

## 자연산 뱀장어의 인위적인 성숙 유도에 따른 혈중 성호르몬 변동

김대중\*, 김응오, 박민우, 조용철<sup>1</sup>, 임상구<sup>1</sup>

국립수산과학원 수산생명과학본부 양식연구팀, <sup>1</sup>국립수산과학원 내수면양식연구소

### Plasma Sex Steroid Hormone Profiles in Artificially Maturing Wild Eel, *Anguilla japonica*

Dae-Jung Kim\*, Eung-Oh Kim, Min-Woo Park, Yong-Chul Cho<sup>1</sup> and Sang-Gu Lim<sup>1</sup>

Aquaculture Research Team, NFRDI, Busan 619-902, Korea

<sup>1</sup>Inland Aquaculture Research Institute, NFRDI, Kyeongsangnam-do 645-806, Korea

To understand the changes in plasma levels of sex steroids in the wild Japanese eel *Anguilla japonica* during artificially maturing process, eels received weekly intraperitoneal injections of a water-in-oil (W/O) type emulsion with Freund's incomplete adjuvant containing salmon pituitary extract (SPE; 20 mg pituitary powder/fish) were examined. In the weekly Eel's Ringer-treated control wild eels, the body weight (BW) changes of fish decreased slowly during the experiment period. Plasma testosterone (T), estradiol-17 $\beta$  (E<sub>2</sub>) and 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ -dihydroxyprogesterone (DHP) levels did not change significantly at the end of the experiment. In the weekly SPE-treated silver eels, however, rapid increase in BW changes occurred after 6 to 10 weeks, and the oocytes of all fish were observed to be in the migratory nucleus stage. Furthermore, significant increase in sex steroid hormones (T and E<sub>2</sub>) levels occurred from 6 weeks. In the weekly SPE-treated yellow eels, the BW changes of fish increased slowly at 6 weeks and then increased. In these fish, the oocytes were at the tertiary yolk globule stage even at the end of the experiment. Plasma sex steroid hormones profiles revealed individual variability in SPE-treated yellow eels. Plasma T and E<sub>2</sub> levels significantly increased at 8 weeks and after 6 weeks, respectively, in SPE-treated yellow eels. In the weekly SPE-treated wild eels (silver and yellow eels), however, plasma DHP levels did not change significantly during the experiment period. In silver eel, final maturation could be induced by weekly administration of SPE using W/O type emulsion.

**Keywords:** Wild eel, *Anguilla japonica*, Artificial maturation, Sex steroid hormone

### 서론

뱀장어는 뱀장어목 뱀장어아목 뱀장어과에 속하는 어종으로, 세계 뱀장어속 어류는 15종과 3아종의 18종류가 있으며, 대부분이 인도양-태평양의 열대지방에 서식하며, 북반구의 온대종으로는 극동산 뱀장어(*Anguilla japonica*), 유럽산 뱀장어(*A. anguilla*) 및 미국산 뱀장어(*A. rostrata*) 3종류와 남태평양의 온대에 3종류가 있다(Aoyama, 2003). 그 중 극동산 뱀장어(*A. japonica*)는 Mariana 군도 서방해역에 있는 Suruga seamount 서쪽 부위(14°N, 142°E)에서 갓 부화한(부화후 2~5일) pre-leptocephalus를 대량으로 채집 및 유전자 분석에 의해 극동산 뱀장어의 자어임을 밝혀져(Tsukamoto, 2006), 이 부위가 극동산 뱀장어의 산란장이라는 것이 규명되어졌다(Tsukamoto, 1992, 2006).

한편 뱀장어 양식산업은 내수면 어종중 가장 부가가치가 높은 어종으로 평가되며, 특히 우리나라를 비롯한 일본, 대만, 중국 등에서는 양식을 위한 실뱀장어의 수요가 연간 150여톤에 달한다. 그러나 뱀장어 인공종묘생산기술이 아직 확립되어 있지 않아, 100% 천연 실뱀장어 채포에 의존함으로써 종묘 공급량 및 가격이 매년 불안정한 실정이다. 이러한 이유로 뱀장어 인공종묘생산 기술을 개발하여 알에서 어미까지 완전양식을 실현하고자 많은 시도를 하였다. 日比谷 (1966)가 극동산 silver 뱀장어에 호르몬 처리에 의한 인위적인 성숙유도가 가능하게 된 것을 계기로 Yamamoto and Yamauchi (1974)에 의해 세계 최초로 수정란에서 인공부화자어를 얻는데 성공하였으나, 그 이후 30년 동안 부화자어에 먹이를 공급하여 성장 및 사육하는데 있어서는 성공하지 못했다. 최근 일본 양식연구소 번식연구팀에서 연어 뇌하수체 추출물(salmon pituitary extraction; SPE) 반복투여에 의해 성숙유도된 양식산 뱀장어에서 얻은 부

\*Corresponding author: djkim4128@momaf.go.kr

화자어를 생산 및 상어 난황을 기반으로 하는 초기 액상 배합 사료를 제작·급이하여 부화 250일 이후, 전장 50~60 mm에 달하는 *leptocephalus* 유생에서 실뱀장어로 변태에 성공(Tanaka et al., 2001; Tanaka, 2003) 하였으며, 그 이후 60 cm 이상 성장시킨 것으로 알려져 있다.

