

## Inhibitory Effects of Extracts from *Albizzia julibrissin* on Gonadal Maturation in a Medaka (*Oryzias latipes*)

Eun-Hee Lee<sup>1</sup>, Sang-Pil Oh<sup>2</sup>, Myong-Hee Kim<sup>1</sup>, Kwang-Hyun Kim<sup>3</sup>, Sang-Hoon Hong<sup>4</sup> and Chang-Hee Han<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Molecular Biology, Dong-eui University, Busan 614-714, Korea

<sup>2</sup>Division of Export promotion, Jeju Special Self-Governing Province, Jeju 690-700, Korea

<sup>3</sup>Department of Life Science and Biotechnology, Dong-eui University, Busan 614-714, Korea

<sup>4</sup>Department of Oriental Medicine, Dong-eui University, Busan 614-052, Korea

Received January 9, 2013 / Revised March 22, 2013 / Accepted March 25, 2013

This study was performed to determine whether stem bark extract containing saponin of *Albizzia julibrissin* in the diet influences gonadal maturation and spawning in medaka (*Oryzias latipes*). The crude extraction containing saponin (HaBC) was partially purified from n-BuOH extraction of *A. julibrissin* stem bark by Diaion HP-20, Silica gel and Sephadex LH-20 chromatographies. We fed diets supplemented with HaBC to medaka. We then studied the effects of the HaBC supplement on the suppression of gonadal maturation and spawning in female medaka that were reared in aquaria with recirculation systems. In the experiment with immature female medaka, the periods of initiation of gonadal maturation and spawning were delayed in the fish that were fed diets supplemented with at least HaBC 20 mg/g-feed. In the experiment with mature female medaka, the fish that were fed diets supplemented with at least HaBC 20 mg/g-feed had lower GSIs than the control diet group did. The results showed that the growth of the immature medaka was not correlated with the amount of supplementation of HaBC in the diet. However, the condition factors (CF) in the medaka that were fed diets supplemented with at least HaBC 20 mg/g-feed were higher than in the medaka fed on the control diet. We concluded that extracts containing saponin from the stem bark of *A. julibrissin* have the potential to inhibit gonadal maturation in female medaka, but they did not act as growth stimulation. Further studies are required to determine the mechanism of the action.

**Key words** : Stem bark extracts, *Albizzia julibrissin*, medaka *Oryzias latipes*, inhibition of gonadal maturation

### 서 론

자귀나무(*Albizzia julibrissin* Durazz)는 우리나라를 비롯한 아시아 지역의 산과 들에서 자라며 키가 5~15 m에 이르는 콩과 식물로써 우리나라에서는 관상수로 사용하기도 한다. 자귀나무는 합환목(合歡木)이라고 부르고, 그 줄기의 껍질을 합환피(合歡皮)라고 부른다. 예로부터 합환피 추출물을 불면 증치료, 이노제, 강장제, 진통제 등의 민간요법에 사용되어 왔다[32]. 자귀나무의 껍질에는 불안이나 우울증을 해소하는 진정효과[20, 23], 항산화효과[18], 그리고 항암효과[31]가 있는 것으로 알려져 있으며, 꽃에서는 자궁수축작용[22]을 하는 기능이 있는 것으로 알려져 있다. 또한 합환피로부터 saponin [4, 25], phenolic glycosides [21], triterpenes [3], fla-

vonoids [22] 등의 다양한 물질들이 분리되어 그 구조가 밝혀지기도 하였다.

특히 콩과식물의 saponin은 뇌하수체 세포로부터 luteinizing hormone의 분비를 억제한다는 보고[26]가 있으며, 콩과식물에 속하는 자귀나무속의 *A. lebbek*의 껍질 추출물을 쥐에 먹인 결과 수컷의 Leydig 세포의 크기와 수, 정자 수 그리고 정자의 활성이 유의하게 감소한다는 보고가 있다[15]. *Quillaja saponaria*에서 추출 분리한 saponin도 담수 산 어류인 tilapia의 산란량을 감소시키는 효과를 보여주어 saponin이 동물의 생식소 성숙 억제에 관여하고 있음을 보여주고 있다[12].

어류의 생식소 억제 기술은 양식 어류의 생산성을 향상시키는데 매우 중요하다. 대부분 어류의 암컷들은 생식소 성숙에 쓰이는 에너지의 양이 20% 내외로 대단히 많기 때문에 암컷의 불임을 유도하거나 생식소의 성숙을 억제하면 생식활동에 사용되는 에너지를 성장이나 대사에 이용될 수가 있어서 성장을 촉진시키고 생존율을 높일 수 있다는 생각을 많이 해왔다. 이러한 이론적 근거로 불임성 3배체 어류를 생산하는 방법이 제안되고 있다[2, 6, 10, 29]. 그러나 불임성 3배체 암컷은 생식소 발달 억제로 인해 정상적인 2배체에 비해 2년 후에는 14% 이상의 높은 성장률을 나타낸다는 보고들이 있으나[2], 면역학

#### \*Corresponding author

Tel : +82-51-890-1524, Fax : +82-51-890-1521

E-mail : chhan@deu.ac.kr

This is an Open-Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/3.0>) which permits unrestricted non-commercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

적, 생리적 기능이 정상적인 어류에 비해 떨어져 폐사율이 높고 소비자의 인식문제로 최근에는 양식에 적용되지 못하고 있다[1, 14]. 또한 성장 촉진을 위해 성장호르몬 유전자 변형 어류 생산에 대한 연구들도 이루어져왔으나[7, 9, 24, 27, 31] 이 또한 소비자의 건강에 대한 안전성 확보 문제와 유전자재조합식품에 대한 기피현상 때문에 산업화가 되지 못하고 있다.

본 연구에서는 어류의 생식소 성숙을 억제하는 효과를 가진 물질을 천연식물로부터 찾아내어 개발하고 이를 이용하여 생식소 성숙 시스템을 제어함으로써 어류양식의 생산성을 높이고자 하는 연구의 일환으로써 콩과 식물인 자귀나무 껍질로부터 saponin 분획이 함유된 추출물을 얻고, 이를 첨가한 사료를 송사리에 먹여 생식소 성숙 억제 효과를 조사하였다.

