

성성숙 유도된 자연산과 자성화 뱀장어의 채란 전·후 난의 형태학적 관찰

이남실 · 김신권 · 이배익 · 김대중†
(국립수산과학원 전략연구단)

Morphological Observation of Pre- and Postovulated Eggs from Artificially Maturated Wild and Feminized Eels

Nam-Sil LEE · Shin-Kwon KIM · Bae-Ik LEE · Dae-Jung KIM†
(New Strategy Research Center, NFRDI)

Abstract

This study about morphological observation of pre- or post ovulated eggs obtained from artificially maturated female eels. Female eels were divided with two groups as wild eels from nature and feminized eels from farm. Artificial maturation had been conducted with the established methods in this laboratory, and then matured eggs sampled at fixed 3 times and these were observed with stereomicroscope. Rate of increased body weight (RIW) were measured with 2 times. Egg diameters and development of oil droplets are determined for standardization of egg maturation degree, and the transparency of egg cytoplasm and the homogeneous degrees of egg size were referred to determine of egg quality. Rate of increased body weight (RIW) were good in range about 10 % at final salmon pituitary extracts (SPE) injection time and in range about 20 % at 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one (DHP) injection time. Good matured egg for fertilization had 900-1000 μ m diameter, and they had about 50 oil droplets in size about 100 μ m diameter. There were not predominant differences at egg size and oil droplet development between wild female and feminized eels

Key words : Artificial production of eel, Feminized eel, Egg quality, Morphology, Wild female eel

I. 서론

1960년대 호르몬처리에 의해 극동산 뱀장어의 인공 성성숙 유도가 가능하게 되면서 인공 종묘 생산 연구가 활발히 진전되어 Yamamoto and Yamauchi (1974)가 세계 최초로 인공 부화자어를 생산하기에 이르렀다. 그러나 초기 자어의 먹이 생물을 찾지 못해 30여년 동안 인공 실뱀장어 생

산에는 실패를 거듭해 왔다. 2000년대 접어 들면서 일본 증양식연구소의 Tanaka et al. (2001, 2003)이 곱상어(*Squalus acanthias*)의 난황과 크릴의 추출물 그 외 몇 가지 첨가제를 넣어 만든 슬러리형태(slurry type)의 배합사료를 개발하여 초기 자어인 pre-leptocephalus의 생존율을 높여 실뱀장어까지 사육하는데 성공하였다.

이후 극동산 뱀장어의 보다 효과적인 인공 성

† Corresponding author : 051-720-2185, djkim4128@korea.kr

* 이 논문은 국립수산과학원 연구과제(RP-2014-AQ-125) 지원에 의해 수행되었음.

성숙 유도에 관한 연구가 활발하게 진행되어, 암컷 뱀장어에는 연어 뇌하수체 추출물 (SPE: salmon pituitary extraction)과 수컷에는 인간 태반성 성선 자극호르몬 (HCG: human chorionic gonadotropin)의 반복주사로 성성숙을 유도하고 암컷의 경우 DHP (17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one)를 추가적으로 주사함으로써 배란을 유도시켜 인공적으로 채란이 가능하게 되었으나(Kagawa et al. 1997), 아직 수정율과 부화율이 낮고, 부화자어의 기형율이 높아 양질의 수정란을 지속적으로 공급 가능한 체계에는 이르지 못하고 있다(Tanaka et al. 2001, Kim et al. 2007a).

국내의 경우, Kim et al. (2006a, b)이 자연산 뱀장어를 이용한 인위적인 성성숙 유도에 따른 혈중 성호르몬 변동에 대한 보고와 함께, 난 발달을 함께 관찰한 보고(Kim et al. 2007a), 인공 성성숙 된 친어로부터 생산된 난과 자어의 발달에 대한 연구보고(Kim et al. 2007b), Estradiol-17 β 경구 투여가 극동산 뱀장어의 자성화에 미치는 영향에 관한 보고(Kim et al. 2013)와 같은 극동산 뱀장어의 인공 성성숙 유도와 종묘생산에 관련한 연구가 계속하여 보고되어 왔다. 그러나 뱀장어 초기자어의 생존율이 낮아 대량 자어생산과 사육을 성공적으로 이끌 수가 없었다. 이러한 문제를 해결하기 위해서는 건강한 친어로부터 얻어진 양질의 난에서 부화된 건강한 자어를 대량으로 생산되어야 할 것이다.

