으로써 정자의 운동성과 배정을 유도하는 기능을 수행하는 것으로 보고되었다 (Miura et al., 1995). 본 연구에서 8주간 HCG를 주사한 수컷 뱀장어의 혈중 DHP의 농도는 실험기간 동안 점차적으로 증가하는 경향을 나타내었다. 이는 정자형성과정 이후 정소가 발달하면서 정자의 성숙을 위해 정소에서 지속적으로 생산되는 것으로 추정된다.

결론적으로 본 연구에서는 뱀장어 수컷의 인위적인 성숙은 GTH의 일종인 HCG에 의해 효율적으로 유도할 수 있었고, 이는 HCG의 주사에 의해 정소에서 생산 및 분비되는 T, 11-KT 및 DHP와 같은 성호르몬의 작용에 의해 정자형성 및 배정이 이루어졌다. 향후, 뱀장어에 대한 호르몬의 적정 처리간격과 체내 반응성 향상에 관한 연구가 수반된다면 뱀장어의 정소발달에 관한 성호르몬들의 역할과 내분비 기구를 구명할 수 있을 것으로 생각된다.

사 사

본 연구는 국립수산물품질관리원(수산생물의 번식기구 연구, RP-2006-AQ-028)의 지원에 의해 수행되었습니다.

참 고 문 헌

- Adachi, S., S. Ijiri, Y. Kazetom and K. Yamauchi. 2003. Oogenesis in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. In: Eel Biology. Aida, K., K. Tsukamoto and K. Yamauchi, eds. Springer-Verlag, Tokyo, 301-317.
- Chiba, H., T. Miura, M. Nakamura and K. Yamauchi. 1996. Differentiation of steroid-producing cells and induction of spermatogenesis during testicular differentiation in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. In: Proc. 3rd Congress of the Asia and Oceania Society of Comparative Endocrinology. Joss, J., ed. Macquarie University, Sydney, 232-233.
- Fostier, A., B. Jalabert, R. Billard, B. Breton and Y. Zohar. 1983. The gonadal steroid. In: Fish Physiology Vol. 9B. Hoar, W.S. and D.J. Randall, eds. Academic Press, New York, 277-316.
- Kagawa, H., N. Iinuma, H. Tanaka, H. Ohta and K. Okuzawa. 1997. Effects of rearing period in seawater on induced maturation in Japanese eel, *Anguilla japonica*. Fish. Sci., 64, 77-82.
- Khan, I.A., E. Lopez and J. Leloup-Hatey. 1987. Induction of spermatogenesis and spermiation by a single injection of human chorionic gonadotropin in intact and hypophysectomized immature European eel (*Anguilla anguilla* L.). Gen. Comp. Endocrinol., 68, 91-103.
- Kim, D.J., E.H. Kim, M.W. Park, Y.C. Cho and S.G. Lim. 2006. Plasma sex steroid hormone profiles in artificially maturing wild eel, *Anguilla japonica*. J. Aquacult., 19, 267-274.
- Kumar, T.R., Y. Wang, N. Lu and M.M. Matzuk. 1997. Follicle stimulating hormone is required for ovarian follicle maturation but not male fertility. Nat. Genet., 15, 201-204.
- Ma, X., Y. Dong, M.M. Matzuk and T.R. Kumar. 2004. Targeted disruption of luteinizing hormone β -subunit leads to hypogonadism, defects in gonadal steroidogenesis, and infertility. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 101, 17294-17299.
- Matsuyama, M., S. Adachi, Y. Nagahama, C. Kitajima and S. Matsuura. 1991. Testicular development and serum levels of gonadal steroids during the annual reproductive cycle of captive Japanese sardine. Jap. J. Ichthyol., 37, 381-390.
- Miura, T., K. Yamauchi, Y. Nagahama and H. Takahashi. 1991a. Induction of spermatogenesis in male Japanese eel, *Anguilla japonica* by a single injection of human chorionic gonadotropin. Zool. Sci., 8, 63-73.
- Miura T., K. Yamauchi, H. Takahashi and Y. Nagahama. 1991b. Human chorionic gonadotropin induces all stages of spermatogenesis *in vitro* in the male Japanese eel (*Anguilla japonica*). Dev. Biol., 146, 258-262.
- Miura, T., K. Yamauchi, H. Takahashi and Y. Nagahama. 1991c. Hormonal induction of all stages of spermatogenesis *in vitro* in the male Japanese eel (*Anguilla japonica*). Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A., 88, 5774-5778.
- Miura, T., T. Kasugai, Y. Nagahama and K. Yamauchi. 1995. Acquisition of potential for sperm motility *in vitro* in Japanese eel, *Anguilla japonica*. Fish. Sci., 61, 533-534.
- Miura, T., N. Ando, C. Miura and K. Yamauchi. 2002.

- Comparative studies between *in vivo* and *in vitro* spermatogenesis of Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Zool. Sci.*, 19, 321-329.
- Miura, T., C. Miura and K. Yamauchi. 2003. Spermatogenesis in the Japanese Eel. In: *Eel Biology*. Aida, K., K. Tsukamoto and K. Yamauchi, eds. Springer-Verlag, Tokyo, 319-329.
- Nagahama, Y. and K. Yamamoto. 1973. Cytological changes in the adenohipophysis of freash water cultivated male Japanese eel, *Anguilla japonica* induced to maturation by transfer to sea water and synahorin injection. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 39, 585-594.
- Nagahama, Y. 1994. Endocrine regulation of gametogenesis in fish. *Int. J. Dev. Biol.*, 38, 217-229.
- Nagahama, Y. and S. Adachi. 1985. Identification of maturation inducing steroid in a teleost, the among salmon (*Oncorhynchus rhodurus*). *Dev. Biol.*, 109, 428-435.
- Ohta, H., H. Kagawa, K. Tanaka, K. Okuzawa and K. Hirose. 1996. Milt production in the Japanese eel, *Anguilla japonica* induced by repeated injections of human chorionic gonadotropin. *Fish. Sci.*, 62, 44-49.
- Ohta, H. and K. Takano. 1996. Testicular maturation induced by methyl-testosterone in elvers of the Japanese eel. *Fish. Sci.*, 62, 990-991.
- Ohta, H., H. Kagawa, H. Tanaka, K. Okuzawa, N. Iinuma and K. Hirose. 1997. Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish. Physiol. Biochem.*, 17, 163-169.
- Tanaka, H., H. Kagawa and H. Ohta. 2001. Production of leptocephali of Japanese eel (*Anguilla japonica*) in captivity. *Aquaculture*, 201, 51-60.
- Tanaka, H., 2003. Techniques for larval rearing. In: *Eel Biology*. Aida, K., K. Tsukamoto and K. Yamauchi, eds. Springer-Verlag, Tokyo, 427-434.
- Yamamoto, K, O. Hiroi, T. Hirano and T. Morioka. 1972. Artificial maturation of cultivated male eel Japanese eel by synahorin injection. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.*, 38, 1083-1090.
- Yamamoto, K. and K. Yamauchi. 1974. Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. *Nature*, 251, 220-222.

2006년 11월 2일 접수
2006년 12월 26일 수리