### 재료 및 방법

#### 시료로부터 조 saponin 분획 분리

자귀나무(*A. julibrissin*)의 껍질(합환피)은 현대약업사(Busan, Korea)에서 구입하였으며, 이 약재에 대한 진위여부는 동의대학교 한의과대학에 의뢰하여 확인하였다. 시료를 건조하여 분말로 만든 후 분말(3.0 kg)에 methanol (MeOH) 10 l를 넣어 65°C에서 4시간 동안 3회 반복하여 추출하였다. MeOH 추출물로부터 saponin이 함유된 분획물을 얻기 위해 Won et al. [30]이 saponin이 함유된 추출물(HaBC)을 분리한 것과 동일한 방법으로 MeOH 추출물을 n-BuOH로 분획시킨 다음, Diaion HP 20, Silica gel, Sephadex LH-20을 이용하여 saponin이 함유된 분획물인 HaBC를 얻었다. HaBC 내의 합환피 saponin인 Julibroside III의 함량은 분석용 HPLC (Waters 510,  $\mu$ -Bondapak C18 column, 216 nm)를 사용하여 조사하였으며, 본 실험에 사용한 추출물, HaBC 내의 saponin 함량은 16%였다.

#### 시험어의 사육

실험에 사용한 송사리(*Oryzias latipes*)는 미국 Carolina TM

Science & Math에서 연중 산란을 하도록 개발된 것으로 화학연구원 안전성평가 연구소로부터 구입하였다. 송사리는 45 cm<sup>L</sup>×36 cm<sup>H</sup>×30 cm<sup>W</sup>의 유리 수조들을 장치하고 실험 종류에 따라 12마리에서 40마리씩 수용하였으며, 암수는 3:1의 비율로 넣어주었다. 모든 수조는 25°C로 일정하게 유지하였다. 광주기는 15L9D로 장일 조건으로 조정하였으며, 먹이는 Tetra사의 사료를 체중의 5%가 되도록 하루에 2회 공급하였다.

Saponin이 함유된 추출물의 생식소 억제 효과를 조사하기 위해 사료에 추출물을 일정한 양으로 혼합시킨 사료를 송사리에 공급하면서 사육 실험을 하였다.

#### 산란양 조사

송사리의 생식소 성숙 억제 효과를 조사하기 위한 방법으로 송사리의 산란양을 조사하였다. 채란을 원활하게 수행하기 위해 수조 내에 스폰지를 넣어주었으며, 매일 스폰지를 수거하여 산란된 양을 조사하였다.

#### 생식소 성숙 및 조직학적 조사

생식소의 성숙상태는 생식소체중비(GSI: gonadosomatic index=(gonad weight/body weight)×100)를 산출하여 나타냈으며, 적출된 생식소는 Bouin's액에 고정후 탈수하여 상법인 paraffin 절편법에 의해 5~6  $\mu$ m 두께로 연속 절편하여 hansen' hematoxylin 과 eosin으로 이중 염색하여 생식세포의 발달 상태를 조사하였다. 간에 대해서는 간체중비(HSI: hepatosomatic index=(liver weight/body weight)×100)를 산출하였으며, 적출된 간에 대해서도 생식소와 동일한 방법으로 조직학적 조사를 하였다.

### 결론

#### 미숙한 어류에 대한 생식소 발달 및 산란억제 작용

미숙한 상태의 송사리에 HaBC를 첨가한 사료를 주었을 때 생식세포의 형성과 발달에 대한 영향을 조사하기 위해 부화 후 3개월째 되는 미숙한 송사리 개체들을 사용하여 생식소발



Fig. 1. Photograph of immature medaka 3 months of age after hatching (A), and photomicrograph of a gonad on an immature female medaka (B)

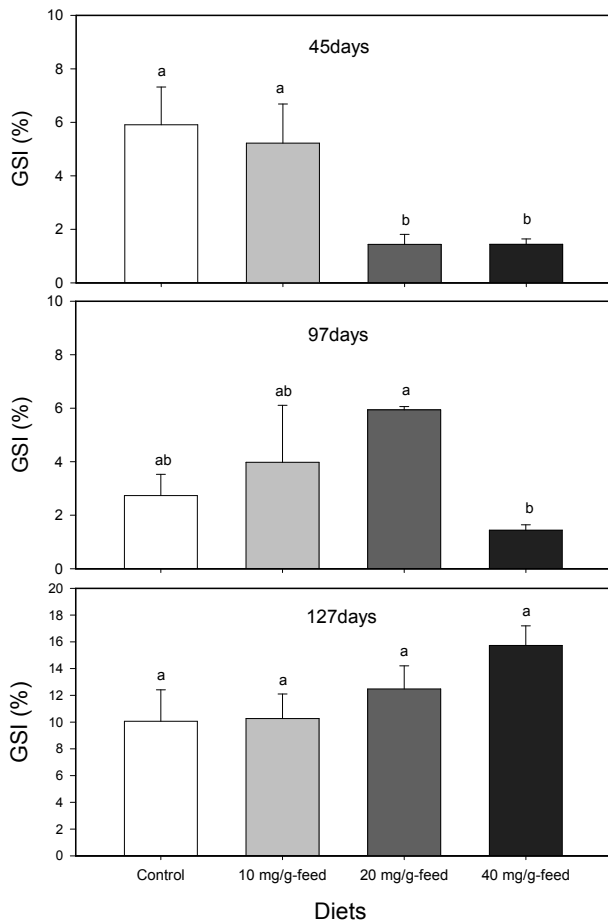


Fig. 2. The changes of GSI in immature medaka (*O. latipes*) fed diets supplemented with HaBC 10 mg/g-feed, 20 mg/g-feed and 40 mg/g-feed. Bars with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ). Values are expressed as means $\pm$ SE.

