

민물장어 (*Anguilla japonica*)의 인공 종묘생산 기술현황



박철원 책임연구원
한국해양연구원
Tel) 031-400-6230
E-mail) cwpark@kordi.re.kr

서론

한국, 일본, 중국, 대만 등 동아시아 지역을 중심으로 분포하는 민물장어 (*Anguilla japonica*)는 부가가치 측면에서 시장성이 가장 큰 수산 어종으로 평가되며, 특히 일본을 중심으로 우리나라에 이르기까지 수요는 엄청난 양에 달한다. 참고로 우리나라에서 소비되는 연간 민물장어의 양은 9,000톤 정도이나 가까운 일본은 10만톤 규모이므로 인접한 큰 시장을 갖고 있는 어종이다. 이와 같은 주변 시장 조성은 민물장어의 육상 수조식 양식기술의 확립으로 가능하게 되었다. 한편 민물장어의 생산은 주원료 격인 실 민물장어(바다에서 강으로 올라오는 어린 민물장어)의 매년 포획량에 따라 좌우되므로 안정적인 생산 기반에 큰 방해요인이 되고 있다. 매년 포획되는 실 민물장어의 양이 최근에 급격히 감소하고 있는 실정에 수요와 공급의 격차에 따라 우리나라 국내 시장에서 소요되는 연간 소요 물량이 부족할 경우 품귀현상에 따른 가격 폭등을 초래하였다. 1997년 경우 강으로 올라오는 실 민물장어의 품귀로 금값보다 비싼 1,200만원/kg (6,000마리

/kg)의 가격을 형성하였던 경우도 있었다.

우리나라와 일본에 주로 서식하는 민물장어 (*Anguilla japonica*)는 어미가 바다로 돌아가 산란 후 초기 성장을 마친 어린 새끼는 다시 쿠로시오(黑潮)를 타고 최종 서식지인 강으로 올라오게 된다. 이 때는 이미 바다에서 변태를 마친 후 길이 5~6cm 투명한 실 민물장어의 형태로 강 하구로 올라오고, 이들을 잡아 육상 양식장에서 상품으로 키우게 된다. 한편, 민물장어 탄생에서부터의 여러 가지 수수께끼에 관한 연구 결과가 속속 발표되기 시작하였으나 (Tsukamoto et al., 2003), 강 하구에서 포획되기까지의 과정이 명확히 밝혀진 것은 아니다. 현재 많은 학자들이 신비스러운 민물장어의 생활사를 확인하기 위하여 많은 연구 성과를 얻고 있는 이때에 수반되는 민물장어 어미의 산란 생리를 규명하여 인위적인 성 성숙을 유도, 인위적인 종묘생산 단계에 이르기를 기대하고 있다.

1960년대 들어와 일본 동경대학의 日比谷 京(1966)에 의하여 천연산 민물장어가 알을 낳기 위하여 바다로 내려가는 silver eel (일명: 下りウナギ)을 이용하여 성 성숙 유도가 가능하게 된

것을 계기로 1973년 세계에서 최초로 일본 북해도 대학의 山本 喜一郎과 山内 皓平에 의하여 受精卵을 만들어 부화에 성공한 사실이 Nature에 실리게 되었다 (Yamamoto and Yamauchi, 1974). 그 이후 여러 사람들의 연구 결과 (Yamamoto et al., 1975; Yamauchi et al., 1976; Satoh, 1979; Satoh et al., 1992; Tanaka et al., 1995; Tanaka, 1998; Sato et al., 2000), 2003년 7th. International Symposium on Reproductive Physiology of Fish (May, 18-23. Mie, Japan) 모임에서 일본 양식연구소에서 특별히 제작된 초기 배합사료를 이용하여 250일 만에 仔魚 變態에 성공하여 현재 하천으로 소상하는 단계의 실 민물장어까지 사육이 가능하다는 사실을 발표하게 된 것이다 (Tanaka et al., 2003).

그러나 대량 종묘 생산을 위한 지금의 여건을 정확히 판단해 볼 때 원활한 생산을 이루는 단계에 이르기까지 우선 두 가지의 큰 어려움이 놓여 있다. 첫째, 인위적인 친어 관리에 의한 성 성숙 유도로 산란까지의 과정에 도달하는 친어 개체수의 비율이 비교적 낮고, 그로부터 얻은 수정란의 수정율과, 부화율이 극히 낮다는 사실이다. 둘째, 인위적인 산란과 부화에서 얻은 초기 仔魚의 사육기술의 미숙이 문제점으로 남아 있다.

따라서 앞으로의 대량 종묘생산을 위하여 다음 세 가지 기술의 확립이 시급히 요구되고 있다. 첫째, 암컷의 인위적인 성 성숙 유도로 양질의 난 생산과 수정란 확보 기술. 둘째, 수컷의 인위적 성 성숙 유도로 양질의 정자 확보 기술, 그리고 마지막으로 초기 자어의 정상적인 사육을 위한 적정 먹이생물 및 배합사료에 의한 초기 사육 기술 확립이다. 본 보고에서는 위에 언급된 내용

들 중에서 수정란 획득을 위해 일본을 중심으로 수행된 연구 및 기술 현황을 서술하였다.

친어 관리 기술

1990년대 초반까지 민물장어의 인공 산란 유도 연구는 천연산 민물장어가 알을 낳기 위하여 바다로 내려가는 친어 (sliver eel)를 이용하여 실험이 진행되었다. 그러나 자연산 친어의 확보는 체포 시기와 체포 수 그리고 건강 상태 등의 개체 차이에 의하여 성 성숙 유도가 매우 불확실하였다.

