

# 논을 이용한 한국산 메기의 대량생산 체계시 필요한 세포유전학적 연구

권혁추 · 김해곤 · 박홍양  
(건국대학교 동물자원연구센터)

## INEUCED SPWANING IN THE KOREAN CATFISH. *Silurus asotus*. BY LHRH-ANALOGUE

Kwon, Hyuk-Chu · Kim, Hye-Kon · Park, Hong-Yang  
Animal Resources Research Center, Kon-Kuk University

### Abstract

The catfish, *Silurus asotus*, is a commercially important freshwater teleost in Korea. Because of a reduction in the natural resorces of this fish in recent years, the establishment of techniques for artificial seed production is required. An important step towards that objective is the development of effective methods for inducing spawning in *S. asotus*.

Experiments were carried out to investigate the effect of LHRH-a on the induction of ovulation in *S. asotus*. Fully matured female catfish (250~600g) received a single intraperitoneal injection of LH RH-a was successful for the induction of ovulation in *S. asotus*. More than 86% of treated females ovulated after injection of LHRH-a (90 $\mu$ g/kg · boby weight) at 25 $\pm$ 1 $^{\circ}$ C. The majority of the spawning took Place within 22 to 25h of injection. The gonadosomatic index (GSI) and pseudo- GSI in the group treated with 120 $\mu$ g/kg LHRH-a were 23-30% and 18-21%, respectively. The mean fertilization and hatching rates were 94% and 81%, respectively.

The gonadotrops of the group treated with LHRH-a were hypertrophied and degranulated. In the untreated groups, the gonadotrops were small and irregular and contained numerous small granules along with some larger ones.

### I. 서 론

상업적으로 중요한 어종의 번식조절은 양어가들에게 있어서 매우 중요한 과제이다. 보다 효율적이고, 경제적인 배란 및 산란 유도기술은 종묘생산 단가를 낮추고, 우량종묘를 생산하는데 중요한 요소중의 하나이다.

최근 환경오염 등의 영향으로 자연에서 채포되는 한국산 메기는 급격한 감소를 보이고 있어 인공종묘 생산의 필요

성이 한층 요구되고 있다. 이러한 종묘생산과정에서 호르몬제를 투여하거나, 환경조건을 변화시켜 인위적으로 배·산란을 유도하는 경우가 많다.

어류의 배란 및 산란을 유도하는데는 지금까지 잉어와 연어의 뇌하수체, 생식선자극호르몬(GTH), 인간의 생식선자극호르몬(HCG), 황체형성호르몬방출호르몬(LHRH) 및 LHRH-analogue 등이 주로 사용되어 왔다. (review, Lam, 1982 ; Donaldson and Hunter, 1983).

LHRH의 투여에 의해 어류의 배란 및 산란의 유도가 은어

(Hirose & Ishida, 1974)에서 시도된 이래 금붕어, grass carp, 가자미, 망둥어 등에서 보고되었다. (Lam *et al.*, 1975; Anonymous, 1978; Aida *et al.*, 1978). LHRH-analogue의 생물학적 활성은 천연 또는 합성의 LHRH 그 자체보다 훨씬 강한 것으로 알려지고 있는데 무지개 송어, 금붕어, 청어, walleye, milkfish, seabass, grey mullet 등 여러 어종에서 成熟 및 배란에 성공하고 있다. (Crim *et al.*, 1983; Harvey *et al.*, 1985; Lee *et al.*, 1987).

국내에 있어서 한국산 메기의 산란유도에 대해서는 HCG (李 등, 1989)와 잉어뇌하수체(최 등, 1992)를 사용한 보고가 있으나 LHRH-a에 대해서는 아직 검토되지 않았다.

메기의 산란유도를 위해 사용되는 뇌하수체 분말 및 HCG 등은 가격면에 있어서 高價인 점이 지적되고 있다. 또한 인위적으로 어류의 산란을 유도하는 경우 자연산란에 비해 油球數의 이상과 수정율을 저하 등 卵質에 문제를 가져오는 경우가 많다 (Hirose, 1982). 따라서 인위적인 배란유도시 가능한 자연에 가까운 상태로 배·산란 시키는 것이 바람직하다. 이를 위해서는 그 어종에 적합한 호르몬의 선택, 성숙 속 상태의 정확한 판정, 호르몬의 투여 시기 및 방법 등에 따라 연구가 중요하다고 생각된다.

따라서 본 연구는 한국산 메기의 배란 및 산란을 유도하는데 있어서 경제적, 효율적인 방법을 모색하기 위한 연구의 일환으로써 LHRH-a의 이용 가능성에 대해 검토했다.

## II. 재료 및 방법

본 연구는 1993년 8월부터 1994년 7월까지 건국대학교 축산대학 부설양어장에서 실시했다. 공시어는 同大學 및 청평내수면 연구소에서 사육된 1~3년생의 250g~600g의 성숙된 암컷 메기를 사용했다.