달과 성장에 미치는 영향을 조사하였다. 실험이 시작되는 시점의 송사리의 크기와 생식소의 발달 상태는 Fig. 1에서 보는 바와 같이 평균 체장이 1.0 $\pm$ 0.3 cm이었으며, 생식소에 대해 조직학적 상태를 조사한 결과 대부분 생식소의 절취가 불가능한 상태이어서 GSI를 측정할 수가 없었으나, 생식소의 난모세포들은 대부분 주변인기의 난모세포로 이루어져 있는 성숙초기의 난모세포를 가지고 있었다.

이들에 대해 HaBC를 사료에 각각 10 mg/g-feed, 20 mg/g-feed 그리고 40 mg/g-feed되도록 첨가하여 송사리에

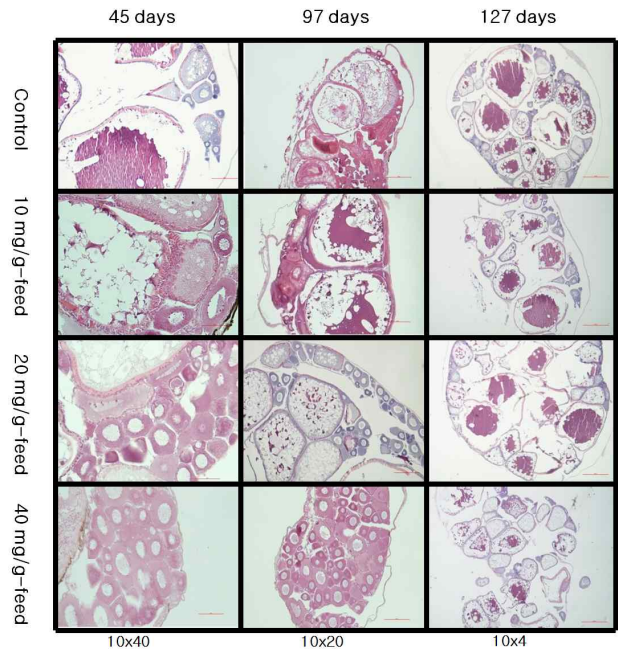


Fig. 3. The changes of histological phases of ovary in immature medaka (*O. latipes*) fed diets supplemented with HaBC 10 mg/g-feed, 20 mg/g-feed and 40 mg/g-feed.

체중의 10%가 되도록 하루에 2회 급이하면서 129일간 사육하였으며, 사육 후 45일, 97일 그리고 127일 쯤 되는 날에 사육중인 송사리 일부를 채집하여 GSI와 생식소에 대한 조직학적 조사를 하여 GSI의 변화는 Fig. 2에, 생식소의 조직학적 양상은 Fig. 3에 나타내었다. 본 실험에서 산란이 처음 일어나기 시작한 시기와 평균 산란량은 Table 1에 나타내었다.

Fig. 2에서 보는 바와 같이 사육 45일 후 대조구와 10 mg/g-feed에서는 GSI가 각각 5.91 $\pm$ 1.41%와 5.22 $\pm$ 1.46% 전후의 높은 값을 보였지만 20 mg/g-feed과 40 mg/g-feed 실험구에서는 GSI가 각각 1.44 $\pm$ 0.37%와 1.44 $\pm$ 0.20%로 낮은 값을 보였다. 생식소에 대한 조직학적 조사에서도 대조구와 10 mg/g-feed에서는 완숙된 난모세포와 성숙중인 난모세포들이 관찰되어 성숙 중에 있었으나, 20 mg/g-feed과 40 mg/g-feed 실험구에서는 주변인기의 난모세포들로 이루어져 있어서 아직 미숙한 상태에 있었다. 그러나 97일째에는 20 mg/g-feed 실험구에서도 GSI가 5.94 $\pm$ 0.12%로 증가하였으며, 암컷의 난소 내에도 난황형성이 이루어진 성숙중인 난모세포들로 이루어져 있었다. 그러나 40 mg/g-feed 실험구에서는 GSI가 1.44 $\pm$ 0.20%로 낮은

Table 1. The effects of supplementation of HaBC in feed on first spawning days and number of daily spawning eggs of medaka *O. latipes*. Initial experimental medakas were immature, with a mean body length of 1.0 $\pm$ 0.3 cm

	amount of supplementation of HaBC in feed			
	Control	10 mg/g	20 mg/g	40 mg/g
Rearing days	46	46	87	107
No. of spawning eggs/day/individual	14.5	20.0	13.2	6.2

값을 보였으며, 조직학적 상태에서는 아직도 주변인기의 난모 세포들로 이루어져 있었다. 사육 127일째가 되었을 때는 40 mg/g-feed 실험구에서도 GSI가 15.73±1.03%로 높은 값을 보였으며, 다른 실험구와 동일한 성숙상태에 있었다.

각 실험구에서의 산란이 시작되는 시점은 Table 1에서 보는 바와 같이 대조구와 10 mg/g-feed 실험구에서는 사육 46일째 산란을 하는 개체들이 나타나기 시작하였으며, 20 mg/g-feed와 40 mg/g-feed 실험구에서는 각각 87일과 107일째부터 산란하는 개체들이 나타나기 시작하였다.

성숙한 송사리에 대한 생식소 성숙 및 산란억제 효과

성숙한 암컷 송사리에게 HaBC가 첨가된 사료를 먹었을 때 생식소의 성숙억제 효과를 조사하기 위해 생식소가 발달하여 연속적으로 산란을 행하고 있는 평균 체중 0.44 g, 체장 3.62 cm되는 송사리를 대상으로 산란량과 GSI의 변화를 조사하였다. 한 실험구에 2개의 수조를 사용하였으며 하나의 사육수조

에 암컷 10마리, 수컷 5마리를 수용하여 90일간 사육하였다. 사육기간 동안의 일일 평균 산란량의 변화는 Fig. 4에 나타내었으며, 실험 종료 후 각 실험구의 GSI와 생식소에 대한 조직학적 상태는 Fig. 5와 6에 나타내었다.