본 연구에서는 외재성 호르몬 투여에 의한 극동산 뱀장어의 인위적인 성성숙 유도로 양질의 성숙난 생산과 안정적인 건강 자어를 지속적으로 생산하기 위한 기초연구로써 자성화 유도 양식산과 자연산 암컷에서 얻어진 배란 전후의 성숙난이 형태학적으로 차이가 있는지를 비교하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험어 및 인공 성성숙

실험에 사용한 뱀장어 친어는 2011년에 자성화 성호르몬인 estradiol-17 β 를 사료에 첨가하여 자성화 시킨 양식산 뱀장어(평균체중 424.0 \pm 103.9 g, 10마리)(Kim et al. 2013)와 2013년 가을 동진강에서 채집된 자연산 은뱀장어(Silver eel; 평균체중 401.1 \pm 160.7 g, 10마리)에 2013년 11월부터 연어 뇌하수체추출물(SPE: Salmon pituitary extracts)을 매주 반복 주사하는 방법으로 인공 성성숙을 유도한(Ohta et al. 1997, Kim et al. 2006a) 뱀장어를 사용하였다.

또한 같은 시기에 양식산 수컷 뱀장어(평균체중 320.20 \pm 56.78 g)는 인간 태반성 성선호르몬(HCG: Human chronic gonadotropin)을 반복 주사하여 인공 성성숙 유도시킨 수컷 뱀장어를 암컷의 산란유도용 혹은 채정에 사용하였다(Kim et al. 2006b, Kim et al. 2013). 채정된 정액은 인공 정장액(Ohta et al. 1997)에 희석하여 4 $^{\circ}$ C 냉장 보관하였다가 인공수정에 사용하였다. 상세한 성성숙과 유도산란 혹은 채란, 채정법은 Kim et al. (2007a, b)에 따랐다.

2. 증체중 측정과 유도산란

어체중은 SPE 1회째 주사 직전에 측정된 것을 초기 체중으로 하여 매주 SPE 주사 시 체중을 측정하여 증체중 비율[ratio of increased body weight; RIW={(측정시 체중-초기체중)/초기체중 x 100}]이 10% 증가한 개체를 선별하여 SPE를 마지막 회차로 주사한 후, 1일~2일후 증체중 비율이 20% 증가한 개체에 익일 최종 성숙 및 배란을 유도하기 위해 DHP를 주사하여 증체중 비율을 조사하였다(Ohta et al. 1996, Kim et al. 2007b). 이 때 정액 채취가 가능해진 수컷 2마리에 DHP를 주사한 암컷 한 마리의 비율로 산란수조에 수용후 수조 내 유도산란을 시도하였다, DHP 주사후 15시간째 아직 자발적으로 산란(유도산란)이 이루어지지 않은 개체 그리고 자연산란 후 복강 내 난이 남아있는 경우는 인공적으로

복부를 압박하여 채란하였다. 인공 채란된 성숙난은 인공 정장액으로 희석하여 냉장 보관중인 정자 (정자 활력도 : $\geq 80\%$)와 수정시켜 인공수정, 부화를 실시하였다(Ohta et al. 1996, Kim et al. 2007b)

3. 성숙난 관찰

성숙난의 관찰은 수정 전, 총 3회에 걸쳐 실시하였다. 즉 1회째는 마지막 SPE 복강주사 때, 2회째는 DHP 주사 전, 3회째는 인공 채란때 성숙난을 채취하여 관찰하였다. 1, 2회째는 카뉴레이션(테프론 튜브 내경 2 mm)법으로 생식공을 통하여 성숙난을 소량 채취하였고, 3회째는 채란과 동시에 일부 채취하여 직경 35mm의 일회용 샘플디쉬에서 Eel Ringer's solution에 현탁시켜 실체현미경(Stereo Discovery. V20, ZEISS, Germany)으로 관찰하고 사진촬영(ZEN)하였다. 성숙유도하여 얻은 난의 난질을 평가를 위해 난경과 유구의 크기를 측정하였다. 유도 산란한 개체는 산란 후 복강 내 남은 난을 채취하여 관찰하였고, 인공 채란한 개체는 채란 후 수정시키기 전에 관찰하였다. 유도산란 후 복강 내 난이 남아있지 않은

경우 혹은 인공채란 후 부상난이 없어 관찰하지 못한 경우는 NC (not counted)로 나타내었다.

4. 측정 결과 정리

어체중과 난 크기, 유구 크기, 유구개수에 대한 결과는 자연산과 자성화 암컷으로 나누어 각 10개 시료에 대한 평균(Mean) \pm 표준편차(SD)의 형태로 정리하여 표로 정리하였다. 부상율, 수정율, 부화율의 경우 Unuma et al. (2004)의 방법에 따라 관찰하여 결과에 참고하였다

Ⅲ. 결 과

자연산 암컷과 자성화 유도 양식산의 성숙이 진행되는 과정에 따라 유도 산란(수조내에서 호르몬 처리 암수의 교미에 의한 자발적인 산란; spontaneous ovulation) 및 인공채란(복부 압박을 통한 인공 산란; artificial ovulation)된 개체의 초기체중을 포함한 개체정보와 채란상황 그리고 최종적으로 SPE를 주사한 횟수를 <Table 1>에 정리하였다.

