

## 갯장어 *Muraenesox cinereus*의 난소 발달에 따른 혈중 Estradiol-17 $\beta$ 변동

김대중 · 김이청 · 손맹현<sup>1</sup> · 이정익<sup>1</sup> · 손상규<sup>2</sup> · 한창희<sup>3\*</sup>

국립수산과학원 내수면양식연구센터, <sup>1</sup>생물생산부 양식관리과, <sup>2</sup>남해수산연구소, <sup>3</sup>동의대학교 분자생물학과

Received November 6, 2009 / Accepted November 24, 2009

**Profile of Plasma Estradiol-17 $\beta$  According to Ovarian Development of the Pike Eel, *Muraenesox cinereus*.** Dae-Jung Kim, Yi-Cheong Kim, Maeng-Hyun Son<sup>1</sup>, Jung-Uie Lee<sup>1</sup>, Sang-Gyu Son<sup>2</sup> and Chang-Hee Han<sup>3\*</sup>. *Inland Aquaculture Research Center, NFRDI, Jinhae 645-805, Korea, <sup>1</sup>Aquaculture Management Division, NFRDI, Busan 619-902, Korea, <sup>2</sup>South Sea Institute, NFRDI, Yosu 556-906, Korea, <sup>3</sup>Department of Molecular Biology, Dongeui University, Busan 614-714, Korea* - This study correlated changes in the plasma levels of estradiol-17 $\beta$  (E2) with changes in the gonadosomatic index (GSI) and ovarian development during the annual reproductive cycle of the pike eel *Muraenesox cinereus*, collected at the Tongyung coast region. Ovarian maturity was classified based on histological observations; the perinucleolus stage (November to February), the oil droplet stage (March to April), the early vitellogenic stage (April to May) and the late vitellogenic stage (June to October). Seasonal changes in the GSI were correlated with water temperature and reflected the degree of ovarian maturity. Plasma E2 levels were correlated with changes in the GSI, which increased from April to a peak in July, and the levels remained comparatively high until October. These data indicated that changes in the GSI and plasma E2 levels are correlated with the annual ovarian activity of the pike eel. In this study, however, female pike eels were not collected during the spawning stage. Therefore, spawning of this species seemed to be closely related to its migration toward the deep sea of offshore.

**Key words :** Pike eel, *Muraenesox cinereus*, annual reproductive cycle, estradiol-17 $\beta$

### 서 론

뱀장어목중 수산자원으로 중요한 어종은 극동산 뱀장어 (*Anguilla japonica*), 갯장어(*Muraenesox cinereus*), 붕장어 (*Conger myriaster*) 등이 있으며, 뱀장어는 성성숙 및 산란은 해수인 바다에서 성장은 담수인 강·하천 및 저수지에서 서식하는 회유성 어종이지만 갯장어와 붕장어는 성성숙·산란 및 성장과 같은 일련의 전 생활사를 바다에서 보내는 어종이며, 이들 어종들은 공통적으로 leptocephalus 유생기를 보내며 아직 종묘생산기술이 완전히 확립되어 있지 않다.

최근 일본 연구진들에 의해 육상 수조에서 양성한 갯장어의 섭이량 및 성장에 관한 연구를 통해 3~4년 육상 수조에서 양성한 갯장어 친어에서 자연산란에 의해 부화자어를 생산 일령 40일까지 사육하였다[5,6]. 또한 자연 상태에서 채취한 갯장어의 수정란과 자어의 발생에 관한 연구 등이 있다[16].

한편 국내에서도 연근해에 서식하는 갯장어의 자원관리 측면에서 연구가 진행되어 왔으며, 분포 특성에 관한 연구[13], 연령과 성장에 관한 연구[11] 및 성숙과 산란에 관한 연구[7] 등이 있으나, 암컷 갯장어의 난소발달에 따른 혈중 성호르몬의 변화를 조사한 결과는 없는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 갯장어 종묘생산 기술을 확립하기 위한 목적으로 난소 발

달에 따른 성호르몬 변동을 파악하여, 추후 배란 유도시 기초 자료로 이용하고자 하였다.