또한 극동산 silver 뱀장어의 SPE 투여에 따른 체중 및 혈중 성호르몬 변화에 관한 연구(Sato et al., 2000; Han et al., 2003) 등이 있으나, yellow 뱀장어의 해수 순치후 SPE 투여에 따른 체중 및 혈중 성호르몬 변화에 관한 연구는 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 뱀장어의 인위적 성숙 유도에 의한 인공 증묘 생산 기술을 확립하기 위한 목적으로 우선 자연산(silver 및 yellow) 뱀장어에 있어서 ajuvant에 SPE를 유효시켜 반복 투여함으로써 체중 및 혈중 성호르몬 농도 분석에 의한 성숙도를 비교 분석하여, 추후 배란 유도시 기초 자료를 확립하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 실험어

자연산 silver 뱀장어(630~1350 g; 암컷)는 2004년 10월 중순 충남 태안에서 바다로 내려간 개체를 구입하여 실험재료로 이용하였다. 자연산 yellow 뱀장어(360~780 g; 암컷)는 2004년 10월 중순 경남 하동(섬진강)에서 구입하여, 1주일에 걸쳐 점차적으로 자연 해수에 적응시킨 후 실험어로 이용하였고, 호르몬 투여 1주일 전부터 해수를 20 °C로 서서히 조정 및 유지시켜 사육하였다. 실험 기간중 먹이 공급은 하지 않았다.

### 호르몬 투여

1회 호르몬 투여 직전에 개체 식별을 위해 Tag ID microchip ( $\phi$  2.1×12 mm, DESTRON technologies, USA)를 뱀장어 등쪽 근육에 삽입하여 mini portable reader (HS5900LF, DESTRON technologies, USA)로 개체 ID를 식별하였다. 자연산 silver 및 yellow 뱀장어는 국립수산과학원 연어연구센터에서 채취한 연어 뇌하수체 (*Oncorhynchus keta*)를 동결건조시킨 후, 분말상태로 제작하여 개체당 20 mg을 Eel's Ringer액으로 균질화시킨 추출액(Salmon Pituitary Extraction: SPE)을 Freund's incomplete ajuvant (Dicof)로 제각기 유효시켜 매주 복강에 주사하였다. 대조구는 Eel's Ringer액만으로 Freund's incomplete ajuvant에 유효시켜 매주 복강에 주사하였다.

### 혈액 채취

자연산 silver 및 yellow 뱀장어는 2-phenoxyethanol (200 ppm)로 마취시킨 뒤, 제각기 대조구 및 SPE 투여구의 개체들을 주사후 2주 간격으로 heparin으로 처리된 일회용 주사기로 채혈하였다. 그 후, 4 °C, 6000 rpm에서 15분간 원심분리하여 상층액은 radioimmunoassay법으로 혈중 sex steroid hormone을

측정하기 전까지 -40 °C에서 보관하였다.

### Radioimmunoassay (RIA)

혈중 sex steroid hormone 농도는 국립수산과학원 수산생명물질정보센터에서 Kim and Aida (2000)의 방법에 따라 RIA법에 의해 측정하였다. 각 sex steroid hormone RIA계에 있어서 사용된 토끼 항혈청은 Cosmo-Bio Co. Ltd. (Tokyo, Japan)에서 구입하였고, 비방사선 standard steroid 들은 Steraloids Inc. (Wilton, NH, USA)로부터 구입하였다. 또한 방사선 표지 steroid 들은 Amersham Life Science (England)로부터 구입하였다.

Estradiol-17 $\beta$  (E<sub>2</sub>) RIA계에 있어서 최소 검출량(감도)은 12.5 pg ml<sup>-1</sup> 였으며, assay 내 (intra-assay)와 assay 간 (inter-assay)의 변동계수는 3.4% (n=4), 11.5% (n=6)였다. E<sub>2</sub> RIA계에 있어서 E<sub>2</sub> 항체와 estron과는 0.5%, estriol과는 0.9%, testosterone과는 0.01%의 교차율을 나타내었으며, 조사되어진 타 androgen 류와 progestin류와는 0.01%이하의 교차율을 나타내었다. Testosterone (T) RIA계에 있어서 최소 검출량은 10 pg ml<sup>-1</sup> 였으며, assay내와 assay간의 변동계수는 2.3% (n=3), 12.5% (n=6)였다. T RIA계에 있어서 T 항체와 dihydrotestosterone과는 2.7%, androsten-3,17-dione 및 11-ketotestosterone과는 0.5%, androstenedione과는 0.35%의 교차율을 나타내었으며, 조사되어진 타 steroid들과는 0.001%이하의 교차율을 나타내었다. 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ -dihydroxyprogesterone (DHP) RIA계에 있어서 최소 검출량은 10 pg ml<sup>-1</sup> 였으며, assay내와 assay간의 변동계수는 3.2% (n=4), 9.5% (n=8)였다. DHP RIA계에 있어서 DHP 항체와 17 $\alpha$ ,20 $\alpha$ -dihydroxyprogesterone과는 3.9%, 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ ,21-trihydroxyprogesterone과는 1.8%, 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone과는 0.8%, progesterone과는 0.01%의 교차율을 나타내었으며, 조사되어진 타 steroid들과는 0.01% 이하의 교차율을 나타내었다.

### Histology

자연산 암컷 silver 및 yellow 뱀장어는 실험 개시전, SPE 8회 투여후에 각 1마리씩을 해부하여 난소를 Bouin's 액에 고정한 후, 상법에 따라 paraplast로 포매한 후 5  $\mu$ m 두께로 절편하였다. 각 조직의 절편은 Hematoxylin-Eosin으로 염색하여 Kagawa et al. (1997) 방법에 따라 난소 발달정도를 판독하였다.