더욱 지금까지의 성 성숙에 관한 연구결과를 확인해 보면, 자연조건에서 가을부터 산란을 위하여 바다로 내려가는 암컷의 생식소 중량 지수 (GSI)는 1~2% 수준이었고, 난모세포는 유구기 (佐藤 등, 1962) 또는 제 1 차 난황구기에 달해 있었다 (酒井 등, 1972; Yamamoto et al., 1974a). 그리고 silver eel의 경우 해수에 순치하여 사육을 시도하여도 GSI의 변동이 없어 성 성숙이 진행되지 않는다는 사실을 확인하였다 (Yamamoto et al., 1974b). 다시 말해서 자연적인 환경조건과 인위적 양식 조건 하에서도 성 성숙 과정이 전혀 진행되지 않는다는 의미이다. 지금까지도 확인되지 않는 자연 조건에서 암컷이 스스로 성 성숙 과정을 진행한다는 추측인 것이다. 현재 개발 중인 인위적 성 성숙 기술은 오랜 시간을 거쳐 우리가 알고 있는 경골어류의 산란과정과 생리적인 조건을 기초로 오랜 시간 시행착오를 반복하며 얻어진 결과가 근간이 되어 민물장어의 난 성숙을 유도하기 위하여는 인위적인 외인성 호르몬을 이용하여 얻어낸 노력의 결실인 것이다.

최근의 산란 유도 기술 확립과 초기 자어 사육의 가능성은 여러 가지 과정이 있었지만 안정적

으로 양식산 친어의 사용이 가능하게 된 결과이다. 다시 말해서 자연산이 아닌 양식산 민물장어를 친어로 활용하여 인위적인 산란유도 과정이 가능하였기 때문이었다 (Ijiri et al., 1995, 1998). 한편, 양식산 민물장어의 경우 지금까지 알려진 사실에 의하면 성비가 불균형을 이루며 수컷이 대부분을 차지한다는 결과이다 (松井, 1972). 이에 따라 미성숙 양식산 개체를 대상으로 성 호르몬을 경구 투여하여 암컷으로의 성전환이 가능하다는 사실을 근거 (佐藤 등, 1962; Satoh et al., 1992)로 양식산 암컷을 확보하여 인위적인 산란유도를 위한 시행착오를 반복하여 민물장어의 인공 종묘생산의 결실을 얻게 되었다.

암컷의 성 성숙

민물장어의 종묘생산 기술은 지금까지 언급한 친어관리 기술 등 여러 가지 연구 결과를 바탕으로 이루어진 것이다. 다른 어종은 자연에서 관찰된 과정을 근거로 인위적인 종묘 생산 기술이 확립되었지만 민물장어의 경우는 자연에서 관찰된 정보가 전무한 상태에서 시작된 것이다. 일반적으로 우리가 알고 있는 민물장어는 산란을 위한 회유로 바다로 돌아가며 이 사실을 근거로 최근까지 조사된 성 성숙이 진행된 암컷의 성숙 정도가 난경 0.3mm 정도의 난황 형성 개시기 수준이었다 (佐藤 등, 1962). 따라서 우리는 그 이후 어떤 성숙과정과 절차에 의하여 자연산 민물장어가 번식을 진행하는지 전혀 알지 못하는 것이 현실이다. 민물장어와 같은 고부가가치 어종의 원활한 종묘생산을 시도하기 위하여 성 성숙을 유도하는 물질의 기본적 기능, 분자구조, 생리적 역할, 생합성 메카니즘 등에 관하여 많은 연구자들에

의하여 궁금한 분야가 해결되고 있으며 이러한 연구결과는 인위적인 성 성숙 유도에 중요한 열쇠의 역할을 담당하고 있다. 현재 발전을 거듭하고 있는 Biotechnology 기법을 활용하여 성 성숙 제어에 관한 분자 또는 유전자 수준의 메카니즘 해명과 이를 바탕으로 하는 성 성숙 유도 기술 확립도 중요한 연구 분야로 판단된다.

여기에서 한가지 깊고 넘어가야 할 사실은 암컷의 성 성숙 과정은 크게 난소에서 난 자체의 성장 과정, 그리고 성장을 마친 난이 체외로 배란되기까지의 성숙 과정으로 구분할 수 있다. 지금까지의 연구 성과를 보면 난 자체의 성장 과정은 비교적 연구 결과들이 집대성되어 순조롭게 진행될 수 있는 단계에 도달하였으나, 성장된 난이 배란되는 과정을 여러 가지 측면에서 연구 중에 있다. 이와같이 대별되는 두 과정을 나누어 검토함이 바람직하다.

1. 난 성숙 유도

난 형성은 개체의 초기 발생에 필요한 영양과 정보를 하나의 세포 속에 저장하는 일반적인 세포의 성장과는 다른 특별한 과정을 거치게 된다. 다시 말해서 시간과 절차가 복잡한 특별한 과정을 거치게 된다. 난소 내에는 한 개체로서 정상적인 성장을 위한 모든 유전적 정보를 축적하고, 다음 세대로의 전달자 역할을 담당하며 영원히 살아가게 되는 세포, 바로 卵이다.

난모세포로부터 형태적으로나 기능적으로 몇가지 과정을 거치며 성숙된 난으로 성장하는 과정은 다음과 같이 크게 두 가지로 구분할 수 있다. 그 하나가 난모세포 안에 앞으로의 수정 후 필요한 유전적 정보나 영양물질을 축적하며 전반적인 세포의 크기가 성장 (oocyte growth)하는 단계이

기획특집

고, 다른 하나는 이와 동시에 난모세포 주변에 난황막이 형성되어 수정을 준비하는 난으로 형태를 완성하게 되는 성숙 (oocyte maturation) 과정이다.

그리고 난 형성은 실제적으로 3가지 요인 (mediator)의 순차적인 작용에 의하여 단계별 과정을 거치며 그림 1과 같이 진행된다 (Nagahama et al., 1994).

첫 번째 과정은 뇌하수체에서 분비되는 생식선 자극 호르몬이다. 일반적으로 GTH (gonadotrophin hormone)라고 불리우는 이 물질은 난모세포의 주변에 형성되어 있는 체세포의 일종인 여포세포막에 수용되어 난 성숙 유도 호르몬을 배출시킨다. MIH (maturation inducing hormone)라 불리우는 이 물질은 여포세포 층의 외막인 협막세포 (thecal cell)에서 콜레스테롤을 시작으로 성 성숙에 관여하는 호르몬의 변환이 시작되어 여포세포 층의 내막세포인 과립막세포 (granulosa cell)에서 estradiol-17 β 를 생성하게 된다. 일반적으로 E₂라 불리우는 이 호르몬은 혈액을 통해 간으로 이동하여 난 성장 과정의 영양물

질로서 기능을 발휘하는 난황물질을 만들게 된다. 한편 MIH 자신도 MPF (maturation promoting factor)로 과립막세포에서 전환되어 난 세포로 이동한 후 난에서의 최종 감수분열 과정을 마무리하며 배란과정을 유도하게 되는 것이 일반적인 경골어류의 난 성숙 과정이다 (Nagahama et al., 1994).