<Table1> Individual informations of checked female eels in the present study

Wild female eels					Feminized culture eels				
No.	chip No.	Initial BW(g)	Ovulation type(*)	Total times of SPE inj.	No.	chip No.	Initial BW(g)	Ovulation type(*)	Total times of SPE inj.
1	1008	275	SO	9	1	3531	357	AO	10
2	1064	492	AO	9	2	3365	310	AO	11
3	1052	291	AO	9	3	3519	415	AO	10
4	1069	322	SO	9	4	3601	455	AO	11
5	1039	251	SO	10	5	3551	340	SO	11
6	1028	264	SO	10	6	3516	669	AO	10
7	1023	704	AO	9	7	3609	453	AO	10
8	1012	303	SO	9	8	3373	378	SO	11
9	1019	548	SO	10	9	3541	370	AO	11
10	1086	561	AO	11	10	5445	499	AO	8
Average		401.1 \pm 160.7	-	9.5 \pm 0.7	Average		424.0 \pm 103.9	-	10.3 \pm 1.0

BW: body weight, inj.: injection. * SO: spontaneous ovulation, AO: artificial ovulation

SPE 주사를 개시한 시기의 평균체중은 자연산 이 양식산에 비해 중량이 적었으나 편차의 폭이 컸다. 자연산 암컷의 경우 유도 산란한 개체 수가 많았고, 자성화 유도 양식산의 경우 인공 채란한 개체가 유도 산란한 개체 보다 수가 많았다. 한편 최종 성숙 및 배란이 가능해지기까지 SPE 주사 횟수는 자연산 암컷은 9.5±0.7 회, 자성화 양식산은 10.3 ±0.95 회로 자연산 암컷이 자성화 양식산 보다 SPE 주사 횟수가 적었다.

자연산 암컷과 자성화 양식산의 체중 증가 비율 및 인공채란 시 성숙난 상태가 양호한 경우와 불량한 경우, 그리고 성숙정도에 따라 과숙, 성숙 그리고 미숙의 세 가지 상태로 나누어 <Table 2>에 나타내었다.

일반적으로 난의 성숙 정도가 양호한 암컷의 경우는 최종 SPE 주사 시 증체중 비율이 약 10 % 로 증가하며 DHP 주사 시에는 약 20 % 로

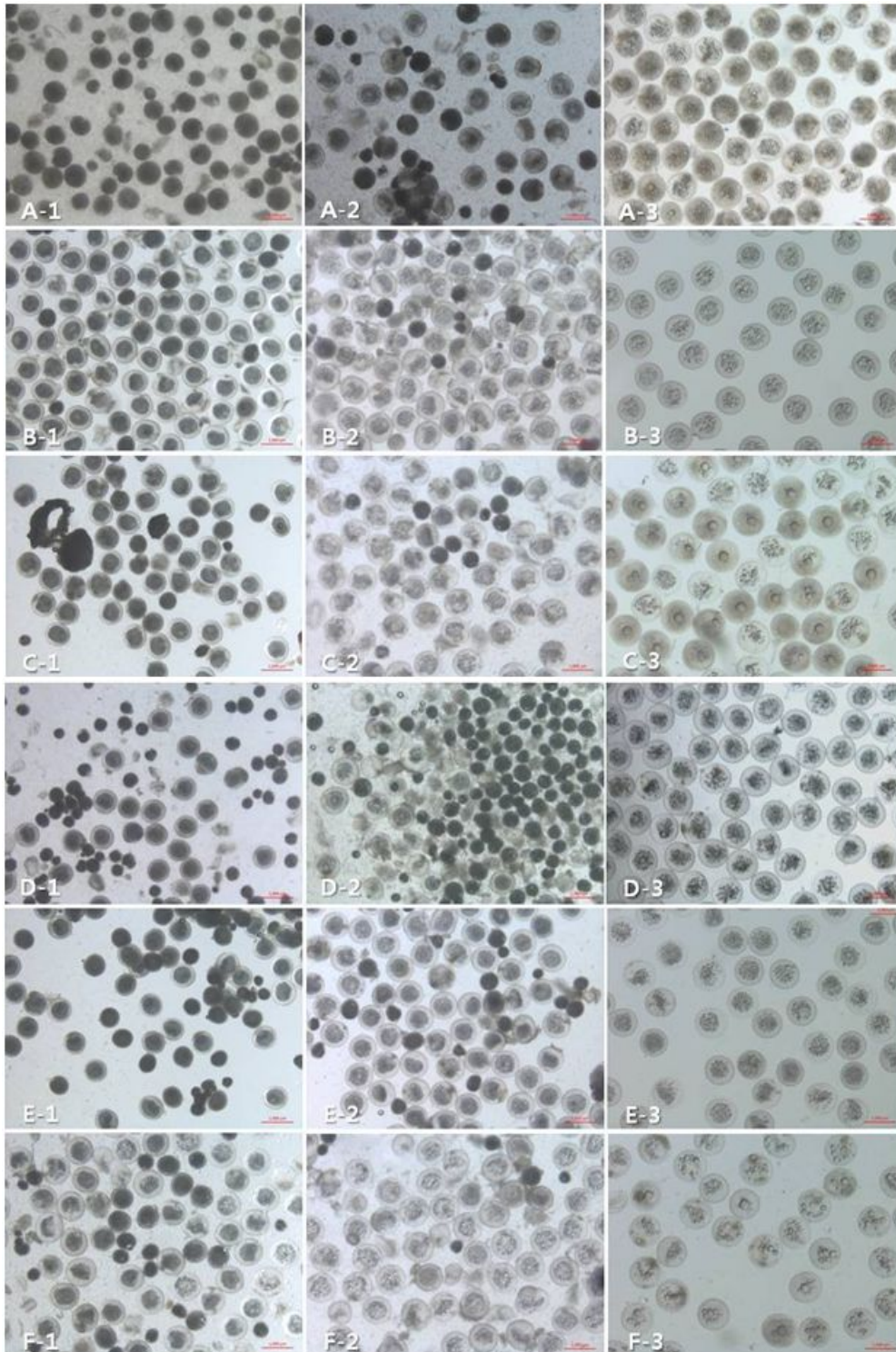
증가하였다. 이러한 경향은 자연산 암컷과 자성화 양식산에서 유사하였다. 그러나 간혹 Table 2 와 3에서 알 수 있듯이 자연산 6번 개체처럼 증체중 비율은 이상적이고, 난의 성숙도도 좋았으나 채란된 난의 크기에 편차가 큰 경우도 있었다. 개체 별로 각 성숙 단계의 난경을 <Table 3>에 정리하였다. 채란 시 난 상태가 양호한 경우의 난경은 900-1000 μm 정도였다.