### 재료 및 방법

#### 시험어

2008년 4월부터 2008년 10월까지 경남 통역해역에서 통발로 채집된 암컷 갯장어(*Muraenesox cinereus*, 체중 900 g 이상, 전장 100 cm 이상) 5~7마리를 매일 중순경에 구입하였고, 갯장어가 채집되지 않는 시기인 2007년 12월~2008년 3월까지의 채집은 2007년 11월 초순 경에 체중 900 g 이상되는 개체를 유수식 콘크리트 수조에 수용하여 고등어 혹은 한치 등을 급여[5,6]하면서 매일 같은 시기에 샘플링 하였다.

#### 혈액 채취 및 혈중 estradiol-17 $\beta$ (E2) 농도 측정

갯장어는 Mecaptoethanol로 마취시켜 체중 및 체장을 측정 후, heparin 처리 일회용 주사로 미부 혈관으로부터 채혈하였다. 혈액은 4°C, 3,600 rpm에서 15분간 원심분리한 후, 혈장을 분리하여 방사선면역측정법(Radioimmunoassay; RIA)에 의한 혈중 E2 측정 전까지 -80°C에 보관하였다. 혈중 E2 농도를 측정하기 위하여 ether법에 의해 혈장내 steroid hormone을 추출한 후, RIA에 의한 혈중 E2 농도를 측정하였다[10].

#### \*Corresponding author

Tel : +82-55-540-2723, Fax : +82-55-546-6292

E-mail : djkim4128@nfrdi.go.kr

**난소조직 표본제작**

매월 채집한 갯장어 난소들은 Bouin's 액에 고정한 후, 상법에 따라 paraplast로 포매하여 5 μm 크기로 절편하였다. 각 조직의 절편은 Hematoxylin-eosin으로 염색하여 난소 발달 정도를 조사하였다. 난소발달 단계는 앞선 연구 결과인 갯장어 및 극동산 뱀장어의 결과에 따랐다[1,7].

**통계처리**

통계처리는 분산분석 후, Duncan's new multiple range test로 유의성 검정을 하였다.

**결 과**

**채집장소의 수온과 일장 변화**

시료 채집 장소인 통영해역의 2007년 11월부터 2008년 10월까지의 수온과 일장의 변화를 조사한 결과를 Fig. 1에 나타내었다. 수온은 연중 가장 낮은 2월을 기점으로 3월부터 서서히 상승하기 시작하여 6월이 되어서야 18°C 이상이 되며, 8월~9월에 25°C 전후를 기점으로 하강하기 시작하여 10월 중순은 21.7°C로 낮아지기 시작하였다. 또한 낮의 길이는 동지인 12월 22일의 9시간 49분을 기점으로 길어지기 시작하여 춘계인 3~5월에는 12~13시간을 유지하다가 하지인 6월 21일에 14시간 30분으로 가장 길었다. 이후 다시 짧아지기 시작하였다.

**생식소중량지수(GSI) 및 혈중 estradiol-17β (E2) 농도 측정**

2007년 11월부터 2008년 10월까지 조사된 GSI 및 혈중 E<sub>2</sub> 농도의 주연변화를 Fig. 2에 나타내었다. 겨울철인 12월부터 2월까지의 GSI 및 혈중 E<sub>2</sub> 농도는 매우 낮은 값을 유지하였다. 그 이후 수온이 상승하는 봄철인 3월부터 GSI와 혈중 E<sub>2</sub> 농도는 서서히 증가하기 시작하여 여름철인 6월부터 8월까지의 매우 높은 값을 유지하여, 7월 중순에는 GSI와 혈중 E<sub>2</sub> 농도 모두가 년중 최고치를 나타내었다. 가을철인 9월 중순의 해수