### 1. 호르몬 주사

LHRH-a (des-Gly<sup>10</sup>, [D-Ala<sup>6</sup>]-luteinizing hormone-releasing hormone-ethylamide: sigma Co USA)는 0.6% NaCl에 용해하여 적당량씩 분주하여 사용 할때까지 -20℃에 보관하였다. 암컷 메기 어체중 Kg당 50~200 $\mu$ g의 LHRH-a를 복강 또는 근육에 주사하여 수온 25~27℃에서 수용하였다.

### 2. 수정 및 부화조건

수정은 건식법을 이용하였으며, 부화는 용량 400리터 크기의 스테인레스 부화조에 차광망을 깔아 난을 부착시켜 부화하였다. 부화온도는 27 $\pm$ 1℃를 유지하였으며, 수정을 및 부화율은 세곡의 난들을 무작위 채취하여 그 평균값을 구했다.

### 3. 생식선 속도지수(GSI) 및 pseudo-GSI

GSI 및 pseudo GSI는 다음과 같이 구했다.

$$GSI(\%) = \text{gonad weight}(g) \times 100 / \text{body weight}(g)$$

$$\text{Pseudo GSI}(\%) = \text{weight of stripped eggs} \times 100 / \text{weight of fish before injection}$$

### 4. 조직학적 관찰

뇌하수체는 sampling 후 0.1M phosphate buffer (pH 7.2)가 포함된 2.5% glutaraldehyde로 前固定한 후 1% osmium 용액으로 後固定했다. 통상의 방법에 따라 알콜 series로 탈수후 Epon 812로 포매, 薄切하여 uranyl acetate와 lead citrate로 염색시킨 후 80KV의 전압하에서 檢鏡하였다.

### 5. 통계처리

통계처리는 microsoft excel system을 이용하여 처리하였다.

## III. 결 과

Table 1에서와 같이 메기의 산란유도를 위해 사용된 LHRH-a는 매우 효과가 있는 것으로 나타났다. LHRH-a 처리된 메기의 산란유도율은 어체중 Kg당 70 $\mu$ g에서 67%, 90 $\mu$ g에서 86%, 120 $\mu$ g 이상에서는 100%로 나타났다. 대조군에서 NaCl로만 처리된 메기의 산란은 유도되지 않았다.

호르몬 주사후 산란까지의 소요시각은 高濃度에서 다소 빠른 경향을 보였으나 대체로 21~28시간이 걸렸다. 그러나 약 80% 이상이 주사후 22-24시간 사이에서 산란이 유도되었다 (Fig. 1).

LHRH-a 120 $\mu$ g/kg BW 처리된 군에서의 GSI는 및 pseudo-GSI

Table 1. Effect of LHRH-a on ovulation in the catfish, *S. asotus*.

<i>asotus</i> .				
LHRH-a Dose ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	Boby weight(g)	No. of fish injected	No. of fish ovulated(%)	Time to ovulation(h)
0.6% NaCl	375.8 $\pm$ 55.8	5	—	—
50	407.6 $\pm$ 83.5	5	1(20.0)	25~28
70	455.3 $\pm$ 98.7	6	4(66.7)	24~28
90	492.3 $\pm$ 63.9	7	6(85.7)	23~26
120	416.8 $\pm$ 88.6	9	9(100)	22~26
160	317.6 $\pm$ 74.0	5	5(100)	21~25
200	499.5 $\pm$ 60.4	4	4(100)	21~25

\* mean  $\pm$  standard error

Table 2. Egg number, GSI and pseudo-GSI in the catfish treated with 120 $\mu\text{g}/\text{kg}$  LHRH-a

Fish NO.	Initial body weight(g)	% of increased body weight	Weight(g)		Egg number	GSI (%)	Pseudo-GSI (%)
			egg	ovary			
1	448	7.14	95	40	29,830	30.1	21.2
2	527	3.42	105	40	32,950	29.2	27.5
3	590	5.08	110	45	34,540	26.3	18.6
4	450	2.00	85	20	26,690	23.3	18.9
5	425	4.94	90	22	28,260	26.4	21.2
6	424	4.24	80	20	33,920	23.6	18.9
7	275	0.36	51	17	14,030	24.7	18.5
8	270	4.44	53	18	14,310	26.3	19.6
9	342	5.85	69	24	21,660	27.2	20.2

Pseudo-GSI(%) = weight of stripped eggs x 100/ weight of fish before injection

는 각각 23~30%, 18~27%로 대체로 고른 분포를 나타냈으며, 산란된 알 수는 어체중 kg당 58,000~65,000개 었다. Table 2 호르몬 주사후의 체중의 증가와 GSI 및 Pseudo-GSI와 사이에 상관 관계가 없었으나 산란된 난의 수와 체중은 正의 相關을 나타냈다 ( $r=0.78$ ) (Fig. 2).

또한 100%의 산란유도율을 보인 120 $\mu\text{g}$  처리된 그룹에서의 수정을 및 부화율은 각각 94%와 81%로 높은 수치를 나타냈다. 부화까지의 시간은 수온 26+1C에서 26~32시간이 소요되었다 (Table 3).