### 통계처리

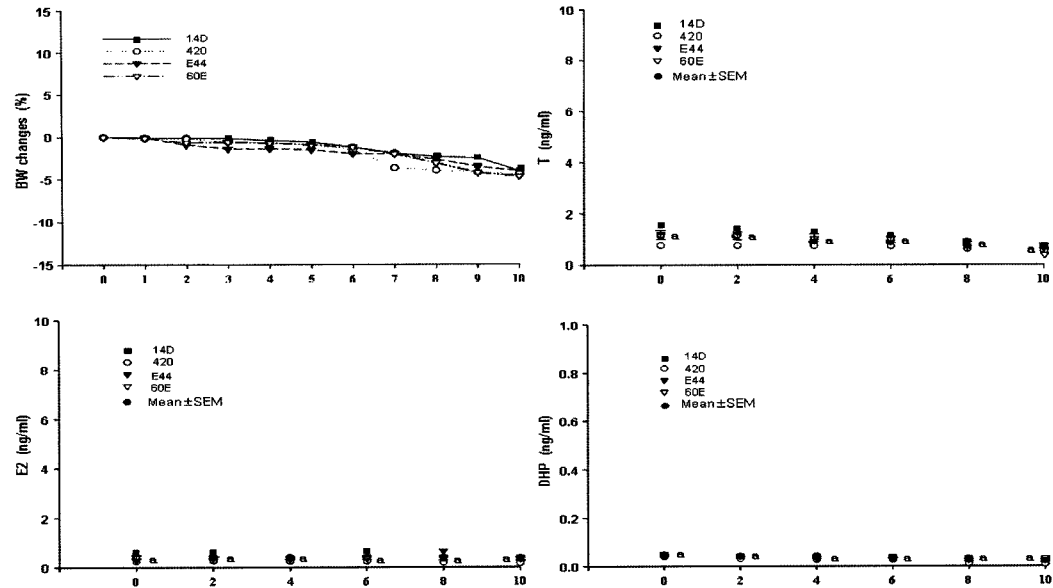
통계처리는 분산분석후, Duncan's new multiple range test에 의해서 유의성 검정을 실시하였다(P<0.05).

## 결 과

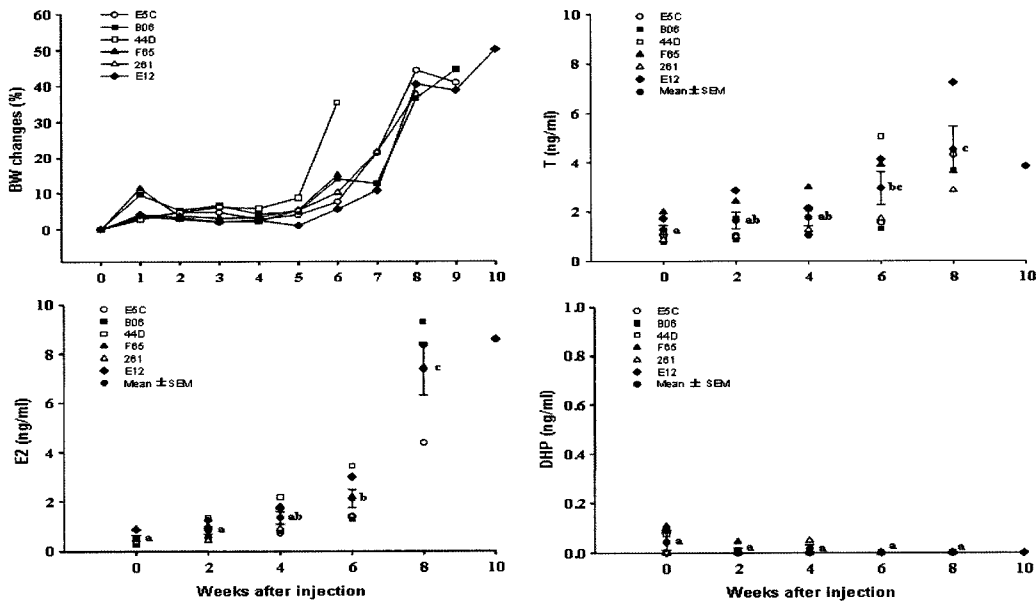
### 자연산 silver 뱀장어의 체중 및 sex steroid hormone 변화

Fig. 1A는 자연산 암컷 silver 뱀장어의 대조구에 있어서 체중 및 혈중 sex steroid hormone의 변동을 나타내었다. 그 결과

(A) Control



(B) SPE

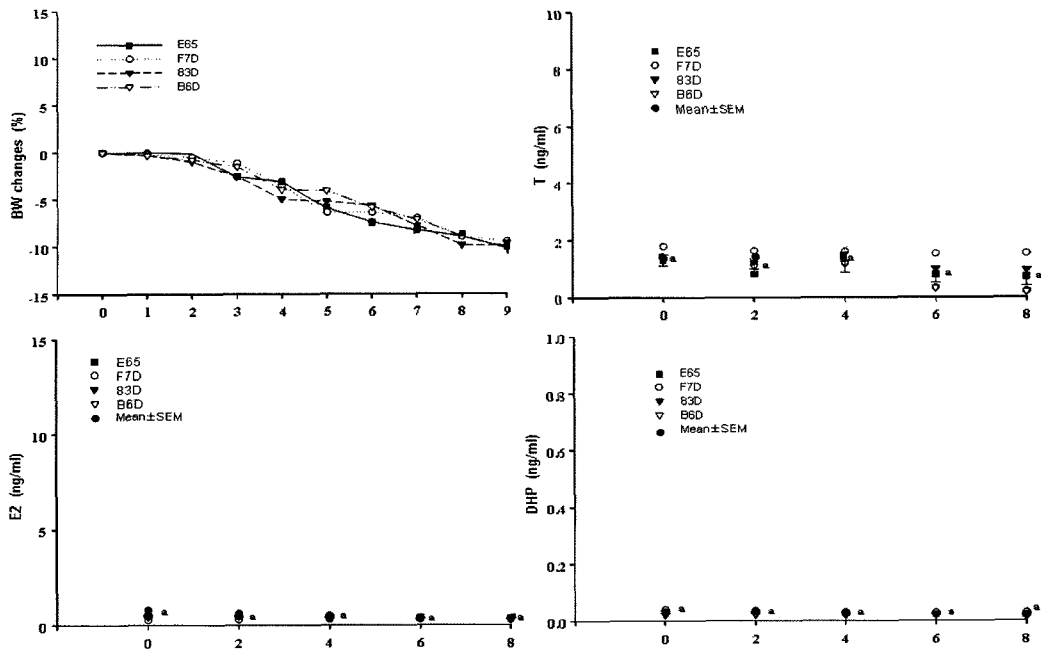


**Fig. 1.** Changes in body weight (BW) and plasma levels of sex steroid hormone (testosterone; T, estradiol-17β; E<sub>2</sub>, 17α,20β-dihydroxypregesterone; DHP) in Japanese silver eel injected with eel's Ringer (A panel; control) or salmon pituitary extraction (B panel; SPE) in Freund's incomplete adjuvant emulsion. Different symbols indicate individual fish. Close circle (●) is represented as mean±SEM in each point. A significant difference (P<0.05) was observed between points indicated by different letters.