Fig. 4에서 보는 바와 같이 사육 15일 동안 일일 평균 산란량은 모든 실험구에서 대조구와 유의한 차이를 보이지 않았으며, 사육실험을 시작하여 30일째부터 50일까지 기간 동안 일일 평균 산란량에서도 각 실험구 간 유의한 차이는 보이지 않았다. 그러나 사육기간이 60일에서 90일 동안의 일일 평균 산란량은 대조구와 10 mg/g-feed 실험구에서는 각각 10.55±1.30 개와 8.96±0.41 개로 유의한 차이는 나타나지 않았다. 그러나 20 mg/g-feed와 40 mg/g-feed 실험구에서는 각각 5.31±0.93 개, 1.84±0.47 개로 나타나 대조구에 비해 유의하게 ( $p<0.05$ ) 낮은 값을 보였으며, HaBC의 첨가량이 많을 수록 산란량이 감소하는 경향을 보였다.

한편 GSI의 변화에서는 Fig. 5에서 보는 바와 같이 암컷에서는 대조구와 10 mg/g-feed 실험구에서 GSI가 각각 10.21±0.70%와 8.736±0.35%로 나타나 유의한 차이는 없었으나, 20

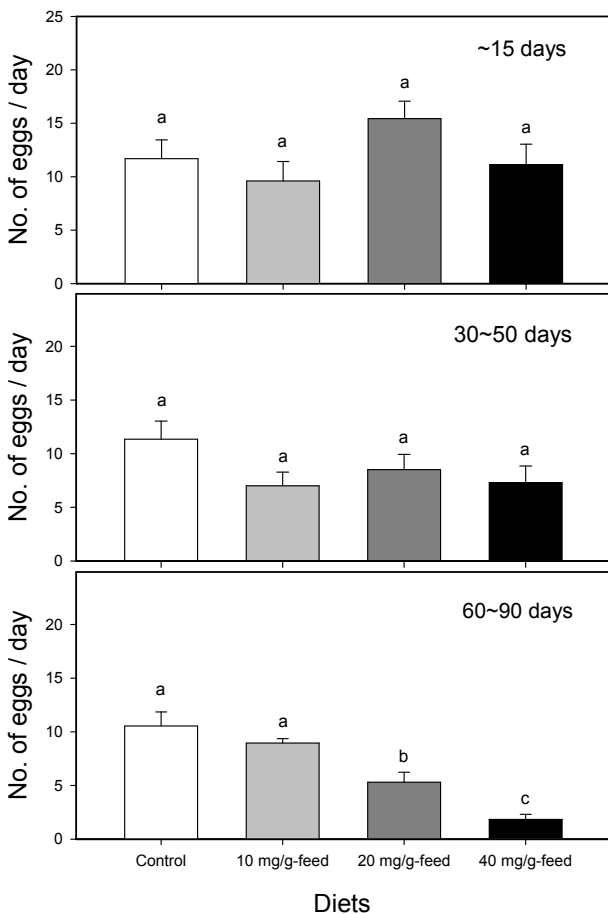


Fig. 4. The changes of the number of daily spawning eggs in adult female medaka (*O. latipes*) fed diets supplemented with HaBC 10 mg/g-feed, 20 mg/g-feed and 40 mg/g-feed for 90 days. Bars with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ). Values are expressed as means±SE.

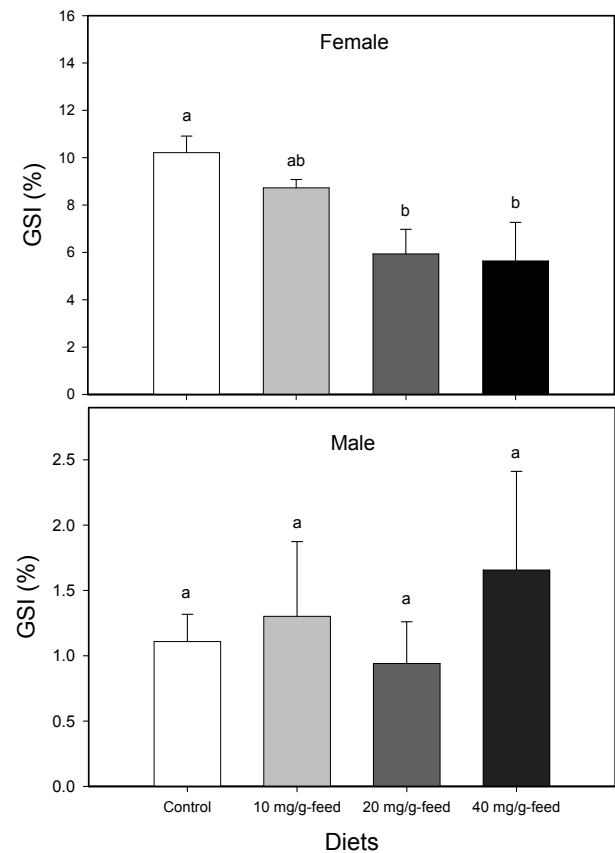


Fig. 5. The effects of diets supplemented with HaBC 10 mg/g-feed, 20 mg/g-feed and 40 mg/g-feed on GSI in adult female and male medaka (*O. latipes*) reared for 90 days. Bars with different letters are significantly different ( $p<0.05$ ). Values are expressed as means±SE.



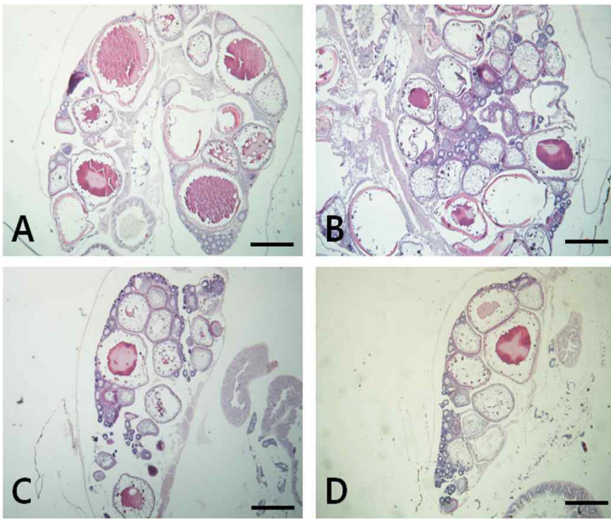


Fig. 6. The changes of histological phases of ovary in mature female medaka (*O. latipes*) fed diets supplemented with HaBC. A: control (0 mg/g-feed), B: 10 mg/g-feed, C: 20 mg/g-feed, D: 40 mg/g-feed. Scale bars represent 500  $\mu$ m.