민물장어도 일반 경골어류와 마찬가지로 개체가 성장함에 따라 성 결정 및 분화가 완료되면 난소에 존재하는 원시 생식세포는 일반 체세포와 동일하게 분열을 진행하여 다수의 난원세포가 만들어지고 계속 체세포 분열을 진행하여 난모세포에 이르게 된다. 이 난모세포에 난황이 축적되어 배란되기까지 미성숙기, 성숙기, 산란기로 구분되어 난의 성숙이 진행되며, 최종 성숙된 난이 배란되는 과정에 여러 가지 호르몬이 상호 연관되어 작용하게 되는 일련의 내분비 제어구조를 확인할 수 있다. 특히 어류에서의 성 성숙은 시상하부-뇌하수체에서 조절되어 뇌하수체에서 합성, 분비되는 생식소자극 호르몬 (GTH)에 의하여 생식선의 발달 및 난 형성을 직접 유도하는 중요한 역할을 담당하게 된다. 어류의 GTH는 당단백질 호르몬으로 척추동물에서는 난포자극 호르몬 (FSH, follicle stimulating hormone)과 황체형성 호르몬 (LH, luteinizing hormone) 두 종류로 구성되어 있다. 이중에 LH는 난의 성숙과 관계가 있고, FSH는 난황 축적에 관여하는 것으로 알려져 있다 (Ishii, 1991). Kawachi 등 (1986)에 의하면 어류는 연어의 생식선자극 호르몬을 GTH-I, GTH-II로 분리하였고 뇌하수체의 서로 다른 세포로부터 분비되며, RIA 방법에 의하여 혈중 농도의 변화를 추적해본 결과 GTH-I은 난황 형성 시기에 많아지며 난황 성숙기에는 적어지고,

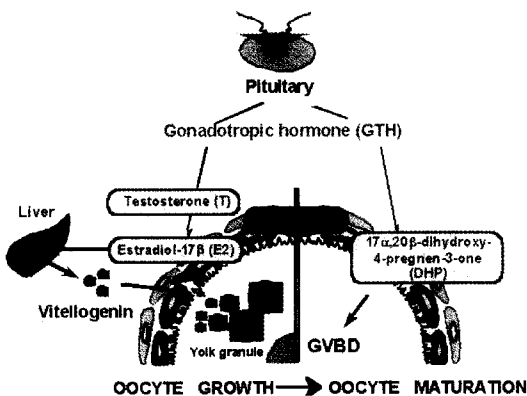


그림 1. 경골어류의 난 성숙 과정 모식도. (From Nagahama et al. (1994).

GTH-II의 경우 난황 형성기에는 적으나, 난 성숙기에 많아진다는 사실로 미루어 볼 때 GTH-I은 정자 및 난의 성장에 관여하며, GTH-II는 난 성숙이나 배란과정에 작용하는 것으로 알려졌다. 그러나 이와 같은 GTH의 기능은 어종에 따라 달라 참돔의 경우 (玄, 2002)에서는 수컷의 정자 형성 및 성숙에 GTH-I과 GTH-II가 작용한다고 보고되었다. 그러므로 고등 척추동물에서의 FSH로 알려진 GTH는 어류에서는 GTH-I이고, 마찬가지로 LH는 GTH-II로 인정이 되지만 아직까지 각각의 역할분담에 관한 연구는 계속 진행 중에 있다.

한편 현재 민물장어에서 쓰이는 GTH는 인위적 산란유도를 위하여 스스로 GTH를 생성하는 과정이 확인되지 않은 관계로 Yamamoto et al. (1974b)은 산란하기 위해 회귀하는 연어의 뇌하수체에서 추출한 현탁액 (salmon pituitary homogenate, SPH)를 대용으로 생식소 발달을 유도하려는 외인성 hormone으로 사용 가능하다는 사실을 오랜 기간 시행착오를 통하여 확인하게 되었다. SPH가 민물장어의 난 성숙과 관련된 여러 조직에 작용을 하여 최종적인 난 성숙과정에 관여하게 된다는 결론을 얻게 되었다 (Yamauchi and Yamamoto, 1982). 다시 말해서 유구와 난황 형성이 완료되는 시기까지는 다른 어종에서 얻어지는 결과와 마찬가지로 별 어려움 없이 과정이 진행되지만 적절한 수준에 도달한 성숙 난이 어느 시기에 배란되는가는 또 다른 과정이므로 다량으로 양질의 난을 얻기 위하여 새로운 가능성을 다시 확인하여야만 하는 중요한 기술로 평가되고 있다. SPH의 장기 투여로 인하여 유도된 난황은 난황형성 과정을 통하여 SPH가 난 여포세포에 관여하여 testosterone과 estradiol-17 β 를 분

비, 혈액을 통하여 이동하여 간에 존재하는 Estradiol receptor에 흡수, 간에서 난황 전구물질인 vitellogenin을 만들어 다시 난모세포로 이동하게 된다. 이 물질이 결국 배아가 성장하여 스스로 개체를 구성하고 자연산 먹이를 먹기까지 필요한 영양원이 되는 것이다 (Okumura et al., 2002). GTH surge에 의하여 난 여포조직에서 난 성숙 유도 스테로이드가 만들어진다. 이와 동시에 (정확하게는 먼저) 난 세포 자체는 GTH의 작용에 의하여 난 성숙 유도 스테로이드에 대하여 반응이 가능한 능력 (maturational competence)을 획득하게 되는 것으로 알려졌다 (Pantino and Thomas, 1990; Kagawa et al., 1994).