Eel's Ringer액을 incomplete adjuvant로 유화시켜 주사한 대조구 암컷 4마리의 체중은 실험 기간중 서서히 감소하는 경향을 나타내었으나, 두드러진 변동은 나타나지 않았다. 한편 대조구의 혈중 T, E<sub>2</sub> 및 DHP 농도는 투여전 각 1.17±0.41 ng/ml, 0.41±0.09 ng/ml 및 0.045±0.018 ng/ml였으며, 투여 10주째에 혈중 T, E<sub>2</sub> 및 DHP 농도는 0.72±0.31 ng/ml, 0.32±0.18 ng/ml 및 0.031±0.014 ng/ml로 감소하였지만 통계학적인 유의성은 보이지 않았다. Fig. 1B는 SPE 투여에 따른 자연산 암컷 silver

뱀장어의 체중 및 혈중 sex steroid hormone의 변화를 나타내었다. 그 결과 암컷 6마리의 체중은 SPE 투여 1주일후부터 투여 5주째 까지 서서히 증가하였지만 급격한 체중 변화는 보이지 않았다. SPE 투여 6주째에 ID 44D 개체는 체중이 급격히 증가하여 35% 정도의 증가를 나타내었고, ID F65 개체는 15% 정도의 체중 변화를 나타내었으며, SPE 투여 8주째에는 나머지 개체 모두가 약 35% 이상 증가하였다. 한편 SPE 투여구의 혈중 T, E<sub>2</sub> 및 DHP 농도는 투여전 각 1.32±0.24 ng/ml, 0.48±0.07 ng/ml 및

(A) Control



(B) SPE

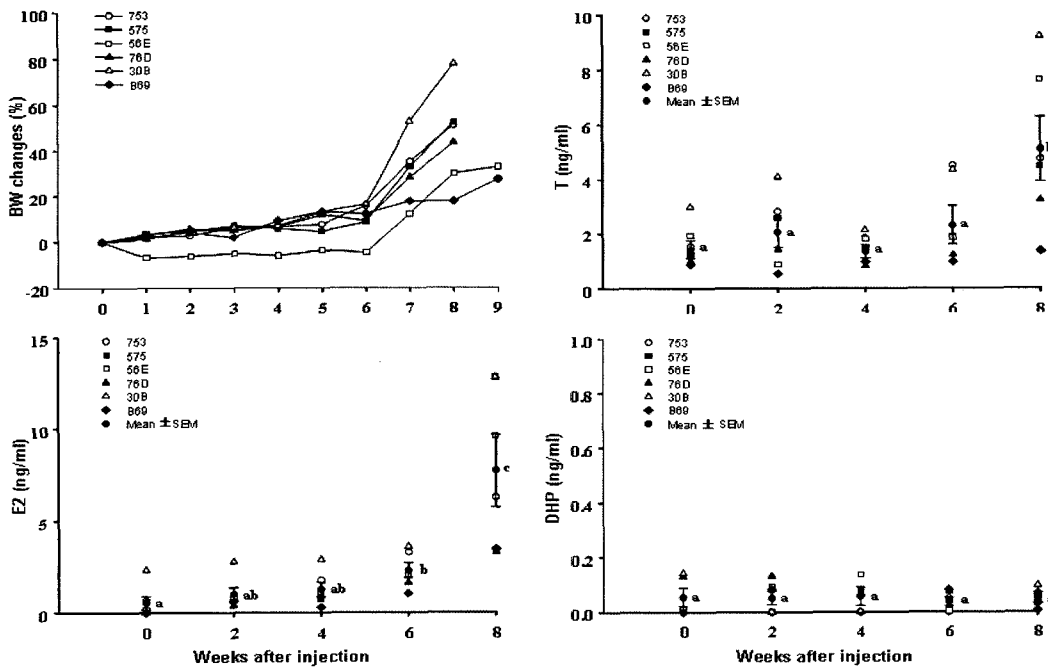


Fig. 2. Changes in body weight (BW) and plasma levels of sex steroid hormone (testosterone; T, estradiol-17β; E<sub>2</sub>, 17α,20β-dihydroxyprogesterone; DHP) in Japanese yellow eel injected with eel's Ringer (A panel; control) or salmon pituitary extraction (B panel; SPE) in Freund's incomplete adjuvant emulsion. Different symbols indicate individual fish. Close circle (●) is represented as mean ± SEM in each point. A significant difference (P<0.05) was observed between points indicated by different letters.

0.085±0.04 ng/ml 였으며, 체중이 급격히 증가하는 투여 8주째에 혈중 T 농도는 4.56±0.97 ng/ml, E<sub>2</sub> 농도는 7.32±1.12 ng/ml로 유의하게 증가하였다. 한편 혈중 DHP 농도는 SPE 투여에 따른 혈중 농도의 변화는 없었다.