채란 시 난의 상태는 최종적으로 미숙한 경우와 적절히 성숙한 경우 그리고 과숙한 경우의 세 가지로 나누어 구분하였으며, 최종 SPE 주사 시와 DHP 주사 시 그리고 채란 직후 난의 모습을 자연산 암컷과 자성화 양식산으로 나누어 대표적인 경우를 [Fig. 1]에 나타내었다. A와 D는 채란 시 난상태가 불량한 경우이며, B와 E는 채란 시 난상태가 양호한 경우, C와 F는 채란 시 난이 과숙된 경우이다. A-1~3, B-1~3, C-1~3는 자연산 어

<Table 2> Rates of increased body weight of matured eels and egg states of ovulated eggs

Wild female eels					Feminized culture eels				
No.	Initial BW(g)	1 st time RIW(%)	2 nd time RIW(%)	3 rd time egg state *	No.	Initial BW(g)	1 st time RIW(%)	2 nd time RIW(%)	3 rd time egg state *
1	275	16.6	26.7	G/M	1	357	5.3	16.5	NG/OM
2	492	9.7	23	G/M	2	310	16.7	19.6	G/OM
3	291	34	49	G/OM	3	415	7.7	16	NG/M
4	322	23	37.6	NC	4	455	16.7	28.1	G/OM
5	251	3.6	10.8	G/IM	5	340	6.7	20.8	G/M
6	264	16.2	23.4	NG/M	6	669	6.5	16	G/M
7	704	8.7	23	G/OM	7	453	7.2	17.6	G/M
8	303	20.2	26.2	G/M	8	378	15.6	25.6	G/M
9	548	10.2	19.9	NG/M	9	370	19.1	27.8	NG/OM
10	561	3.3	5.9	NG/IM	10	499	13.8	26.6	G/M

1st time: final SPE injection time, 2nd time: DHP injection time, 3rd time: ovulation time, BW (g): Body weight, RIW (%): Rates of increased body weight={(Injection time BW-Initial BW)/Initial BW}×100. *: G (good); transparent cytoplasm with easy observation of oil droplets, NG (not good); opaque cytoplasm with substances, OM (overmature); over size of egg has 1-3 oil droplets, M (mature); usual size of egg has 40-60 regular oil droplets, IM (immature); small size of egg has many blackish cells.