그리고 SPH는 갑상선에도 영향을 주어 갑상선 호르몬이 난 속에 축적되고, 이것이 추후 난질에 영향을 미치는 것으로 평가되어 면밀한 검토가 진행 중이다 (Shin et al., 2001). 이상의 과정을 통하여 SPH를 이용한 난황 형성 시기의 인위적 난 성숙 과정을 설명하였다. 그러나 이 과정으로 성숙된 난은 최종 성숙 단계에 들어가지 못하고 나아가 배란되는 경우를 확인할 수 없었다.

다시 말해서 또 다른 다음 단계의 과정이 필요한 것이다. 난황 축적이 끝난 난은 일반 경골어류의 난모세포의 성숙과 동일하게 제 1차 감수분열 전에 난황 축적이 진행된다. 이 과정이 종료되면 최종 난 성숙기에 들어가면서 난 핵포가 동물극 쪽으로 이동하여 핵포가 붕괴하고 (germinal vesicle breakdown, GVBD), 염색체가 응축을 하고 제 1차 감수분열을 행하고 극체를 방출하는 과정을 수행하고, 배란되어 수정되는 과정을 거치게 된다 (Hirose and Ishida, 1974). 이때 위에서 언급한 DHP (17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one)에 의하여 제 1차 감수분열을 유도하

고, 배란되는 과정에 관여한다는 사실이 확인되었다 (Yamauchi et al., 1996). 이때의 난은 이미 제 1 극체는 방출하고, 수정 가능한 제 2 극체 방출 직전에 난각에서 밖으로 방출되는 배란 과정을 거치게 된다 (Adachi, 1995). 한편 지금까지의 연구 결과 인위적으로 성숙시킨 난은 부상, 수정, 및 부화에 많은 장애를 나타내고 있다고 발표되었다 (Sekoda et al., 2003). 난질과 연관되는 많은 문제들이 앞으로의 대량생산 체제 구축에 큰 숙제로 남아 있다.

2. 난질의 평가

지금까지 언급한 난 성장 및 성숙이 진행되어 산란시기가 가까워지면 최종 성숙 후 적정 시기에 배란을 유도하는 기술이 매우 중요한 역할을 담당하게 된다. 결국 최종 성숙 시기를 정확히 예측하는 기법 또한 중요한 기술로 우선은 호르몬 투여 후에 나타나는 암컷의 체중변화가 주요 판단 요인으로 작용하여 호르몬 투여 시작을 기점으로 체중이 120~130 % 증가한 시점이 적정 성숙 시기로 판단되고 있다. 최종 난 성숙 과정에서 난 세포자체가 GTH의 작용에 의하여 난 성숙 유도 steroid에 대한 반응을 할 수 있는 능력 (maturation competence)을 획득한다는 사실을 Atlantic croaker와 Red sea bream에서 각각 확인하였다 (Pantino and Thomas, 1990; Kagawa et al., 1994). 특히 Yamauchi 등 (1996)이 그간의 쌓은 업적 중 특히 민물장어 뇌하수체에서 방출되는 GTH에 의하여 난의 여포조직에서 배출되는 스테로이드 계 난 성숙 호르몬 (maturation inducing hormone, MIH)은 DHP라는 사실을 밝힌 것이다. 지금까지의 난 성숙 과정을 보면 매주 20~30mg/kg · BW의 연어 뇌하수체 추출액을

계속 투여하면 난황 축적에 의한 난 성장 과정은 원활히 진행되지만 최종 난 성숙과정이나 배란이 진행되는 경우는 매우 희박한 것이 사실이었다 (Yamauchi and Yamamoto, 1982). 또한 성숙과정을 마친 난 세포는 매우 짧은 시간이 경과함에 따라 즉시 과잉숙성이나, 변질되는 경우를 현장 사육 과정에서 여러번 확인할 수 있었다 (山内, 三浦, 1988). 더우기 성숙과정을 마친 난의 자연 배란이 유도되는 경우에도 대부분 수정율, 부화율 등이 매우 낮은 경우가 보고되기도 하였다. 한편 GnRH를 이용하여 최종 난 성숙 및 배란에 관한 영향을 검토한 결과를 Satoh et al. (1992)이 보고한 예가 있으나 아직까지 확실한 결과를 얻고 있지 못하여 더욱 면밀히 검토되고 있는 분야이기도 하다. 특히 山内와 三浦 (1988)가 민물장어에서 여포세포가 붙어있는 난모세포를 *in vitro* 조건에서 여러 종류의 스테로이드계 호르몬을 이용하여 최종 난 성숙유도 효과를 검토하여 본 결과 DHP가 가장 좋은 결과를 나타냄을 확인하였으며, 이때 관여하는 여러 물질들을 확인하여 본 결과 17 α -hydroxyprogesteron (17 α -OHP)이 전구물질로서 DHP로 전환되어 최종 난 성숙 및 배란에 관여한다는 사실을 발표하였다 (Ijiri et al., 1995). 그 이후 DHP에 의한 난의 최종 성숙 및 배란에 의한 난질 평가에 관한 연구 (Ohta et al., 1996; Shin, 2004) 등이 진행되었다 (그림 2, 3).

한편 난 성숙과정에 관한 연구 중 가장 최근에 알려진 결과 중에 하나가 일본 북해도대학을 중심으로 그간의 오랜 연구결과의 결실 중에 하나로 난 성숙과정에 나타나는 각 조직들의 형태 및 생화학적 변화를 추적하는 연구를 진행하고 있다. 특히 난 성숙 과정과 혈액 중의 호르몬양 변



그림 2. 성 성숙 유도에 의한 민물장어 인공채란 (일본 북해도대학 제공).

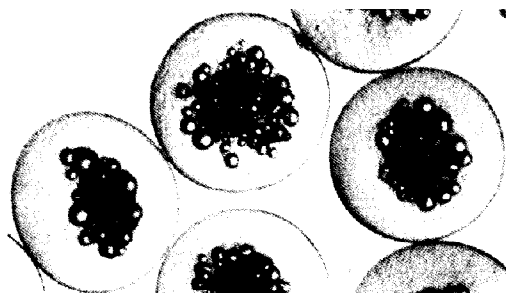


그림 3. 인공 채란된 민물장어의 난소 난 (일본 북해도 대학 제공).