자연산 yellow 뱀장어의 체중 및 sex steroid hormone 변화

Fig. 2A는 자연산 암컷 yellow 뱀장어의 대조구에 있어서 체중 및 혈중 sex steroid hormone의 변화를 나타내었다. 대조구 암컷 4마리의 체중은 실험 3주후부터는 두드러지게 감

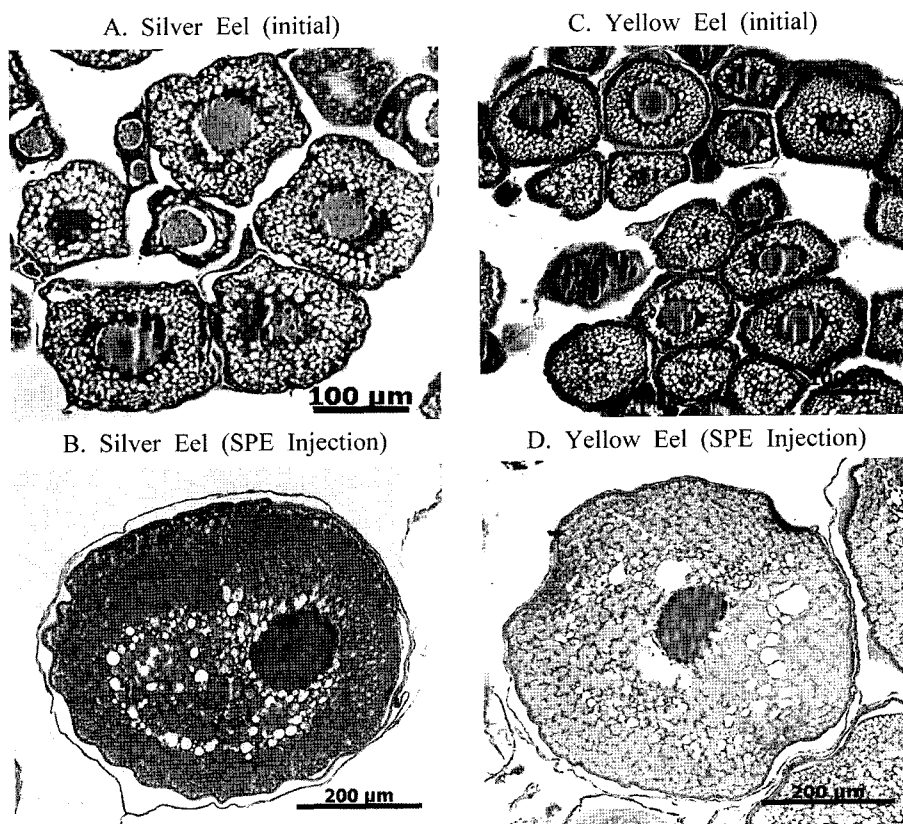
소하는 경향을 나타내었다. 한편 대조구의 혈중 T, E<sub>2</sub> 및 DHP 농도는 투여전 각 1.31±0.47 ng/ml, 0.49±0.21 ng/ml 및 0.032±0.019 ng/ml 였으며, 투여 8주째에 혈중 T, E<sub>2</sub> 및 DHP 농도는 0.84±0.42 ng/ml, 0.38±0.11 ng/ml 및 0.021±0.014 ng/ml로 감소하였지만 통계학적인 유의성은 보이지 않았다. Fig. 2B는 자연산 암컷 yellow 뱀장어에 있어서 SPE 투여에 따른 체중 및 혈중 sex steroid hormone의 변화를 나타내었다. 그 결과 암컷 6마리의 체중은 SPE 투여 1주일후 부터 투여 5주째 까지 서서히 증가하였으며, 투여 6주째 부터 체중이 급격히 증가하기 시작하여 투여 8주째에는 대부분의 개체가 28%~79%로 증가하였다. 한편 SPE 투여구의 혈중 T, E<sub>2</sub> 및 DHP 농도는 투여전 각 1.22±0.19 ng/ml, 0.53±0.11 ng/ml 및 0.093±0.06 ng/ml 였으며, 체중이 급격히 증가하는 투여 6주째까지 혈중 T 농도는 유의적인 변화는 보이지 않았지만 투여 8주째에 5.13±1.03 ng/ml로 유의적으로 증가하였다. 혈중 E<sub>2</sub> 농도는 투여 6주째에 2.45±0.81 ng/ml로 유의하게 증가하기 시작하여 투여 8주째에는 8.15±2.31 ng/ml로 현저하게 증가하였다. 그러나 혈중 DHP 농도는 SPE 투여에 따른 두드러진 변화는 없었다.

**자연산 silver 및 yellow 뱀장어의 SPE 투여에 따른 난소 내 난모세포의 변화**

Fig. 3은 silver 및 yellow 뱀장어의 실험개시전 및 SPE 8회 투여후의 난소내 난모세포 발달 정도를 나타내었다. 그 결과 silver 뱀장어의 실험개시전 난소내에는 대부분 유구기 및 제1 난황구기의 난모세포들로 이루어져 있었으며(Fig. 3A), SPE 8회 투여후 난모세포는 핵이동기로 발달하였다(Fig. 3B). 한편 yellow 뱀장어의 실험개시전 난소내에는 대부분 유구기 및 제1 난황구기의 난모세포들로 이루어져 있었으며(Fig. 3C), SPE 8회 투여후에는 제3난황구기의 난모세포로 발달하였다(Fig. 3D). 그러나 silver 및 yellow 뱀장어의 각 대조구에 있어서는 실험개시전의 난모세포와 거의 유사한 발달 정도를 나타내었다(data not shown).

**고 찰**

본 연구에서는 incomplete adjuvant로 유화시킨 연어 뇌하수체 추출물(SPE)을 투여후, 성성숙이 유도된 자연산 뱀장어의 체중 및 혈중 sex steroid hormone의 농도 변화를 조사하였다.



**Fig. 3.** Light micrographs of the ovaries in the Japanese wild eel. A: Oocytes of a initial control fish without treatment at the start of the experiment in silver eel. Primary yolk globule stage (x100). B: Oocytes of a SPE injected fish after 8 weeks from the start of the experiment in silver eel. Migratory nucleus stage (x100). C: Oocytes of a initial control fish without treatment at the start of the experiment in yellow eel. Oil droplet stage or primary yolk globule stage (x100). D: Oocytes of a SPE injected fish after 8 weeks from the start of the experiment in yellow eel. Tertiary yolk globule stage (x100).