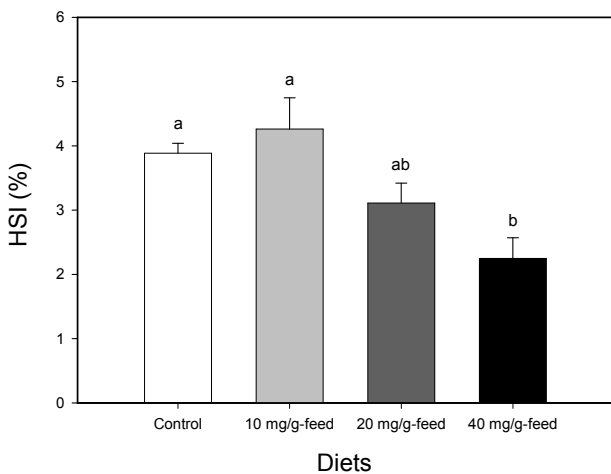


Fig. 7. The effects of diets supplemented with HaBC 10 mg/g-feed, 20 mg/g-feed and 40 mg/g-feed on HSI in adult female medaka (*O. latipes*) reared for 90 days. Bars with different letters are significantly different ( $p < 0.05$ ). Values are expressed as means  $\pm$  SE.

mg/g-feed와 40 mg/g-feed 실험구에서는 각각  $5.94 \pm 1.04\%$ 와  $5.64 \pm 1.63\%$ 로 나타나 대조구에 비해 유의한( $p < 0.05$ ) 감소를 보였다. 암컷에서는 HaBC의 첨가량이 많을수록 GSI가 감소하는 경향을 보였으나, 수컷에서는 실험구에 따른 GSI의 유의한 변화는 보이지 않았다.

Fig. 6에서 나타난 바와 같이 암컷 생식소의 조직학적 조사에서는 대조구와 10 mg/g-feed로 첨가한 실험구의 송사리 난소 내 난모세포들이 여러 단계의 발달 상태에 있었으며, 난모세포의 수도 많이 존재하고 있었다. 그러나 HaBC를 20

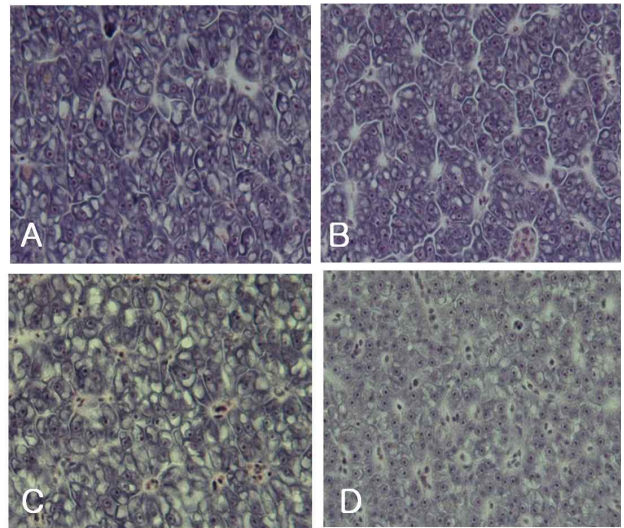


Fig. 8. Histological phases of liver in mature medaka (*O. latipes*) fed diets supplemented with HaBC. A: control (0 mg/g-feed), B: 10 mg/g-feed, C: 20 mg/g-feed, D: 40 mg/g-feed. Scale bars represent 50  $\mu$ m.

mg/g-feed와 40 mg/g-feed로 첨가한 사료를 먹인 실험구의 송사리 난소에는 여러 단계의 난모세포들이 존재하고 있기는 하지만 난모세포들의 수가 대조구와 10 mg/g-feed 실험구에 비해 비교적 적게 관찰되었다.

간에 대한 조사에서 Fig. 7에 나타난 바와 같이 HaBC의 첨가량이 많을수록 HSI가 감소하는 경향을 보였으며, 40 mg/g-feed의 실험구에서는 다른 실험구에 비해 유의하게( $p < 0.05$ ) 감소하였다. 또한 간 조직에서도 Fig. 8에서 보는 바와 같이 지방구의 축적이 HaBC의 첨가량이 많을수록 적은 것을 볼 수 있었다.

#### 성장과 생존에 미치는 영향

HaBC를 사료에 첨가하여 어류에 먹였을 때 생식소의 발달 억제와 더불어 성장에 대한 억제효과도 있는 것은 아닌지를 밝히기 위해 상기 미숙한 송사리에 대한 실험 표본으로부터 체장, 체중 및 비만도의 변화에 대해 조사하였다. 송사리에 대한 체성장과 비만도에 대해서는 Fig. 9에 나타내었다. 미숙한 암컷 송사리에 대해 127일간 HaBC를 10 mg/g-feed, 20 mg/g-feed 그리고 40 mg/g-feed로 사료에 첨가하여 주었을 때 각 실험구 간 체중이나 체장에 대한 최종적인 변화는 보이지 않았으나, 비만도에서는 20 mg/g-feed와 40 mg/g-feed 실험구에서 다른 실험구에 비해 유의하게( $p < 0.05$ ) 높은 값을 나타내었다.

HaBC를 첨가한 사료를 먹이면서 127일간 송사리를 사육하였을 때 생존율의 변화를 Fig. 10에 나타내었다. 송사리는 모든 실험구에서 95% 이상의 생존율을 보였으며, 실험구에 따른 생존율의 차이는 보이지 않았다.