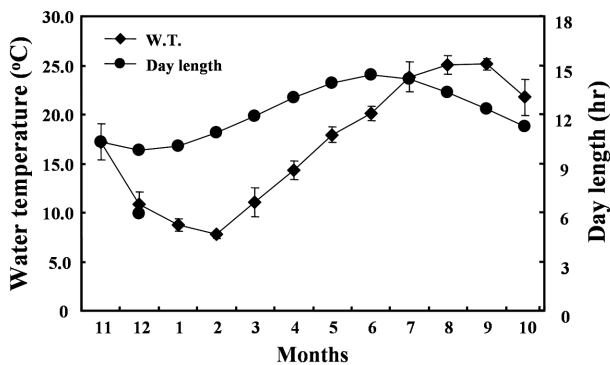


Fig. 1. Annual changes of water temperature and day length in sampling place (Tongyung) of pike eel, *Muraenesox cinereus*.

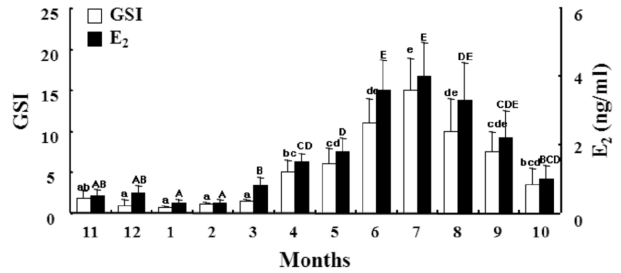


Fig. 2. Monthly changes in gonadosomatic index (GSI) and plasma levels of estradiol-17β (E<sub>2</sub>) during the annual reproductive cycle of female pike eel, *Muraenesox cinereus*. Each value represents mean±SEM for seven to ten samples. Different letters represent significant differences ( $p < 0.05$ ).

수온은 25°C로 높았지만 GSI와 혈중 E<sub>2</sub> 농도는 감소하기 시작하여, 11월에 들어서는 급격히 감소하였다.

**난소의 조직학적 변화**

난소의 조직학적인 변화를 Fig. 3에 나타내었다. 수온이 낮은 늦가을에서 겨울철의 갯장어 난소 소낭내에는 Perinucleolus stage (주변인기)의 초기 난모세포들이 잔존한 채 2월까지 유지하고 있었다(Fig. 3A). 수온이 서서히 증가하는 봄철인 3월부터 oil droplet stage (유구기)의 난모세포들이 출현하기 시작하여(Fig. 3B) 4월에서 5월경에는 early vitellogenic stage (초기 난황형성기)의 난모세포로 난소의 대부분을 구성하고 있었으며(Fig. 3C), 일부 개체에서 late vitellogenic stage (후기 난황형성기) (Fig. 3D)의 나타나기 시작하였다. 초여름인 6월

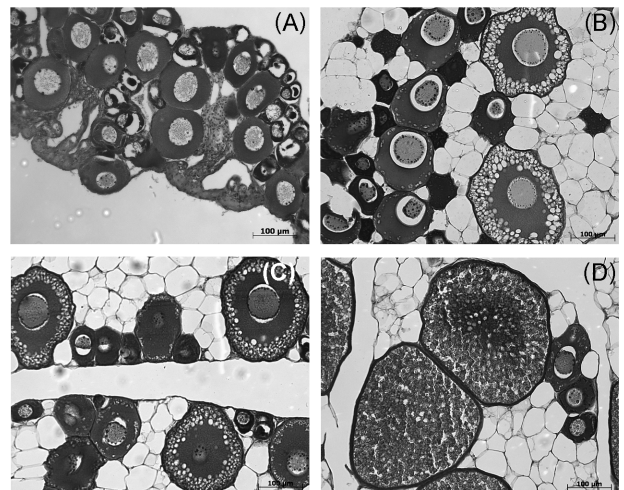


Fig. 3. Histological changes of ovary in female pike eel, *Muraenesox cinereus*. A: Section of ovary collected in the perinucleolus stage (November to February); B: Section of ovary collected in oil droplet stage (March to April); C: Section of ovary collected in the early vitellogenic stage (April to May); D: Section of ovary collected in the late vitellogenic stage (June to October).