그 결과 silver 뱀장어의 SPE에 대한 체중 변화는 yellow 뱀장어의 SPE에 대한 체중 변화 보다 급격히 증가하였으며, 또한 SPE에 대한 혈중 성호르몬의 유의한 농도 변화도 silver 뱀장어가 yellow 뱀장어 보다 빨리 나타났다. 그러나, SPE 처리 silver와 yellow 뱀장어에 있어서 혈중 성호르몬의 양적인 차이는 거의 없었다.

뱀장어의 인위적인 성성숙 유도에 관한 대부분의 연구들은 가을에서 초겨울까지 강해(降海)하는 자연산 silver 뱀장어를 채포하여 이용하는 것이 일반적이었으며, 이들의 GSI는 1~2% 정도로 유구기 혹은 제1난황구기의 난모세포들로 이루어져 있다고 보고하고 있으며, 이러한 개체를 해수 순치하여 사육하여도 GSI는 상승하지 않는다고 보고하였다(Yamamoto et al., 1974). 본 연구 결과, 10월 중순에 채집한 silver 및 yellow 뱀장어의 GSI는 각 1.53%, 1.24%였고, 난소발달 단계는 대부분 유구기와 제1난황구기의 난모세포들로 이루어져 있었다.

Fontaine et al. (1964)는 유럽산 뱀장어(*Anguilla anguilla*)에 잉어 뇌하수체 추출액을 체중 Kg당 20 mg 농도로 주 3회 투여하여 70일후에 성숙난을 얻었으며, deoxycorticosterone을 주사함으로써 방란을 유도하였다고 보고하였다. 또한, 日比谷(1966)와 佐藤(1979)는 포유류 뇌하수체 전엽과 태반 섬모막에서 제각기 얻어진 생식선자극호르몬을 혼합한 synahorin과 합성 estrogen을 겸용하여 주사한 결과 silver 뱀장어에서 GSI 65% 이상, 난경 1.1 mm 정도의 배포이동기의 난을 얻었다고 보고하였다. 그러나, 이러한 방법에서는 자연산 silver 뱀장어의 성성숙 유도는 가능하지만, 폐사하는 개체가 많고, 난경 1 mm까지 성숙하는 개체수가 적다고 보고하였다(Ochiai et al., 1972). 그 후, Yamamoto and Yamauchi (1974)는 silver 뱀장어에 SPE를 체중 Kg당 35 mg 농도로 매주 1회 근육 주사하여 8~15회 주사함으로써 대부분의 개체를 배포이동기까지 성숙시켜 수정란을 얻어 부화에 성공하였으며, 그 이후 SPE를 뱀장어 성성숙 유도에 이용하는 것이 일반화 되었다.

한편 어류 성성숙 유도에 있어서 호르몬 투여 방법에 관한 연구가 진행되어 cholesterol pellets을 이용하는 방법(Crim et al., 1983), 유화제를 이용하는 방법(Aida, 1983), cholesterol pellets와 silastic capsules을 동시에 이용하는 방법(Tamaru et al., 1989) 등이 연구되어 왔다. 또한 뱀장어 성성숙 유도에 관한 연어 뇌하수체 추출물의 투여 방법에 관한 연구는 Sato et al. (1995, 2000)가 lipophilized gelatin (LG)을 이용한 water-in-oil-in-water (W/O/W) 유제형태의 호르몬 carrier를 개발하여 물리화학적 성질이 서로 다른 2 종류의 호르몬인 당단백질성 연어 생식선 자극호르몬(gonadotropin; GTH)과 성스테로이드계 17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone (17 $\alpha$ -OHP)를 동시에 W/O/W 유제 형태로 제작하여 투여한 결과 뱀장어의 혈중 성호르몬 농도 및 체중이 증가하여 투여후 4회~6회만에 silver 뱀장어의 배란을 유도하였다고 보고하였다. 한편 본 연구에서는 연어 뇌하수체 추출물을 water-in-oil (W/O) 형태로 유화시켜 복강에 주사하여

체중 및 혈중 성호르몬 농도가 증가하여 투여후 6회~8회만에 silver 및 yellow 뱀장어의 성성숙을 유도 시켰다. 이러한 결과는 호르몬제를 수용액으로 투여후 혈중 GTH 농도의 급격한 상승후 단시간에 혈중 GTH 농도가 감소하는 것에 비해서 호르몬제를 W/O 형태로 유화시켜 복강에 주사함으로써 호르몬이 서서히 분비되어 지속적으로 호르몬의 표적세포(난소)에 자극하여 성성숙을 유도하였다고 추측되어진다. 그러나, 본 연구에서 사용한 투여 방법인 W/O 형태의 유화법으로는 한 종류의 호르몬만 제작이 가능한 단점이 있으며, 추후에 새로운 호르몬 투여 방법 및 유화제 개발이 기대된다.