화를 확인한 결과 11-ketotestosterone (11-KT)과 estradiol-17 β 가 비교적 많은 량 검출되는 사실을 바탕으로 11-KT의 생성 부위가 난소이고, 난 성숙에 관여할 것이라는 전제 하에 검토를 진행한 결과 11-KT의 수용체 또한 난소에 존재한다는 사실을 확인, 난 성숙과 밀접한 관계를 시사하였는데 직접 암컷에 투여하여 난 성숙을 시도한 결과 지금까지 평균 700g 이상의 친어에서 난 성숙과정을 확인할 수 있었으나 초기 11-KT를 투여하면 보다 적은 연어 뇌하수체 추출물질을 투여하여 140g 정도의 미 성숙 양식산 민물장어에

서 核 移動期까지 성숙된 난을 갖게 할 수 있다는 사실을 확인하여, 양식산 어미를 이용한 산란 기술 확립에 새로운 가능성을 제시하는 계기를 마련하였다. 특히 이 과정을 통하여 초기 난 성숙 과정에서 油球의 양적 증가가 estradiol-17 β 를 투여한 개체보다 많은 것을 확인할 수 있었다 (Matsubara et al., 2001).

한편 연어의 뇌하수체 추출물질을 가지고 인위적인 난 성숙을 유도하는 과정에서 민물장어 자신이 갖고 있는 GTH가 성 성숙에 어느 정도 관여하는 가를 조사해 본 결과 암컷이 갖고있는 뇌하수체를 제거한 후에 동일한 방법으로 난 성숙을 유도해 보면 민물장어 자신의 GTH는 전혀 성 성숙에 관여하지 않는다는 사실을 확인하였다. 실제 배란되는 난세포는 제 2차 감수분열 중기에 다다른 상태이다. 이 조건을 갖추어야 수정이 가능한 것이다. 따라서 앞으로의 연구 내용 중 하나가 민물장어 자체의 뇌하수체는 성 성숙과 어떤 연관이 있는가? 그리고 스스로가 갖고 있는 성 성숙 기능은 어떻게 활용되어야 하는가 하는 의문도 앞으로 풀여보아야 할 숙제 중에 하나로 부각된다 (Kagawa, 1996).

최종 난 성숙 및 배란 관계를 Atlantic croaker와 Red sea bream에서 확인된 결과를 바탕으로 민물장어에서 Kagawa et al. (1995)에 의하면 난모세포를 *in vitro* 조건에서 DHP의 영향에 의한 난 세포의 최종 성숙을 확인할 수 있었다. 그리고 현재 수정란을 얻는 방법은 자연산란과 인공 채란에 의한 수정 방법이 있으나 자연산란에 의한 수정율이 매우 낮은 관계로 그간의 수정란 획득 방법이 후자에 의한 인공 채란 방법이다. 인공 채란 방법에도 여러 가지 검토되어야 할 문제가 있으나 특히 과숙 (over-ripening)에 관한 문

기획특집

제도 규명되어야 할 분야이다 (Nomura et al., 1974; Craik and Harvey 1984; Lahnsteiner 2000).

지금까지 검토된 것과 같이 아직까지 해결하지 못한 여러 가지 사실 중에 대표적인 난 성숙의 평가를 호르몬 투여 후 체중의 증가를 기준으로 성 성숙 정도를 판단할 수밖에 없는 등, 즉 해결해야 할 여러 가지 문제점들이 남아있다. 한편 지금까지 언급한 여러 사실들이 현재에도 계속 연구가 진행되어 보다 명확한 기능과 과정 등이 속속 밝혀지고 있고, 본 보고에서의 부족한 부분, 특히 어류에서의 생식세포 성숙과정을 체계적으로 정리한 자료 (Nagahama et al., 1994)를 참조하기 바란다. 더욱 우리가 최종 목표로 생각하는 종묘의 대량생산이라는 결과를 생각할 때 무엇보다 중요한 점은 질적으로 우수한 난을 시작으로 부상율과 수정율을 높이고, 부화율을 증대시켜 안정적이고, 건강한 자어를 키울 수 있는 조건을 확립하는 것이다.

수컷의 성 성숙

일반적으로 경골어류의 精子 형성은 精巢 내의 精原細胞가 체세포 분열에 의한 증식으로 만들어진 1개의 精母細胞는 2회에 걸친 감수분열에 의하여 4개의 精細胞가 되고 변태과정을 거쳐 精子를 만들게 된다. 이 과정의 특징은 첫째, 정소에서 체세포 분열을 반복한 정원세포가 염색체 감수분열을 진행하여 제 1 정모세포가 되고 둘째, 반수체의 정세포가 정자로서 성숙되며 셋째, 이 과정은 뇌하수체에서 방출되는 호르몬 이외에 정소조직에서 분비되는 호르몬에 의하여 분열 및 변태과정을 수행하고 마지막으로 어류나 양서류의 정소는 고등한 척추동물의 정세관 (seminifer-

ous tubule)과는 달리 여러개의 주머니 (lobule) 모양으로 구분된 조직에서 정자가 성숙되고, lobule 주변의 lobule boundary cell 또는 pericyclic cell이라 불리는 조세포가 고등척추 동물의 leydig cell과 동일한 스테로이드 호르몬 생성 기능을 담당한다 (Okada and Nagahama, 1996).

민물장어를 양식하여 정소발달 상황을 확인하여 본 결과 정소 내에서 정원세포 수준 밖에는 더 이상 분화가 진행되지 않기 때문에 인위적인 성숙 방법을 도입할 수 밖에 없다. 현재 일반적으로 가장 효과적으로 사용되는 수컷용 GTH는 사람의 태반에서 유래된 HCG (human chorionic gonadotrophin, 人間 纖毛膜性 生殖腺 刺戟 ฮอร์โมน)를 사용하게 된다. 정원세포 수준의 분화가 진행된 정소에 HCG를 1회 근육 주사 (1 IU/g BW/week)를 한 후 3일 후 정원 세포의 증식이 확인되고, 그 후 감수분열이 진행되고, 정자의 변태를 유도한다. 그리고 18일 후에는 精巢 내에 정자의 존재를 확인할 수 있었다. 그러나 이 과정 중에 HCG가 생식세포에 직접 작용하는 것이 아니고 간접적인 역할을 담당하며 아직 확인되지 않은 정자형성 과정을 규명하는 것도 중요한 연구과제이다. 다시 말해서 HCG가 수컷의 정자 형성을 위한 精巢 내의 精細管 주변에 존재하며, 정자 성숙에 관여하는 스테로이드 호르몬 생성 세포인 leydig cell을 현저하게 발달시켜 11-ketotestosterone을 합성, 분비하게 된다 (Miura, et al., 1991; Miura, et al., 2002). 그리고 sertory cell이 actibin-B를 합성 정원세포의 분열을 유도하게 된다. 결론적으로 GTH에 의하여 정소 내에서 생성되는 정자 형성 호르몬은 11-ketotestosterone이라는 사실이 확인되었고, 특히 이 과정을 민물장어 미성숙 정소를 이용해 *in vitro* 조건에