[Fig. 1] Photographs of sampled eggs at fixed three times from wild female eels (A-C) and feminized eels (D-F). (Bar=1mm)

<Table 3> Egg sizes variation in the artificially matured eels

Wild female eels				Feminized culture eels			
No.	1 st time DE(μm)	2 nd time DE(μm)	3 rd time DE(μm)	No.	1 st time DE(μm)	2 nd time DE(μm)	3 rd time DE(μm)
1	754.8±120.8	798.2±101.2	970±61.2	1	727.2±36.4	848.7±61.9	994.3±106.4
2	716.2±88.5	844.5±123.1	966.8±44.8	2	862.8±73.7	912.6±44.0	1020±40.7
3	797.1±107.4	866.7±88.1	1085.8±105.0	3	746.4±32.3	734.7±129.3	943.9±31.2
4	825±11.1	917.4±59.5	NC	4	783.9±89.3	840.5±116.2	1026.3±46.5
5	688.±87.9	742.2±101.2	899.8±23.8	5	763.1±93.9	861.9±70.5	938.6±28.3
6	726.9±44.3	779.9±89.6	884.0±123.3	6	701.6±22.5	798.8±95.2	935.4±86.1
7	702.8±78.6	855.9±106.4	1050.9±37.4	7	733.5±29.8	775.3±134.3	961±40.0
8	773.5±55.1	869±92.3	908.1±37.6	8	692.3±58.4	814.2±113.9	974.9±60.9
9	688.3±62.1	745.8±80.0	963.3±34.1	9	879.7±196.2	918.0±144.2	NC
10	669.3±63.7	NC	NC	10	763.6±103.9	871.0±104.5	997.3±27.7

1st time: final SPE injection time, 2nd time: DHP injection time, 3rd time: ovulation time, DE (μm): diameter of egg, NC: not counted, Mean±SD, n=10

미로부터 나온 난의 샘플링 1, 2, 3회째의 사진이며, D-1~3, E-1~3, F-1~3 는 자성화 어미로부터 나온 난의 샘플링 1, 2, 3회째의 사진이다(Fig.

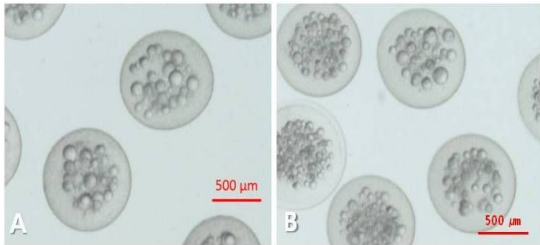
1]). 또한 인공 채란 시 채취한 성숙난의 유구 크기와 형태를 자연산 암컷과 자성화 양식산을 비교하여 관찰한 결과 <Table 4>에 나타내었다.

<Table 4> Oil droplet number and oil droplet diameter in one egg of randomly selected 10 ovulated eggs

Wild female eels			Feminized culture eels		
No.	Number of oil droplets in one egg*	Diameter of oil droplet (μm)	No.	Number of oil droplets in one egg*	Diameter of oil droplet (μm)
1	35.8±4.9	93.6±41.6	1	26.8±18.2	185.2±105.4
2	43.9±20.2	120.9±92.0	2	17.6±4.4	152.7±58.0
3	12.0±9.0	249.2±108.5	3	42.9±8.3	83.0±31.3
4	NC	NC	4	35.7±10.2	92.4±29.1
5	28.0±19.1	122.5±51.4	5	44.0±7.8	91.9±23.9
6	19.5±6.3	144.0±57.5	6	24.7±12.7	127.6±63.5
7	14.1±10.4	220.5±99.7	7	48.7±9.1	85.4±14.9
8	28.6±6.4	125.3±35.6	8	43.1±12.5	96.6±32.4
9	30.6±10.8	123.9±59.7	9	NC	NC
10	NC	NC	10	35.3±12.5	97.6±44.8
Avg.	30.0±10.9	135.3±29.7	Avg.	35.4±10.6	103.6±25.8

NC: not counted, Avg: average of all individuals, *: in view of one aspect with stereomicroscope, Mean±SD, n=10

자연산 암컷에서 채취한 성숙난의 유구는 $135.3 \pm 29.7 \mu\text{m}$, 자성화 양식산성숙난의 유구는 $103.6 \pm 25.8 \mu\text{m}$ 으로 유구 크기가 자연산 암컷이 큰 경향을 나타내었으며, 자성화 암컷은 직경 $100 \mu\text{m}$ 이하의 작은 유구도 다수 분포하였고 성숙난 내의 유구 수도 많았다([Fig. 2]). 과숙한 성숙난의 난경은 $1000 \mu\text{m}$ 이상으로 유구의 형태는 직경 $200 \mu\text{m}$ 이상의 큰 유구가 1~3개 정도 존재하고 큰 유구 주위로 직경 $50 \mu\text{m}$ 이하의 작은 유구들이 둘러싸고 있는 형태였다. 한편 정상적인 성숙난의 난경은 $900 \sim 1000 \mu\text{m}$ 정도로 난내 세포질과 유구가 투명하고 $100 \mu\text{m}$ 전후의 유구 약 50개가 난 중심 부위에 고루 분포한 형태였다.



[Fig. 2] A: Eggs from artificially matured wild female, B: Eggs from artificially matured feminized eel. Bar=500 μm .