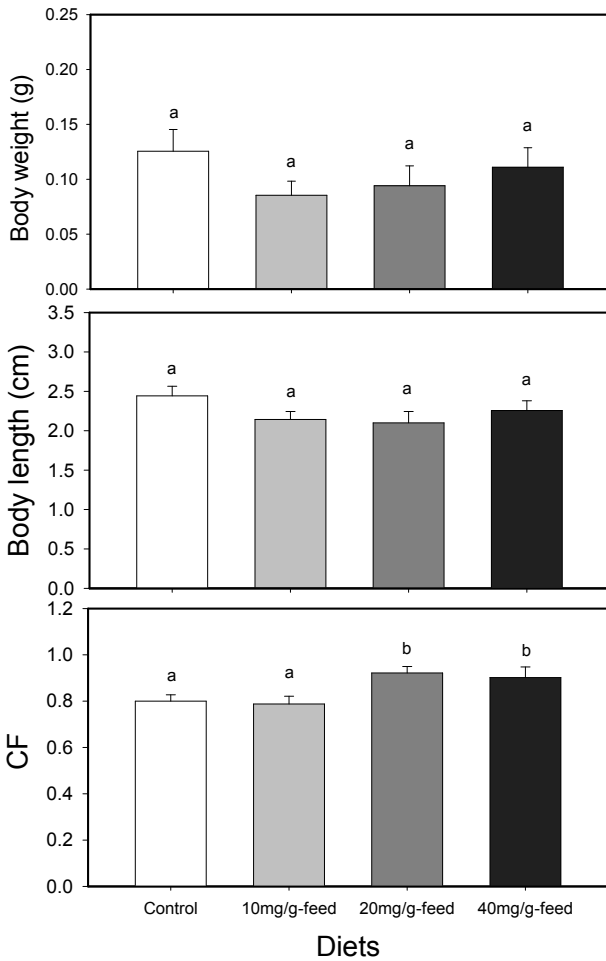


Fig. 9. The effects of diets supplemented with HaBC 10 mg/g-feed, 20 mg/g-feed and 40 mg/g-feed on body weight, body length and condition factor (CF) in immature medaka (*O. latipes*) for 127 days. Bars with different letters are significantly different ( $p < 0.01$ ). Values are expressed as means  $\pm$  SE.

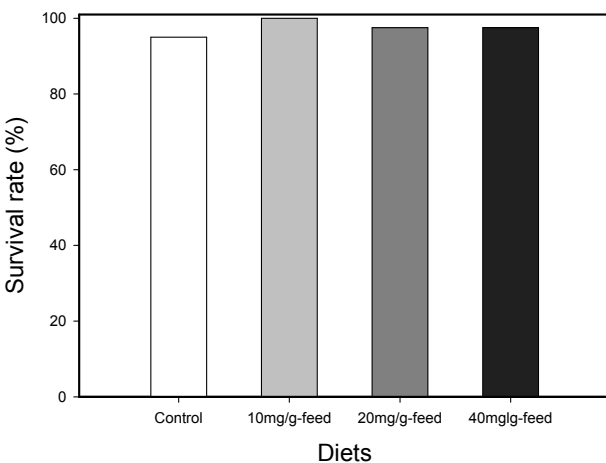


Fig. 10. The effects of diets supplemented with HaBC 10 mg/g-feed, 20 mg/g-feed and 40 mg/g-feed on survival rate in immature medaka (*O. latipes*) for 127 days.

## 고찰

본 연구에서는 자귀나무(*A. julibrissin*)의 껍질(합환피)로부터 추출 분리한 saponin 성분이 함유된 분획물이 어류의 난 성숙 및 산란을 억제시키는지를 구명하기 위하여 송사리(*O. latipes*)에 HaBC를 첨가한 사료를 먹여 생식소 성숙 및 산란에 미치는 영향에 대하여 조사하였다.

부화 후 3개월째 되는 평균 체장이 1.0 $\pm$ 0.3 cm인 어린 미숙한 송사리들에게 HaBC의 첨가농도를 달리한 사료를 먹이면서 난소 발달 상태와 산란이 시작되는 시점을 조사하였다. 사료 1 g에 20 mg 이상 첨가한 사료를 먹인 어린 송사리에서 생식소의 발달 속도가 대조구에 비해 지연되었으며, 산란 시기도 지연되는 결과를 얻었다. 그리고 성숙한 송사리에 대한 실험에서도 수컷에서는 GSI의 변화에 영향을 미치지 않았지만 암컷에서는 GSI를 저하시키는 효과를 보여 saponin 성분이 함유된 HaBC는 송사리의 생식소 발달을 저해하는 효능을 가지고 있음을 알 수 있었다. Saponin 성분이 어류의 생식소 발달에 영향을 미친다는 연구로는 나일 틸라피아(*Oreochromis niloticus*)에 *Quillaja* saponin을 사료에 첨가하여 먹였을 때 산란과 암수의 비율 등에 미치는 영향을 조사한 바가 있다[11, 12]. 이들 연구에서 *Quillaja* saponin을 사료에 300 mg/kg-feed로 첨가하여 먹였을 때 14주후에 산란이 억제되었으며, 수컷의 비율을 높게 나타낸다고 보고하고 있다. 이러한 연구들의 결과들로 보아 본 연구에서 HaBC가 송사리의 암컷 생식소의 발달을 억제하는 것은 HaBC에 함유되어 있는 saponin 때문인 것으로 생각 된다.

한편, 송사리의 수컷에서는 saponin이 16%를 함유하고 있는 HaBC가 생식소 발달에는 아무런 영향을 주지 않는 결과를 보여주었으나, 자귀나무와 동일한 속(Genus)에 속하는 *A. lebbek*의 saponin 분획물(saponin 함량, 8.29%)을 50 mg/kg-BW/day로 수컷 쥐에 경구 투여하였을 때 Leydig cells의 발달을 억제하고 정자의 밀도와 활성을 감소시키는 효과가 있다는 보고가 있다[15]. 그리고 saponin이 함유된 식물의 추출물이 쥐의 수컷의 정소의 무게를 감소시키는 효과가 있다는 보고들도 있다[5, 16, 17]. Saponin은 쥐와 같은 포유류에서는 수컷 생식소의 발달에 저해 작용하는 것으로 보이나 어류에서는 큰 영향을 미치지 않는 것으로 보인다.