경에는 후기 난황형성기의 난모세포(Fig. 3D)들로 대부분 구성되어 있었으며, 7월부터 가을철인 10월까지 후기 난황형성기의 난모세포와 주변인기의 초기 난모세포(Fig. 3A)들로 혼재되어 있었다.

## 고 찰

갯장어의 주산란기는 6월~8월 사이였으며, 이때 혈중 E2 농도도 연중 최고치를 나타내었으나, 이 시기에 암컷 난소에서 최종 성숙에 도달한 난모세포들은 관찰할 수 없었다. 특히 갯장어 암컷 GSI는 봄철인 4월부터 서서히 증가하기 시작하여 7월에는 연중 최고치를 나타내었고 가을부터 감소하기 시작하여 겨울철에는 연중 최저치에 도달하였다. 뱀장어목 어류 중 극동산 뱀장어의 경우 자연계에서 6월에서 7월 사이가 주산란 시기로 알려져 있다[4]. 또한 전장 70 cm 이상의 검봉장어(*Conger japonicus*) 암컷 GSI의 계절 변화는 1월부터 서서히 상승하기 시작하여 6월에 최고치를 나타낸 후 감소하여 10월 경에는 최저치를 나타내며 12월경에는 다시 최고치를 나타낸다고 보고하였다[15]. 한편, 붕장어의 경우 5월에서 7월에 걸쳐 출현한 대형 개체(전장 70 cm, 체중 약 700 g)는 미성숙 개체였으나, 겨울철인 2월에 채집된 대형 개체들의 암컷 GSI는 1.1~6.3으로 제2차 난황구기의 성숙한 개체들이 출현한다고 보고하였다[12]. 본 연구 결과에서도 암컷 GSI가 최고치인 7월경에도 대부분의 개체들은 제2차 난황구기의 난모세포로 구성되어 최종 성숙에 도달한 개체가 나타나지 않아 붕장어의 연구 결과와 유사한 경향을 나타내었다. 그러나 제주도 마라도 근해 대형 기저쌍끌이에 의해 포획된 갯장어는 6월경에 산란 단계의 개체들이 출현한다고 보고하였다[11]. 그러나 본 연구에서는 통영 근해에서 채집된 갯장어들은 최종 성숙기 혹은 산란기의 암컷 개체가 관찰되지 않았으며, 이러한 이유는 뱀장어목 어류들은 성숙이 진행되면 심해로 이동하여 최종 성숙에 도달하는 가능성[4] 혹은 채집 장소 및 채집 방법의 차이에 의한 가능성이 높을 것으로 추측되며, 이러한 추측의 근거 자료로 극동산 뱀장어[9,10]와 붕장어[3]의 경우 호르몬 투여에 의해 인위적으로 최종 성숙에 도달한 암컷의 GSI는 30 이상 증가한다고 보고하였으나, 갯장어의 경우 GSI가 최고치인 7월경 16 정도로 아직 낮아 최종 성숙 혹은 배란 및 산란을 위해 상기 부분에서 언급한 추측 가능성을 높여준다고 생각된다.

또한 암컷 갯장어(전장 70 cm 이상) GSI의 월별 변화에 의하면 6월에 연중 최고치를 나타낸 후, 7월에 급속히 감소한다고 보고하였으며[7,11], 육상 수조에서 1년 이상 양성한 갯장어의 난소 난경은 6월~8월에 걸쳐 유의적으로 증가하여 이러한 친어에서 자연 산란에 의해 부화 자어를 생산하였다고 보고하였다[5]. 본 연구에 있어서는 6월~8월에도 GSI가 10~16 정도로 유지하여, 제주도 마라도 근해 대형 기저쌍끌이에 의해 포

획된 갯장어의 연구 결과[7,11]와 상이한 차이점은 기후 변화에 의해 해수 수온의 상승에 따른 산란기의 변동인지 혹은 갯장어 개체군 차이[13]에 의한 것인지는 추후 지속적인 연구가 수행되어야 할 것이다.