채란 후, 보관된 정액과 수정시켜 해수에서 부상한 난, 수정이 성공된 난, 그리고 수정 후 발생이 진행되어 부화된 난의 비율을 <Table 5>에 정리하였다. 자연산 암컷, 자성화 암컷 모두 두 마리에서 나온 난이 최종적으로 부화하였으나 부화율은 자연산 암컷이 높은 경향을 보였다.

IV. 고찰

Pedersen (2003)는 뱀장어 성숙난의 최종 발달 단계를 크게 4 단계로 나누었다. 1) 난의 크기가 작고 불투명하게 관찰되는 단계, 2) 난의 크기가 커지고 세포질이 반투명해지며 작은 유구가 생성되기 시작하는 단계, 3) 2의 단계에서 유구의 크기가 커지고 개수가 줄어드는 단계, 그리고 4) 핵이 치우치고 세포질과 유구가 투명해지는 단계이다. 본 실험 결과, 극동산 뱀장어의 난소 내 난은 Pedersen에 따르면 2~3단계일 때, Tachiki와 Nakagawa (1992)의 보고와 비교하여서는 난의 크기가 $700 \sim 800 \mu\text{m}$ 일 때로 보이며, 중체중 비율이 10% 이상인 세포질이 투명해지고 난핵(Germinal vesicle)이 이동하는 시기로써 마지막 SPE를 주사하는 것이 좋은 시기로 나타났다.

<Table 5> Floating rates, fertilization rates and hatching rates at eggs of experimental eels

Wild female eels				Feminized culture eels			
No.	Floating rates (%) [*]	Fertilization rates (%) ^{**}	Hatching rates (%) ^{***}	No.	Floating rates (%) [*]	Fertilization rates (%) ^{**}	Hatching rates (%) ^{***}
1	66.7	23.2	0	1	32.3	11.8	0
2	-	-	-	2	-	-	-
3	-	-	-	3	72.4	52.5	0
4	59.7	18.8	0	4	71.5	48.2	0
5	60.8	58.7	54.1	5	-	-	-
6	-	-	-	6	94.0	76.5	0.01
7	86.5	63.2	16.8	7	50.0	26.8	0
8	-	-	-	8	87.7	44.3	0.09
9	88.3	56.7	0	9	-	-	-
10	-	-	-	10	89.5	42.7	0

*:(flated egg number/total egg number) $\times 100$, **: (fertilized egg number/total egg number) $\times 100$, ***:(hatched egg number/total egg number) $\times 100$, -: not float

DHP주사 시점은 20%의 범위에서 증체중 비율을 나타내며 Pedersen의 3-4단계의 난에 해당되는 것을 알 수 있었다. 증체중이 20%를 넘게 되면 세포질은 점점 투명해지고 작은 유구의 응집체가 난 중심에 거품과 같은 형태로 나타나다가 유구가 합체되면서 유구의 개수는 줄고 유구 날개의 크기는 커지는 형태가 된다. 이 때 난경은 800~900 μm 에 이른다. 유구의 발달이 더욱 진행되어 유구의 크기가 커지고 현미경의 대안렌즈상에서 개수가 50개 내외로 관찰되고 난경이 850 μm 이상의 난이 과반수가 넘는 시점에 Kagawa et al. (1995)이 지적한 것과 같이 DHP를 주사하는 것이 좋을 것으로 생각되었다.

Kagawa et al. (1997)은 DHP 주사 15시간 후 채란된 경우가 수정율과 부화율이 좋은 것으로 보고하고 있어, 이를 참고하여 본 연구에서는 실험어에 인공 성성숙을 유도하여 산란전 DHP를 주사하고 15시간 후에 일괄적으로 유도산란한 개체의 난과 인공채란 된 개체의 난에 대한 형태적인 특징을 관찰하고 비교하였다. 최종 채란시 난 관찰결과(<Table 2>), 난의 성숙도와 양호상태에서는 자연산 암컷과 자성화 친어의 난 사이에 유의적인 차이가 없었고, 친어의 종류와 관계없이 일반적으로 크기 100 μm 전후의 투명한 유구들이 약 50개로 난경 900-1000 μm 크기 난 중심에 고루 분산되어 나타나는 것이 양호한 난의 상태로 판단되었다(<Table 3>). 수정 후 부상율, 수정율 또는 부화율이 난상태의 좋고 나쁨 정도와 직접적으로 관련이 있다는 것이 본 연구에서는 확인되지 않았지만(<Table 5>), 지금까지의 연관된 연구결과로 볼 때 이러한 난이 수정 상태도 좋고 이후 좋은 부상율과도 연결되는 것으로 관련연구로 알 수 있었다. 한편, 유도 산란 조건에서 수정, 부화된 자어의 비율이 인공수정에 의한 것 보다 생존율이 높아, 유도 산란의 비율이 높은 자연산 암컷의 난이 질적으로 좋을 수 있다고 생각할 수도 있으나(<Table 5>), 인공 수정의 경우 인공채란을 통하여 얻어진 성숙난은 인공 채