일반적으로 경골어류에서는 뇌하수체에서 분비되는 GTH의 자극에 의해 난여포세포에서 합성·분비되는 E<sub>2</sub>가 혈류를 통해 간에 도달한 후, 난황단백전구체(vitellogenin; VTG)를 합성한다. VTG는 혈중으로 분비되어 난모세포에 흡수되어 난황구로써 축적되어 난황형성을 진행한다. 난황형성을 종료한 난모세포는 최종성숙기에 돌입하며 난의 성장과는 달리 다량의 일과성 황체형성호르몬(luteinizing hormone; LH) 분비(LH surge)에 의해 난여포조직에서 난성숙유도스테로이드 호르몬(maturation inducing steroid hormone; MIH)이 생성되어, 이것이 난세포에 직접 작용하여 난성숙이 유도되어진다고 알려져 있다(Nagahama, 1997). 그러나 본 연구에서 외인성 호르몬인 연어 뇌하수체 추출물을 이용하여 인위적인 성성숙이 유도된 silver 및 yellow 뱀장어의 경우 난황형성은 종료하였지만 최종성숙 및 배란은 유도되지 않았으며, 난황형성중 혈중 E<sub>2</sub> 농도는 저농도로 유지되다가 최종성숙기에 고농도로 나타났지만, 두 실험구간의 혈중 T와 E<sub>2</sub> 농도의 유의한 차이는 없었다. 그러나, 난황형성 증가때 바다로 내려가는 뉴질랜드 longfinned eel (*Anguilla dieffenbachii*)의 경우 이 시기의 혈중 E<sub>2</sub> 농도는 극동산 뱀장어(*A. japonica*)의 혈중 E<sub>2</sub> 농도 보다도 훨씬 높다고 보고하였다(Lokman and Young, 1995). 또 호주산 *A. australis*와 *A. dieffenbachii* (Lokman et al., 1998) 및 미국산 *A. rostrata* (Cottrill et al., 2001)의 자연산 silver 뱀장어의 혈중 E<sub>2</sub> 농도는 yellow 뱀장어보다 유의하게 높다고 보고하였다. 그러나 극동산 뱀장어에 있어서 silver 및 yellow 뱀장어의 혈중 성호르몬의 비교한 직접적인 연구결과는 없지만, 본 연구 결과와의 차이는 어종의 차이 혹은 yellow 뱀장어를 해수 순치후 혈중 성호르몬을 측정된 결과에 의한 것으로 추측되어지며, 이 결과는 silvering(은화 과정) 중에 혈중 E<sub>2</sub> 및 T 농도가 두드러지게 증가한다는 보고(Han et al., 2003) 및 양식산 뱀장어를 해수에 순치 시키므로써 난경 및 GSI가 유의하게 증가한다는 보고(Kagawa et al., 1997) 등으로 해수와 같은 환경요인이 초기 난황형성의 trigger가 되며, 이로 인해 혈중 성호르몬 농도가 증가하는 것으로 추측되어진다.

극동산 뱀장어에 있어서 MIH는 연어과 및 잉어과 어류의 그것과 마찬가지로 DHP가 난성숙 유도 스테로이드호르몬으로 작용하는 것이 밝혀져 있다(Nagahama, 1997). 연어과 및 잉어과 어류의 경우 DHP의 혈중 동태는 최종성숙기에 최고치로 증가

하지만(Aida, 1988; Lou et al., 1984), silver 및 yellow 뱀장어의 혈중 DHP 농도는 최종성숙기에 도달하여도 거의 검출되지 않아 타 어종과는 상당한 차이를 나타내었으며, 이러한 결과는 SPE 투여에 의해 인위적 최종성숙이 유도된 양식산 뱀장어의 경우에서도 혈중 DHP 농도는 거의 검출되지 않았다(Ijiri et al., 1995; 김 등, 2005). 그러나 Sato et al. (2000) 연구에 의하면 연어 GTH와 17 $\alpha$ -OHP를 동시에 W/O/W 유제 형태의 투여에 의해 silver 뱀장어의 배란을 유도하였다고 보고하였다. 따라서 인위적 성성숙 유도에 의해 최종성숙에 도달한 뱀장어의 DHP 합성은 전구체인 17 $\alpha$ -OHP 농도에 의해 조절되며, 최종성숙에 있어서 DHP 결핍이 난의 최종성숙·배란을 유발하지 못하는 원인이라고 추측되어진다.

## 요 약

자연산(silver 및 yellow) 뱀장어의 인위적인 성성숙 과정중에 체중 및 혈중 성호르몬 농도를 조사하기 위해 연어 뇌하수체 추출물(SPE; 20 mg pituitary powder/fish)를 Freund's incomplete adjuvant로 water-in oil (W/O) 형태로 유화시켜 매주 복강에 주사하였다. Eel's Ringer액만으로 유화시켜 주사한 대조구(silver 및 yellow) 뱀장어의 경우, 체중은 서서히 감소하는 경향을 나타내었으며, 혈중 성호르몬(testosterone; T, estradiol-17 $\beta$ ; E<sub>2</sub> 및 17 $\alpha$ ,20 $\beta$ -dihydroxyprogesterone; DHP)의 농도도 실험기간 동안 거의 변화없이 서서히 감소하는 경향을 나타냈었지만 유의적인 변화는 없었다. 한편, 매주 SPE로 주사한 silver 뱀장어는 투여 6주후부터 급격한 체중변화가 일어났으며, 대부분 개체의 난모세포는 핵이동기로 구성되어져 있었다. 또한 혈중 T와 E<sub>2</sub> 농도의 두드러진 증가는 투여 6주후부터 관찰되어 졌다. 매주 SPE로 주사한 yellow 뱀장어의 경우, 대부분 개체는 투여 5주까지 체중 변화가 완만하게 나타났으며 그 이후 급속히 증가하였다. 이들 개체의 대부분은 실험종류시에도 제3 난황구기의 난모세포들로 구성되어져 있었다. 특히 실험 기간중 혈중 T와 E<sub>2</sub> 농도는 개체별로 다양하게 나타났으며, 유의한 차이는 제각기 투여 8주째와 투여 6주 후부터 두드러지게 증가하였다. 그러나 매주 SPE로 주사한 자연산 뱀장어(silver 및 yellow)의 혈중 DHP 농도는 실험 기간동안 불검출 혹은 매우 낮은 농도로 유지하였으며, 유의적인 변화는 관찰되지 않았다. 본 연구의 결과, silver 뱀장어에 있어서 SPE를 W/O 형태로 유화시켜 반복 투여함으로써 체중 및 혈중 성호르몬(T와 E<sub>2</sub>)의 급격한 증가 및 최종성숙을 유도하는데 효과적이었다.

## 감사의 글

본 연구는 국립수산물품질관리원(수산물품질관리원, RP-2006-AQ-016)의 지원에 의해 운영되었습니다.