서 정소의 기관배양 방법으로 정자를 만들 수 있는 가능성을 최초로 제시하였다 (Miura et al., 1994).

한편 현재 진행되는 수정란 획득 방법은 자연 산란 보다 인공 채란 쪽에서의 기술 확립을 위하여 활성이 좋은 정자를 확보하여 채정된 정자의 활성을 유지시켜 인공 수정술의 향상에 큰 영향을 미치는 정자의 보존 및 활성도 촉진을 위한 연구도 병행하여 추진되었다. 그리고 정자의 활성을 높여주는 주요 요인으로 pH가 작용한다는 사실을 확인하고 人工精漿 (artificial seminal plasma, ASP)을 만들어 원활한 인공수정을 위한 새로운 가능성을 제시하였다 (Ohta et al., 1997).

인위적 성 성숙 제어에 따른 문제점

수산업에 대상이 되는 해양생물의 번식 과정을 확인하여 인위적으로 증식기능을 조절하여 우리가 필요로 하는 수산 자원을 원하는 시기에 적정량을 생산하는 것이 앞으로의 자원관리 측면에서 절대적으로 요구되는 기술 개발 분야로 연구의 필요성을 절감하고 있다. 지금까지 검토된 여러 가지 사실들은 민물장어에 있어 건강한 종묘를 대량으로 생산해 완전양식을 실현시켜 어려운 수산업의 현실을 극복하고, 더욱 우리의 선진기술이 기르는 어업의 정착을 위하여 새로운 양식대상 어종의 다변화의 한 방편으로 신품종에 대한 안정적 종묘생산 기술 확립이라는 지상 목표를 달성하는데 새로운 긍정적 가능성을 제시하는 계기를 마련하였다. 다시 말해서 기르는 어업의 정착으로 안정적인 수산물 생산 및 공급에 일익을 담당하는 양식기술의 대대적인 혁신을 추구하는 대상생물로 민물장어의 인공 산란 기술은 그간의

번식생리 분야의 지속적인 연구 및 기술 개발의 결실이라고 하여도 과언이 아닌 우리에게 앞으로 다가올 미개척 분야의 가능성을 제시하는 좋은 사례 중에 하나이기도 한 것이다.

특히 우리 수산업의 원료가 되는 수산생물은 현재 지구상에 존재하는 석유나 기타 자원과는 다르게 스스로 증식할 수 있는 능력을 갖고 있는 생명체이기에 우리가 관리를 적절히 한다면 지속적으로 생산성 유지하며 활용한다면 새로운 개념의 조물주의 선물이 될 수 있는 것이다. 우리 나라 연안에 서식하는 수산 자원 생물은 특히 종족 번식을 위한 생식활동이 여러 가지 형태의 주기를 갖고 행하여 진다는 것이다. 즉, 살아가는 환경에 대응하는 방법의 하나로 일, 월, 년 주기를 갖는다 (Matsuyama et al., 1995). 특히 생식주기에 있어서는 뇌를 통하여 얻어진 환경 조건이 기본 자료가 되어 뇌하수체, 그리고 생식선에서의 내분비물질 간의 조절 및 통제에 의한 방법으로 복잡한 규칙을 만들어 과정이 진행된다. 결국 개체 자체가 혹독한 자연환경 속에서 오랜 기간 살아오며 적응한 최선의 특유한 방법을 확립하여 나름대로의 주기를 형성하여 살아가고 있는 것이다. 그러나 현재 우리가 하고 있는 인공 양식 기법은 대상생물이 자연 환경조건에서 서식한 어미를 대상으로 하는 것이 아니고 완전양식이라는 목표하에 인위적인 환경에서 키운 어미를 활용하게 되므로 자연조건과 인공 사육 조건의 차이에서 오는 결핍현상, 스트레스, 등에 의하여 원만한 성 성숙의 유도가 어려운 것은 자명한 사실이다.

예를들어 산란을 위하여 바다로 돌아가는 자연산 어미의 확보가 어려운 것이 사실이므로 성 성숙 과정을 확인하는 방법의 하나로 계통 분류학적으로 유사한 어종에 대한 연구가 일본 동경대

학을 중심으로 이루어지고 있고, 그들이 노력하는 잠정적 목표는 민물장어목인 갯장어 (*Ariosoma meeki*)의 산란을 위한 성숙한 어미가 인근 연안에서 포획되므로 이들의 생식선 성숙 변동 현상을 기초로 GTH의 클로닝을 시도하여 mRNA의 정량, 성숙과정에서의 GTH 발현동태를 우선적으로 파악하려는 연구 등이 진행되고 있다 (동경대학대학원 농학생명과학연구과, 2002).

또한 앞으로의 대량생산 체제 구축을 위하여 난질의 개선을 위한 연구 (Lahnsteiner et al., 2001; Shin et al., 2001; Takahashi et al., 2001; Sekoda et al., 2003)와 孵化仔魚의 초기사육 문제도 해결되어야 할 큰 숙제로 남아 있으나 초기 사육이 가능한 배합사료는 물론, 이료 생물로 현재 유용하게 쓰이는 윤충 (*rotifera*)에 대한 부화 자어의 섭이 결과가 이미 보고 (Tanaka et al., 1995)되었기에 이료 생물 활용의 가능성도 곧 해결될 수 있는 분야로 판단되어 긍정적인 가능성을 기대하며 글을 마친다.