정에 의해 얻어진 정액을 인공 정장액으로 희석하여 냉장 보관한 정액을 이용하여 인공수정 시키기 때문에 채란 시 난의 상태가 좋다 하더라도 정액의 활성상태, 보관상태, 수정 시 핸들링에 따라 차이가 나며 부화조의 상황에 따라서도 차이가 발생하므로 채란이후 부상율, 수정율, 부화율 등을 자연산 암컷과 자성화 양식산을 나누어 비교하기는 여러 가지 요인들이 많이 작용하는 것으로 판단되었다. Yoshikawa (2012)의 연구에 따르면 친어 성숙시 온도조절 만으로도 *A. japonica*의 부화율을 향상시키는데 영향을 미친다는 것을 확인하였다. 따라서 부상율, 수정율, 부화율 등을 자연산 암컷과 자성화 양식산 친어를 나누어 비교하는 부분에 대해서는 세부적인 조건에 따른 조사가 따로 필요할 것으로 생각된다. 기 보고된 내용을 참고하면(Ohta et al. 1997) SPE를 평균 11.3±0.3 회 정도의 반복주사로 유구발달 단계에서 핵이동 단계(DHP를 주사할 수 있는 단계)에 이르게 된다고 하였다. 본 실험에 사용된 암컷의 평균체중은 Ohta et al.(1997)의 실험에서 사용된 암컷보다 가벼웠지만 SPE 주사 회수에서는 유사한 결과를 도출 하였으며, 자연산 암컷의 경우 DHP 주사를 놓을 수 있는 단계에 이르기까지 SPE의 반복주사 횟수가 평균적으로 1회 정도 빨랐다. 유구 발달의 경우, 자성화 암컷이 조금 뒤쳐지는 경향을 보였으나 난경에서는 큰 차이 없이 자연산과 동일한 정도였다(<Table 3, Table 4>). 앞에서 언급한 것과 같이 자연산 암컷에서 유도 산란된 경우가 많았고 SPE의 주사 횟수도 자성화 양식산 보다 평균 1회가 적었다. 자연산 암컷에서 난성숙이 빨리 이루어진 이유로는 자연산의 성성숙과 산란유도에서 양식산 보다는 인위적으로 주사된 성성숙 호르몬의 작용이 생리적으로 원활하게 이루어진 결과로 판단된다. Morone 일종의 성성숙 관련 연구에서도 성성숙과 관련된 LH (luteinizing hormone) 혹은 GnRH (Gonadotropin-releasing hormone)의 혈중농도 변화가 자연산 암컷과 자성화 암컷의 비교에서 차이를 나타냄을

확인하였다(Constantinos and Yonathan 2001).

건강한 부화자어의 생산을 위해서 난성숙 단계에 맞추어 친어를 성숙, 산란시키고 난을 수정시키는 적절한 기술도 중요하지만, 친어관리에 더욱 많은 관심을 기울여야 할 것이다. 특히, 양식산 친어의 영양적 향상이 양질의 종묘 생산을 위한 난질과 정자질 향상과 직결된다는 것은 다양한 어종에서 친어에 대한 영양 관리에 관한 연구를 통해 이미 설명하고 있다. 사료의 영양구성에 따른 난질이나 자어에 대한 질적 영향(Cerdá et al. 1994), Vit.C의 정자질에 대한 영향(Ciereszco and Dabrowski 1995), 사료내 HUFA (high unsaturated fatty acid)농도에 따른 난 생산(Fernández-Palacios et al. 1995), 이 외에도 EPA (eicosapentaenoic), ARA (arachidonic acid) 등과 같은 사료 내 영양첨가와 어류의 재생산을 위한 친어의 영양관리와 관련한 연구가 이루어지고 있다 (Izquierdo et al. 2001). 유럽산 뱀장어의 경우, 난질과 자어의 건강을 향상시키기 위해 친어 사육 시 사료에 EPA, ARA, DHA (docosahexaenoic acid)와 같이 첨가하여 공급하거나, 사료의 지방산 구성에 변화를 주어 공급하는 등의 사료연구를 하고 있다(Tomkiewicz et al. 2013, Støttrup et al. 2013).

양식산 친어의 활용을 안정적으로 순환시키기 위해서는 친어의 건강도나 난질을 높이기 위한 사료 첨가제를 사용하는 방법이 강구되어야 하며, 사육시스템에서 안정적인 사육을 위해 노력 가능한 방법을 찾아보고 활용함으로써 양질의 난과 정자를 생산하여야 할 것이다. 이와 함께 이후 단계인 인공수정과 부화 과정에서 영향을 미칠 수 있는 요인을 잘 파악하여 개선한다면 인공종묘 생산과정에서 수정율과 부화율을 높여 나갈 수 있을 것이다. 이로써 자성화 양식산 친어의 인공 성성숙 유도를 통한 양질의 부화자어 생산이 가능해 질 것이며, 원활하고 성공적인 뱀장어 인공종묘생산으로 연결되리라 기대한다.