대부분 경골어류의 주년생식리듬은 생식소의 기능을 지배하는 생식내분비계 활동이 연주기적으로 변동하는 수온이나 일장 등의 외부환경 요인에 의해 조절되어지며, 이러한 환경 요인 변화가 뇌하수체에서 생식선자극호르몬(gonadotropin)을 분비시켜 생식소에 작용 및 그곳에서 생성되는 여러 종류의 활성 성호르몬 작용에 의해 배우자형성이 촉진되어 진다고 보고하였다[2]. 본 연구에서도 봄철 수온이 상승함에 따라 혈중 E<sub>2</sub> 농도가 서서히 증가하기 시작하여, 여름철에 연중 최고치를 나타내었다. 그 이후 수온이 하강하는 가을철에 서서히 감소하기 시작하여, 겨울철(육의 수조 사육)에는 연중 최저치를 나타내었다. 비록 최종 성숙기의 개체가 채집되지 않아 그 시기의 혈중 E<sub>2</sub> 농도 측정은 불가능하였다. 문치가자미[8] 및 문질망둑[14]와 같은 타 어종에서도 암컷 GSI가 연중 최고치의 시기에 혈중 E<sub>2</sub> 농도도 가장 높다고 보고 하였지만, 인위적으로 성숙 유도된 자연산 Silver 뱀장어의 경우 후기 난황형성기에 혈중 E<sub>2</sub> 농도가 최고치로 증가하고 배란 후에 감소하는 경향을 나타낸다고 보고하였다[9]. 추후 최종 성숙에 도달한 갯장어 암컷 개체의 혈중 E<sub>2</sub> 농도 및 다른 성스테로이드 호르몬의 분석 필요성이 요구된다.

## 요 약

본 연구는 통영 해역에서 채집되어진 갯장어, *Muraenesox cinereus*의 생식년주기에 있어서 난소 발달과 생식소중량지수(gonadosomatic index; GSI) 변화에 따른 혈중 estradiol-17β (E<sub>2</sub>) 농도 변화를 서로 연관시켜 조사하였다. 난소 성숙도는 조직학적 관찰을 기초로 주변인기(11월-2월), 유구기(3월-4월), 초기 난황형성기(4월-5월) 및 후기 난황형성기(6월-10월)로 나눌 수 있었다. GSI의 계절적 변화는 수온과 밀접한 연관성을 가지고 있으며, 난소의 성숙 정도에 영향을 미쳤다. 혈중 E<sub>2</sub> 농도는 GSI 변화와 관련이 있어 4월에 증가하여 7월에 연중 최고치에 도달하였고 10월까지 비교적 높은 농도로 유지하였다. 이러한 결과들은 GSI와 혈중 E<sub>2</sub> 농도 변화는 갯장어 난소 발달과 밀접한 관련이 있음을 나타내고 있다. 그러나 본 연구에서는 산란기의 암컷 갯장어를 채집하지 못하였다. 이러한 이유로 산란기의 개체는 외해의 심해쪽으로 이동하기 때문이라고 추측된다.

## 감사의 글

본 연구는 국립수산물과학원(RP-2009-AQ-092)의 지원에 의해 운영되었습니다.