틸라피아와 잉어에 *Quillaja* saponin을 첨가한 사료를 먹였을 때 유의한 높은 성장 효과를 보였다는 보고들[11, 12]이 있으나, 본 연구의 송사리에서는 HaBC를 20 mg/g-feed 이상 첨가한 사료를 먹였을 때 암컷에서 생식소 억제로 인한 성장 촉진 효과는 보이지 않았다. 그러나 자귀나무의 saponin 분획물을 먹였을 때 성장에 미치는 영향을 조사한 결과, 길이 성장이나 체중의 증가에는 영향이 없었으나, 20 mg/g-feed 이상 첨가한 사료를 먹인 실험구에서 암컷의 비만도가 증가하는 것으로 나타났다. 이는 암컷의 전체 체중에는 변화가 없으나

생식소의 무게가 감소함으로 인해 비만도가 증가한 것으로 보인다

넙치를 비롯해서 해산어류들은 일반적으로 암컷이 수컷보다 성장이 빠르고, 수컷은 상품크기에 이르기 전에 성적으로 성숙하는 경향이 있어서 암컷만을 양식하는 것이 양식 생산량을 향상시키고 일정한 상품크기를 생산하여 경제성을 높일 수 있기 때문에 암컷만을 양식하는 기술을 개발하고 있다[18, 28]. 넙치의 암컷은 2년생부터 성적으로 성숙하여 생식소가 발달하고 산란을 하게 되면 에너지의 고갈로 생존율이 급격하게 떨어져 산란하기 전까지 양식을 하고 있다. 따라서 암컷의 불임을 유도하면 생식활동에 사용되는 에너지를 성장에 이용되어 성장을 촉진시키고 생존율을 높일 수 있다는 제안을 많이 해왔다. 본 연구의 결과를 이용하여 생식소 성숙 시스템을 제어할 수 있다면 생식소 성숙을 억제하여 체력저하를 막아 암컷의 높은 생존율을 유지함으로써 어류양식의 경쟁력을 높이는 계기가 될 것으로 생각된다.

### 감사의 글

이 논문은 2011년도 동의대학교 블루바이오소재개발센터(RIC08-06-07)와 동의대학교 교내 학술연구지원(2011AA101)에 의해서 수행되어졌다.

### References

- Budiño, B., Cal, R. M., Piazzon, M. C. and Lamas, J. 2006. The activity of several component the innate immune system in diploid and triploid turbot. *Comp Biochem Physiol A* **145**, 108-113.
- Cal, R. M., Vidal, S., Gómez, C., Álvarez-Blázquez, B., Martínez, P. and Piferrer, F. 2006. Growth and gonadal development in diploid and triploid turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture* **251**, 99-108.
- Chen, S. P. and Zhang, R. Y. 1997. Studies on the triterpene saponin from *Albizia* cortex. *Acta Pharm Sinic* **32**, 144-147.
- Chen, S. P., Zhang, R. Y., Ma, L. B. and Tu, G. Z. 1997. Structure determination of three saponins from the stem bark of *Albizia julibrissin* Durazz. *Acta Pharm Sinic* **32**, 110-115.
- Choudhary, D. N., Singh, V. N., Verma, S. K. and Singh, B. P. 1990. Antifertility effects of leaf extracts of some plants in male rats. *Indian J Exp Biol* **28**, 714-716.
- Davis, K. B. and Ludwig, G. M. 2004. Hormonal effects on sex differentiation and growth in sunshine bass *Morone chrysops* × *Morone saxatilis*. *Aquaculture* **231**, 587-596.
- Delvin, R. H., Yesaki, T. Y., Blagl, C. A. and Donaldson, E. M. 1994. Extraordinary salmon growth. *Nature* **371**, 209-210.
- D'Souza, U. J. A. and Narayana, K. 2001. Induction of seminiferous tubular atrophy by single dose of 5-Fluorouracil (5-FU) in wistar rats. *Indian J Physiol Pharm* **45**, 87-94.
- Du, S. J., Gong, Z., Fletcher, G. L., Shears, M. A., King, M. J., Idler, D. R. and Hew, C. L. 1992. Growth enhancement in transgenic atlantic salmon by the use of an "all fish" chimeric growth hormone gene construct. *Bio-technol* **10**, 176-181.
- Felip, A., Zanuy, S., Carrillo, M. and Piferrer, F. 1999. Growth and gonadal development in triploid sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) during the first two years of age. *Aquaculture* **173**, 389-399.
- Francis, G., Levavi-Sivan, B., Avitan, A. and Becker, K. 2002. Effects of long term feeding of *Quillaja* saponins on sex ratio, muscle and serum cholesterol and LH levels in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* (L.)). *Comp Biochem Physiol C* **133**, 593-603.
- Francis, G., Makkar, H. P. and Becker, K. 2001. Effects of *Quillaja* saponins on growth, metabolism, egg production and muscle cholesterol in individually reared Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Comp Biochem Physiol C* **129**, 105-114.
- Francis, G., Makkar, H. P. S. and Becker, K. 2001. Effects of cyclic and regular feeding of a *Quillaja* saponin supplemented diet on growth and metabolism of common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Fish Physiol Biochem* **24**, 343-350.
- Gao, Z., Wang, W., Abbas, K., Zhou, X., Yang, Y., Diana, J. S., Wang, H., Wang, H., Li, Y. and Sun, Y. 2007. Haematological characterization of loach *Misgurnus anguillicaudatus* comparison among diploid, triploid and tetraploid specimens. *Comp Biochem Physiol A* **147**, 1001-1008.
- Gupta, R. S., Chaudhary, R. Yadav, R. K., Verma, S. K. and Dobhal, M. P. 2005. Effect of saponins of *Albizia lebbek* (L.) benth bark on the reproductive system of male albino rats. *J Ethnopharmacol* **96**, 31-36.
- Gupta, R. S., Kumar, P., Dixit, V. P. and Dobhal, M. P. 2000. Antifertility studies of the root extract of the *Barleria prionitis* Linn. in male albino rats with special reference to testicular cell population dynamics. *J Ethnopharmacol* **70**, 111-117.
- Gupta, R. S., Yadav, R. K., Dixit, V. P. and Dobhal, M. P. 2001. Antifertility studies of *Colebrookia oppositifolia* leaf extract in male rats with special reference to testicular cell population dynamics. *Fitoterapia* **72**, 236-245.
- Hendry, C. I., Martin-Robichaud, D. J. and Benfey, T. J. 2003. Hormonal sex reversal of atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture* **219**, 769-781.
- Jung, M. J., Chung, H. Y., Kang, S. S., Choi, J. H. and Bae K. S., 2003. Choi J.S. Antioxidant activity from the stem bark of *Albizia julibrissin*. *Arch Pharm Res* **26**, 458-462.
- Jung, J. W., Cho, J. H., Ahn, N. Y., Oh, H. R., Kim, S. Y., Jang, C. G. and Ryu, J. H. 2005. Effect of chronic *Albizia julibrissin* treatment on 5-hydroxytryptamine receptors in rat brain. *Pharmacol Biochem Behav* **81**, 205-210.
- Jung, M. J., Kang, S. S., Jung, Y. J. and Choi, J. S. 2004. Phenolic glycosides from the stem bark of *Albizia julibrissin*. *Chem Pharm Bull* **52**, 1501-1503.
- Kang, T. H., Jeong, S. T., Kim, N. Y., Higuchi, R. and Kim, Y. C. 2000. Sedative activity of two flavonol glycosides isolated from the flower of *Albizia julibrissin* Durazz. *J*