References

- Cerdá, Joan et al.(1994) Influence of nutritional composition of diet on sea bass, *Dicentrarchus labrax* L., reproductive performance and egg and larval quality, *Aquaculture* 128, 345~361.
- Ciereszco, Andrzej & Dabrowski, Konrad(1995) Sperm quality and ascorbic acid concentration in rainbow trout semen are affected by dietary vitamin C: an across season study, *Biology of Reproduction*. 52, 982~988.
- Constantinois C Mylonas & Yonathan Zohar (2001) Endocrine regulation and artificial induction of oocyte maturation and spermiation in basses of the genus *Morone*, *Aquaculture* 202, 205~220.
- Fernández-Palacios et al. (1995) Effect of n-3 HUFA level in broodstock diets on egg quality of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) *Aquaculture* 132, 325~337.
- Izquierdo M.S. · Fernandez-Palacio H. & Tacon A.G.J. (2001). Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish, *Aquaculture* 197, 25~42.
- Kagawa, Hirohiko et al. (1995). In vitro Effects of 17 α -hydroxyprogesterone and 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one on final maturation of oocytes at various developmental stages in artificially matured Japanese eel *Anguilla japonica*, *Fisheries Science* 61, 1012~1015.
- Kagawa, Hirohiko et al. (1997) Induced ovulation by injection of 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the artificially matured Japanese eel, with special reference to ovulation time, *Fisheries Science* 63, 365~367.
- Kim, Dae-Jung et al. (2006a). Plasma sex steroid hormone profiles in artificially maturing wild eel, *Anguilla japonica*, *Journal of Aquaculture* 19, 267~274.
- Kim, Eung-Oh et al. (2006b) Plasma sex steroid hormone profiles and testicular development in artificially maturing cultured male eel, *Anguilla japonica*, *Journal of Korean Fisheries Society* 39, 466~471.
- Kim, Dae-Jung · Bae, Jun Young & Kim, Eung-Oh (2007a) Changes in sex steroid hormones and

- ovarian development during artificial maturation of female eel, *Anguilla japonica*, Integrative Biosciences 11, 117~124.
- Kim, Dae-Jung et al. (2007b) Development of the eggs and pre-leptocephalus larvae by natural spawning of artificially-matured Japanese eel, *Anguilla japonica*, Journal of Aquaculture 20, 160~167.
- Kim, Dae-Jung et al. (2013) Effect of Estradiol-17 β on the feminization of Japanese Eel, *Anguilla japonica*, Journal of Life Science 23, 998~1003.
- Ohta, Hiromi et al. (1996) Changes in fertilization and hatching rates with time after ovulation induced by 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the Japanese eel, *Anguilla japonica*, Aquaculture 139, 291~301.
- Ohta, Hiromi et al. (1997) Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica*, Fish Physiology and Biochemistry 17, 163~169.
- Pedersen Benedikte Hedegaard (2003) Induced sexual maturation of the European eel *Anguilla anguilla* and fertilisation of the eggs, Aquaculture 224, 323~338.
- Støttrup, Josianne et al. (2013) Modification of essential fatty acid composition in broodstock of cultured European eel *Anguilla anguilla* L. Aquaculture Nutrition, Aquaculture 19, 172~185.
- Tanaka, Hideki · Kagawa, Hirohiko & Ohta, Hiromi (2001) Production of leptocephali of Japanese eel, *Anguilla japonica* in captivity, Aquaculture 201, 51~60.
- Tanaka, Hideki et al. (2003) The first production of glass eel in captivity: fish reproductive physiology facilitates great progress in aquaculture, Fish Physiology and Biochemistry 28, 493~497.
- Tachiki, Hiroyuki & Nakagawa, Takeyoshi (1992) Induction of spawning in female cultured eel *Anguilla japonica*, Bulletin Aichi Fisheries Research Institute. 1, 79~83.
- Tomkiewicz, Jonna et al (2013) Reproduction of European eel and larval culture, Aquaculture europe 13, RoomR8.
- Unuma, Tatuya et al. (2004) Determination of the rates of fertilization, hatching and larval survival in the Japanese eel, *Anguilla japonica*, using tissue culture microplates. Aquaculture, 241, 345~356
- Yamamoto, Kiichiro & Yamauchi, Kohei (1974) Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium, Nature, 251, 220~222
- Yoshikawa, Masayuki (2012) Improvement in hatching rates in the Japanese eel *Anguilla japonica* by the control of rearing temperatures in the late stage of maturation in the female parents, Aquaculture, 338-341, 223~227
-
- 논문접수일 : 2014년 09월 17일
 - 심사완료일 : 1차 - 2014년 11월 11일
2차 - 2014년 12월 16일
 - 게재확정일 : 2014년 12월 16일