마지막으로 다음과 같은 문제점들이 해결되어야 우리가 추구하는 민물장어 완전양식의 목표를 달성할 수 있으리라 판단된다.

- 성 성숙의 인위적 제어에 의하여 나타나는 성 성숙 기작의 해명
- 적절한 호르몬의 사용 시기 및 투여 방법의 확립과 작용 기작 규명
- 초기 성장 조건에 적합한 이료 및 배합사료 개발

참고 문헌

- Adachi, S. 1995. Induction mechanism and classification of oocyte maturation hormone in a teleost. Ph. D. thesis. Hokkaido University, Hokkaido, Japan, 130 pp (in Japanese).
- Craik, J. C. A. and S. M. Harvey, 1984. Egg quality in rainbow trout: The relation between egg viability, selected aspects of egg composition, and time of stripping. *Aquaculture*, 40: 115-134.
- Hirose, K. and R. Ishida, 1974. Induction of ovulation in the Ayu, *Plecoglossus ltimelis* with luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH). *Nippon Suisan Gakkaishi*, 40: 1,235-1,240.
- 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.
- Ijiri, S., T. Kayaba, N. Takeda, H. Tachiki, S. Adachi and K. Yamauchi, 1998. Pretreatment reproductive stage and oocyte development induce by salmone pituitary homogenate in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Fish. Sci.*, 64: 531-537.
- Ishii, S., 1991. Gonadotrophins. (in) *Vertebrate Endocrinology ; Fundamentals and Biomedical Implications*, (ed) P. K. T. Pang, Vol. 4, Part B, Academic Press, New York, pp. 33-66.
- Kagawa, H., H. Tanaka, K. Okuzawa and K. Hirose, 1994. Development of maturational competence of oocyte of red sea bream, *Pagrus major*, after human chorionic

- gonadotrophin treatment in vitro requires RNA and protein synthesis. Gen. Comp. Endocrinol., 94: 199-206.
- Kagawa, H., H. Tanaka, H. Ota, K. Okuzawa and K. Hirose, 1995., In Vitro effect of 17α -hydroxyprogesterone and $17\alpha, 20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one on final maturation of oocytes at various developmental stages in artificially matured Japanese eel *Anguilla japonica*. Fish. Sci., 61: 1,012-1,015.
- Kagawa, H. 1996. Techniques of sexual maturation in female. (in) Early life history prospects of seed production of Japanese eel *Anguilla japonica*, (ed) O. Tabeta, Kaueseisha-Kouseikaku, Tokyo, pp. 95-107.
- Kawauchi, H., K. Suzuki, Y. Nagahama, S. Adachi, N. Naito and T. Nakai, 1986. Occurrence of two distinct gonadotropins in chum salmon pituitary. (in) Pars Details of the Pituitary Gland - Structure, Function, and Regulation, (ed) F. Yoshimura and A. Gorbman, Excerpta Medica, Amsterdam. pp. 383-390.
- Lahnsteiner, F., 2000. Morphological, physiological and biochemical parameters characterizing the over-ripening of rainbow trout eggs. Fish Physiol. Biochem., 23: 107-118.
- Lahnsteiner, F., B. Urbanyi, A. Horvath and T. Weismann, 2001. Bio-markers for egg quality determination in cyprinid fishes. Aquaculture, 195: 331-352.
- Miura, T., K. Yamauchi, Y. Nagahama and H. Takahashi, 1991. Induction of spermatogenesis in male Japanese eel, *Anguilla japonica*, by a single injection of human chorionic gonadotrophin. Zool. Sci., 8: 63-73.
- Miura, T., K. Yamauchi, H. Takahashi and Y. Nagahama, 1991. Human chorionic gonadotrophin induces all stages of spermatogenesis in vitro in the male Japanese eel (*Anguilla japonica*). Develop. Biol., 146: 258-262.
- Miura, T., C. Miura, Y. Konda, and K. Yamauchi, 2002. Spermatogenesis preventing substance in the Japanese eel. Development, 124: 2,689-2,697.
- Matsubara, H., Y. Kazeto, S. Ijiri, P. M. Lokman, T. Abe, S. Seki, K. Inaba, T. Hirai, S. Adachi and K. Yamauchi, 2001. Changes in the expression of steroidogenic enzyme genes in the Japanese eel ovary during artificially maturation. (in) Proceedings of the international symposium advances in eel biology, (ed) K. Aida, K. Tsukamoto, and K. Yamauchi, Tokyo, Japan, pp. 213-215.
- Matsuyama, M., M. Yoneda, H. Takeuchi, H. Kagawa, M. Kashiwagi, K. Tabata, Y. Nagahama, S. Ijiri, S. Adachi, and K. Yamauchi, 1995. Diurnal periodicity in testicular activity in the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. Fish. Sci., 61: 17-23.
- Nagahama, Y., M. Yoshikuni, M. Yamashita, and M. Tanaka, 1994. Regulation of oocyte maturation in fish. (in) Fish Physiology, (ed) N. M. Sherwood and C. L. Hew, Vol. 13, Academic Press. New York, pp. 393-439.
- Nomura, M., K. Sakai, and F. Takashima, 1974.