## References

1. Adachi, S., S. Ijiri, Y. Kazeto, and K. Yamauchi. 2003. Oogenesis in the Japanese eel *Anguilla japonica*, pp. 301-329, In Aida K., K. Tsukamoto, and K. Yamauchi (eds.), *Eel Biology* Springer-Verlag, Tokyo.
2. Aida, K. 1988. A review of plasma hormone changes during ovulation in cyprinid fishes. *Aquaculture* **74**, 11-21.
3. Horie, N., T. Utoh, Y. Yamada, A. Okamura, H. Zhang, N. Mikawa, S. Tanaka, and P. Oka. Artificial induction of ovarian maturation and ovulation in the common Japanese conger *Conger myriaster*. *Nippon Suisan Gakkaishi* **67**, 842-849.
4. Ishikawa, S., K. Suzuki, T. Inagaki, S. Watanabe, Y. Kimura, A. Okamura, T. Otake, N. Mochioka, Y. Suzuki, H. Hasumoto, M. Oya, M. J. Miller, T. W. Lee, H. Ferlicke, and K. Tsukamoto. 2001. Spawning time and place of the Japanese eel, *Anguilla japonica* in the north equatorial current of the western north Pacific ocean. *Fish Sci.* **67**, 1097-1103.
5. Kaji, T., A. Nishi, H. Hashimoto, H. Imazumi, and J. Adachi. 2008. Trial for rearing pike eel, *Muraenesox cinereus* larvae by applying the Japanese eel larvae rearing method. *J. Fish. Tech.* **1**, 83-86.
6. Kanda, T., N. Mochioka, and T. Wakamatsu. 1991. Possibility of culture of pike conger, *Muraenesox cinereus* using wild leptocephali. *Nippon Suisan Gakkaishi* **57**, 397-401.
7. Kang, Y. J., B. S. Jeon, and C. I. Zhang. 1998. A study on the stock management of the sharp-toothed eel, *Muraenesox cinereus* in Korean waters. III. Maturation and spawning. *J. Kor. Soc. Fish Res.* **1**, 18-24.
8. Kim, D. J., C. M. An, and K. S. Min. 2006. Plasma sex steroid hormone and vitellogenin profiles during ovarian development of the wild marbled sole, *Limanda yokohamae*. *J. Kor. Fish. Soc.* **39**, 391-397.
9. Kim, D. J., E. O. 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. of Aquaculture* **19**, 267-274.
10. Kim, D. J., J. Y. Bae, and E. O. Kim. 2007. Changes in sex steroid hormones and ovarian development during artificial maturation of female eel, *Anguilla japonica*. *Integrative Biosciences* **11**, 117-124.
11. Kim, M. J., Y. J. Kang, and C. S. Park. 1998. A study on the stock management of the sharp-toothed eel, *Muraenesox cinereus* in Korean waters. II. Age and growth. *J. Kor. Soc. Fish Res.* **1**, 11-17.
12. Okamura, A., T. Utoh, H. Zhang, Y. Yamada, N. Horie, N. Mikawa, S. Tanaka, M. Takashi, and H. Oka. 2000. Seasonal changes in maturity in the Conger eel, *Conger myriaster* at the Pacific coast of Atsumi Peninsula, Central Japan. *Nippon Suisan Gakkaishi* **66**, 412-416.
13. Park, C. S., D. W. Lee, Y. J. Kang, Y. S. Kim, and C. I. Zhang. 1998. A study on the stock management of the sharp-toothed eel, *Muraenesox cinereus* in Korean waters. I. Distribution patterns. *J. Kor. Soc. Fish Res.* **1**, 1-10.
14. Park, M. H., I. J. Hwang, D. J. Kim, Y. D. Lee, H. B. Kim, and H. J. Baek. 2005. Gonadal development and sex steroid hormone levels of the yellowfin goby, *Acanthogobius flavimanus*. *J. Kor. Fish Soc.* **38**, 309-315.
15. Shouji, Y. 2003. Studies on the sex ratio and gonad index of Beach conger, *Conger japonicus*. *Bull. Chiba Pref. Fish. Res. Cen.* **2**, 71-74.
16. Umezawa, A., T. Otake, J. Hirokawa, K. Tsukamoto, and M. Okiyama. 1991. Development of the eggs and larvae of the pike eel, *Muraenesox cinereus*. *Jpn. J. Ichthy.* **38**, 35-39.