- Ethnopharmacol* **71**, 321-323.
23. Kim, W.-K, Jung, J. W., Ahn, N. Y., Oh, H. R., Kee, B. K., Oh, J. K., Cheong, J. H., Chun, H. S. and Ryu, J. H. 2004. Anxiolytic-like effects of extracts from *Albizzia julibrissin* bark in the elevated plus-maze in rats. *J Life Sci* **75**, 2787-2795.
  24. Kim, M., Lim, H., Ahn, S. J., Jeong, Y., Kim, C. G. and Lee, H. H. 2007. Enhanced expression of EGFP gene in CHSE-214 cells by an ARS element from mud loach (*Misgurnus Mizolepis*). *Plasmid* **58**, 228-239.
  25. Kinjo, J., Araki, K., Fukui, K., Higuchi, H., Ikeda, T., Nohara, T., Ida, Y., Takemoto, N., Miyakoshi, M. and Shoji, J. 1992. Six new triterpenoidal glycosides including two new saponinols from *Albizzia* Cortex. V. *Chem Pharm Bull* **40**, 3269-3273.
  26. Levavi-Sivan, B., Hedvat, R., Kaniyas, T., Francis, G., Becker, K. and Kerem, Z. 2005. Exposure of tilapia pituitary cells to saponins: Insight into their mechanism of action. *Comp Biochem Physiol C* **140**, 79-86.
  27. Maclean, N. and Talwar, S. 1984. Injection of cloned genes into rainbow trout eggs. *J Embryol Exp Morph* **82**: 187.
  28. Piferrer, F. 2001. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish. *Aquaculture* **197**, 229-281.
  29. Qin, J. G., Fast, A. W. and Ako, H. 1998. Growout performance of diploid and triploid chinese catfish *Clarias fuscus*. *Aquaculture* **166**, 247-258.
  30. Won, H. J., Han, C. H., Kim, Y. H., Kwon, H. J., Kim, B. W., Choi, J. S. and Kim, K. H. 2006. Induction of apoptosis in human acute leukemia Jurkat T cells by *Albizzia julibrissin* extract is mediated via mitochondria-dependent caspase-3 activation *J Ethnopharmacol* **106**, 383-389.
  31. Zang, X., Liu, B., Liu, S., Sun, P., Zhang, X. and Zhang, X. 2007. Transformation and expression of *Paralichthys diva-ceus* growth hormone cDNA in synechocystis Sp. PCC6803. *Aquaculture* **266**, 63-69.
  32. Zhu, Y. P. 1998. Chinese materia medica chemistry, pharmacology and applications. Netherlands: Harwood Academic Publishers; 519-520.

초록 : 자귀나무 추출물이 송사리(*Oryzias latipes*) 생식소 성숙에 대한 억제효과

이은희<sup>1</sup> · 오상필<sup>2</sup> · 김명희<sup>1</sup> · 김광현<sup>3</sup> · 홍상훈<sup>4</sup> · 한창희<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>동의대학교 분자생물학과, <sup>2</sup>제주특별자치도 수출진흥관실, <sup>3</sup>동의대학교 생명융용학과, <sup>4</sup>동의대학교 한의학과)

사료에 첨가된 saponin이 함유된 자귀나무(*Albizzia julibrissin*) 껍질 추출물이 송사리(*Oryzias latipes*)의 생식소 성숙과 산란에 미치는 영향을 조사하기 위하여 자귀나무(*A. julibrissin*) 껍질의 n-BuOH 추출물로부터 Diaion HP-20, Silica gel과 Sephadex LH-20 chromatography들을 이용하여 조 사포닌 분획물(HaBC)을 분리하였다. 실험 어류들은 순환여과 장치 시스템의 수조에서 사육하였으며, HaBC를 첨가한 사료를 급여하여 암컷의 생식소 성숙 억제 및 산란 억제 효과를 조사하였다. 미성숙 송사리들에 대한 실험에서 사료에 HaBC를 20 mg/g-feed 이상 첨가한 사료를 먹인 어류들은 생식소의 성숙과 산란을 개시하는 시기가 지연되었다. 또한 성숙한 암컷 송사리들도 HaBC를 20 mg/g-feed 이상 첨가한 사료를 먹었을 때 대조구에 비해 낮은 GSI 값을 보였다. 미성숙한 송사리에 대한 길이 성장이나 체중에 대한 변화는 HaBC의 첨가량에 관계가 없었으나, 비만도(CF)에서는 HaBC를 첨가한 사료를 먹인 어류들이 대조구에 비해 높은 값을 보였다. 이러한 결과로 자귀나무(*A. julibrissin*)의 껍질로부터 분리한 saponin 분획물은 송사리 암컷의 성숙을 억제할 수 있었지만, 성장 촉진에는 아무런 작용을 하지 않았다. 이들 작용 기전에 대해서는 더 많은 연구들이 있어야 할 것이다.