- The over-ripening phenomenon of rainbow trout, II. Changes in the percentage of eyed eggs, hatching rate and incidence of abnormal alvelins during the process of over-ripening. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 41: 855-860.
- Ohta, H., K. Ikeda, and T. Izawa. 1977. Increases of concentrations of potassium and biocarbonate ions promote acquisition of motility in vitro by Japanese eel, spermatozoa. *J. Exp. Zool.*, 277: 71-80.
- Ohta, H., H. Kagawa, H. Tanaka, K. Okuzawa and K. Hirose, 1996. Changes in fertilization and hatching rates with time after ovulation induced by $17\alpha,20\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture*, 139: 291-301.
- 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.
- Okada, M. and Y. Nagahama. 1996. *Germ Cells*. Kyoritsu, Tokyo, Japan, pp. 224.
- Okumura, H., T. Todo, S. Adachi and K. Yamauchi, 2002. Changes in hepatic vitellogenin mRNA levels during oocyte development in Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 125: 9-16.
- Patino R. and P. Thomas, 1990. Effects of gonadotrophin on ovarian intra-follicular processes during the development of oocyte maturational competence in teleost, the Atlantic croaker: Evidence for two distinct stages of gonadotripic control of final oocyte maturation. *Biol. Reprod.*, 43: 818-827.
- Sato, N, I. Kawazoe Y. Suzuki and K. Aida. 2000. Time course response testosterone and estradiol- 17β to salmon gonadotrophin treatment in the Japanese eel during ovarian development. *Fish. Sci.*, 66: 792-794.
- Satoh, H. 1979. Try for ferfect culture of the Japanese eel. *Iden*. 33: 23-30.
- Satoh, H., K. Yamamori and T. Hibiya, 1992. Induced spawning of the Japanese eel. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58: 825-832.
- Sekoda, M., S. Yamada, Y. Iwata, T. Yanagisawa and H. Kumai, 2003. Differences in the biochemical content of buoyant and non-buoyant eggs of the Japanese eel, *Anguilla japonica*. *Aquaculture*, 216: 355-362.
- Shin, D. W., X. Qu, Y. Ozaki, S. Adachi and K. Yamauchi, 2001. Artificial elevation of thyroid hormone levels in eggs of Japanese eel, *Anguilla japonica*. (in) *Proceedings of the International Symposium Advances in Eel Biology*, (ed) K. Aida, K. Tsukamoto and K. Yamauchi, Tokyo, pp. 216-218.
- Shin, D. W., 2004. Biochemical and histological studies on egg quality in the Japanese eel (*Anguilla japonica*). Ph. D. thesis. Hokkaido University, Hokkaido, Japan, 104 pp.
- Takahashi, T., Y. Ozaki, H. Koga, S. Adachi, and K. Yamauchi. 2001. The effects of diets supplemented with plant oil on the fatty acid

- composition in eggs of artificially matured Japanese eel, *Anguilla japonica*. (in) Proceedings of the International Symposium Advances in Eel Biology, (ed) K. Aida, K. Tsukamoto and K. Yamauchi, Tokyo, pp. 219-221.
- Tanaka, H., H. Kagawa, H. Ohta, K. Okuzawa and K. Hirose, 1995. The first report of eel larvae ingesting rotifers. Fish. Sci., 61: 171-172.
- Tanaka, H. 1998. Production of eel fry. Farming Japan. 32: 22-27.
- Tanaka, H., H. Kagawa, H. Ohta, T. Unuma and K. Nomura, 2003. The first production of glass eel in captivity. (in) Fish Reproductive Physiology Facilitate Great progress in Aquaculture. 7th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, May 18-23, in Mie, Japan. p. 143.
- Tsukamoto, K., T.-W. Lee. H. Fricke. 2003. Spawning area of the Japanese eel. (in) Eel Biology, (ed) K. Aida, K. Tsukamoto and K. Yamauchi, Tokyo, pp. 121-140.
- 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. T. Morioka. O. Hiroi, and M. Oomori, 1974a. Artificial maturation of female Japanese eels by the injection of salmonid pituitary. Nippon Suisan Gakkaishi, 40: 1-7.
- Yamamoto, K. M. Oomori, and K. Yamauchi, 1974b. Oogenesis of the Japanese eel. Nippon Suisan Gakkaishi, 40: 9-15 .
- Yamamoto, K., K. Yamauchi, and T. Morioka. 1975. Pre-leptocephalic larvae of Japanese eel, *Anguilla japonica*. Nippon Suisan Gakkaishi, 41: 29-34.
- Yamauchi, K., M. Nakamura, H. Takahashi, and K. Takano, 1976. Cultivation of larvae of the Japanese eel. Nature, 263: 412.
- Yamauchi, K. and K. Yamamoto. 1982. Experiments on artificial maturation and fertilization of the Japanese eel (*Anguilla japonica*). (in) Proceeding of the International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, (ed) C. J. J. Richer and G. J. Th. Goos, Pudoc Press, Wageningen, Netherlands. pp. 185-189.
- Yamauchi, K, S. Adachi, and T. Miura. 1996. Hormonal control of sexual maturation. (in) Early life history and prospects of seed production of Japanese eel *Anguilla japonica*, (ed) O. Tabeta, Kouseisha-Kouseikaku, Tokyo, pp. 65-84.
- 玄 浩一郎. 2002. 魚類の性成熟に關わる視床下部-腦下垂體系に關する研究. 日本水産學會 平成14年度水産學會大會 講演要旨集. p. 244. 東京大學大學院農學生命科學研究科. 2002. ウナギの種苗生産綜合技術開發. 內水面資源増養殖管理綜合對策委託事業報告書. 水産廳, p.91
- 松井 魁. 1972. 内部形態とその構造. 鰻學 (生物學的研究篇) 恒星社厚生閣, pp. 120-184.
- 佐藤 英雄, 中村 中六, 日比谷 京. 1962. ウナギの

기획특집

- 生殖腺の成熟に関する研究-I. 日本水産學會誌, 28: 579-584.
- 酒井 清, 野村 捻, 石田 修, 石井 俊雄. 1971. ウナギの種苗生産に関する研究. 水産増殖, 19: 201-210.
- 岡田 益吉, 長濱 嘉孝. 1996. 生殖細胞 -形態から分子へ-. 共同出版(株). pp. 60-111.
- 山内 皓平, 三浦 猛. 1988. 日本産ウナギの性成熟とHormone機構. 海洋科學, 20: 184-189.
- 山本 喜一郎, 森岡 孝朗, 廣井 修, 大森 正明. 1974b. さけ類腦下垂體投與による雌ウナギの性成熟. 日本水産學會誌, 40: 1-7.
- 山本 喜一郎, 大森正明, 山内皓平. 1974c. 日本産ウナギ (*Anguilla japonica*)の卵の形成に関する研究. 日本水産學會誌, 40: 9-15.
- 北海道大學大學院水産科學研究科. 2002. ウナギの種苗生産綜合技術開發. 内水面資源増養殖管理綜合對策委託事業報告書. 水産廳, pp.91
- 日比谷 京. 1966. ウナギの完熟採卵に成功. 養殖, 3, 12-15.