## 참고문헌

- Aida, K., 1983. Effect of LH-releasing hormone on gonadal development in salmonid fish, the Ayu. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish., 49, 711-718
- Aida, K., 1988. A review of plasma hormone changes during ovulation in Cyprinid fishes. Aquaculture, 74, 11-21
- Aoyama, J., 2003. Origin and evolution of the freshwater eels, genus *Anguilla*. (in) K. Aida-K. Tsukamoto-K. Yamauchi (eds.), Eel Biology. Springer-Verlag, Tokyo, pp. 19-29.
- Cottrill, R.A., R.S. McKinley, G. van der Kraak, J.D. Dutil, K.B. Reid and K.J. McGrath, 2001. Plasma non-esterified fatty acid profiles and 17 $\beta$ -oestradiol levels of juvenile immature and maturing adult American eels in the St Lawrence river. J. Fish Biol., 59, 364-379.
- Crim, L.W., A.M. Sutterlin, D.M. Evans and C. Weil, 1983. Accelerated ovulation by pelleted LHRH analogue treatment of spring-spawning rainbow trout (*Salmo gairdneri*) held at low temperature. Aquaculture, 35, 299-307.
- Fontaine, M., E. Bertrand, E. Lepez and O. Callamand, 1964. Gonadal maturation of female eel (*Anguilla anguilla*) and spontaneous emission of eggs in aquarium. C. R. Acad. Sci. Paris, 259, 2907-2910.
- Han, T.S., I.C. Liao, W.N. Tzeng, Y.S. Huang and J.Y.L. Yu, 2003. Serum estradiol-17 $\beta$  and testosterone levels during silvering in wild Japanese eel *Anguilla japonica*. Comp. Biochem. Physiol., Part B 136, 913-920.
- Ijiri, S., Y. Kazeto, N. Takeda, H. Chiba, S. Adachi and K. Yamauchi, 1995. Changes in serum steroid hormones and steroidogenic ability of ovarian follicles during artificial maturation of cultivated Japanese eel, *Anguilla japonica*. Aquaculture, 135, 3-16.
- Kagawa, H., N. Inuma, H. Tanaka, H. Ohta and K. Okuzawa, 1997. Effects of rearing period in seawater on induced maturation in female Japanese eel *Anguilla japonica*. Fisheries Sci., 64, 77-82.
- Kim, D.J. and K. Aida, 2000. Dopaminergic regulation of gonadotropin- secretion in testosterone-treated precocious male and immature rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. Korean J. Biol. Sci. 4, 287-292.
- Lokman, P.M. and G. Young, 1995. In vitro biosynthesis of oestradiol-17 $\beta$  and 17 $\alpha$ , 20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one by vitellogenic ovarian follicles from migrating New Zealand longfinned eels (*Anguilla dieffenbachii*). Aquaculture, 135, 17-26.
- Lokman, P.M. G.D. Vermeulen, J.G.D. Lambert and G. Young, 1998. Gonad histology and plasma steroid profiles in wild New Zealand freshwater eel (*Anguilla dieffenbachia* and *A. australis*) before and at the onset of the natural spawning migration. I. Females. Fish. Physiol. Biochem., 19, 325-338.
- Lou, S.W., K. Aida, I. Hanyu, K. Sakai, M. Nomura, M. Tanaka and S. Tazaki, 1984. Endocrine profiles in the females of a twice-annually spawning strain of rainbow trout. Aquaculture, 43, 13-22.
- Nagahama, Y., 1997. 17 $\alpha$ , 20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one, a maturation-inducing hormone in fish oocyte: Mechanisms of synthesis and action. Steroids, 62, 190-196.

- Ochiai, A., S. Umeda and H. Ota, 1972. On the eggs of Japanese eel and induction of maturation by hormone injection. *Jpn. J. Ichthyol.*, 19, 312–316.
- Sato, N., I. Kawazoe, Y. Shiina, K. Furukawa, Y. Suzuki and K. Aida, 1995. A novel method of hormone administration for inducing gonadal maturation in fishes. *Aquaculture*, 135, 51–58.
- Sato, N., I. Kawazoe, Y. Suzuki and K. Aida, 2000. Adequate intervals of sGTH administration to induce vitellogenesis, and induction of ovulation by simultaneous administration of sGTH and  $17\alpha$ -hydroxyprogesterone in the Japanese eel. *Fisheries Sci.*, 66, 644–654.
- Tamaru, C.S., C.D. Kelley, C.S. Lee, K. Aida and I. Hanyu, 1989. Effects of chronic LHRHa+ $17\alpha$ -methyltestosterone or LHRHa+ testosterone therapy on oocyte growth in the striped mullet (*Mulugi cephalus*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 76, 114–127.
- Tanaka, H., H. Kagawa and H. Ohta, 2001. Production of leptcephali of Japanese eel (*Anguilla japonica*) in captivity. *Aquaculture*, 201, 51–60.
- Tanaka, H., 2003. Techniques for larval rearing. (in) K. Aida, K. Tsukamoto, K. Yamauchi (eds.), *Eel Biology*. Springer-Verlag, Tokyo, pp. 427–434.
- Tsukamoto, K., 1992. Discovery of spawning area for the Japanese eel. *Nature*, 356, 789–791.
- Tsukamoto, K., 2006. Spawning of eels near a seamount. *Nature*, 439, 929.
- Yamamoto, K and K. Yamauchi, 1974. Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. *Nature*, 251, 220–221.
- Yamamoto, K., M. Omori and K. Yamauchi, 1974. Oogenesis of the Japanese eel. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 40, 9–15.
- 김대중 · 김응오 · 조용철 · 손맹현 · 박민우, 2005. 뱀장어 인공 종묘생산 기술 개발 1. 양식산 뱀장어의 성성숙에 따른 혈중 성호르몬 변화 및 인공부화, 한국수산 학회 학술대회 발표요지집, pp 217–218.
- 日比谷 京, 1966. ウナギの完熟採卵に成功. *養殖*, 3, 12–15.
- 佐藤英雄, 1979. ウナギの完全飼育をめざす. *遺傳*, 33, 23–30.

---

원고접수 : 2006년 8월 21일

수정본 수리 : 2006년 9월 8일