LHRH-a 처리가 뇌하수체에 미치는 영향을 조사하기 위해 생식선자극호르몬 분비세포(gonadotrophs)의 미세구조적 변화를 Fig. 3, 4 및 Fig. 5에 나타냈다. 호르몬 주사전 成熟 메

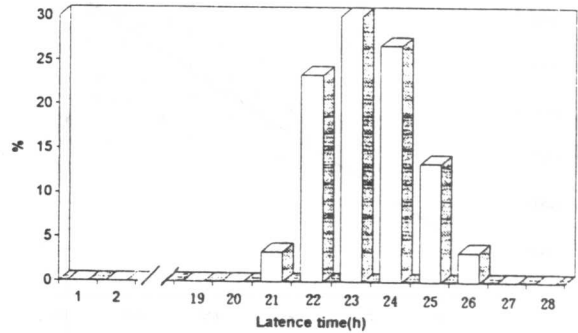


Fig. 1. Frequency of stripping percentage in relation to the latency time after injecting females of the catfish, *S. asotus* held at 25 $\pm$ 1 $^{\circ}\text{C}$  with LHRH-a(90-120 $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

기의 gonadotrophs는 전자밀도가 높은 200~300nm크기의 수많은 소과립(large granules)의 존재가 관찰되었다 (Fig. 2). 그리고 약간 팽창된 조면소포체 (rER)와 잘 발달된 골지체가 존재하였다(Fig. 3). 한편 호르몬 주사후의 gonadotrophs에서는 大小과립들의 현저한 消失과 소포성의 rER이 눈에 띄게 증가되었다 (Fig. 4). 한편, 미성숙메기의 gonadotrophs에서는 대소과립들은 성숙메기의 그것들에 비해 數的으로 큰 차이는 없었으나, 크기에 있어서 소과립이 150~200nm, 대과립이 700~800nm로 성숙메기에 비해 약간 적은 것이 관찰되었다. 또한 rER의 팽균은 보이지 않았으며, 골지체, 미토콘드體를 및 부화율은 각각 94%와 81%로 높은 수치를 나타냈다. 부화까지의 시간은 수온 26+1C에서 26~32시간이

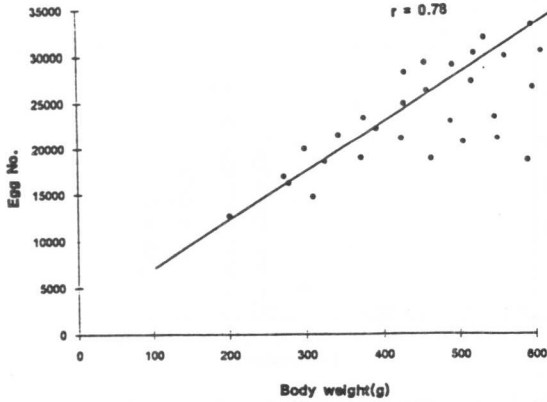


Fig. 2. Correlation between the body weight and the number of eggs of female catfish

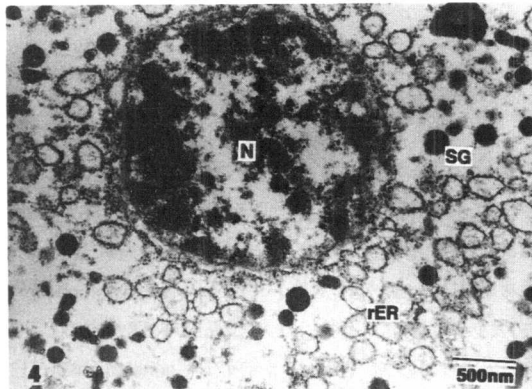
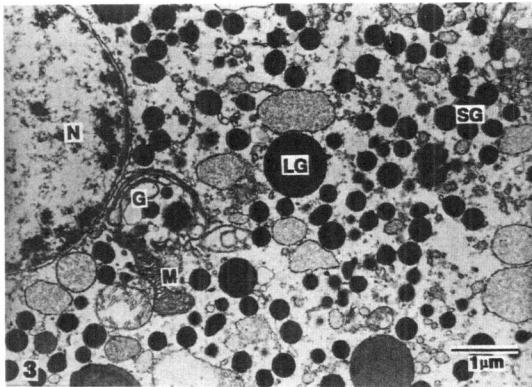


Fig. 3, 4. Electron micrographs of gonadotrophs in the pituitary gland of a saline-injected Fig. 3 and a LHRH-a-treated mature female catfish Fig. 4.

N, nucleus; G, Golgi apparatus; rER, rough endoplasmic reticulum; m, Mitochondrion; LG, large globule; SG, small granule

Table 3. Fertilization and hatching rates in the catfish treated with 120 μg/kg LHRH-a.

Fish No.	Percent fertilization	Percent hatching	Time to hatching(h)
1	97.7	85.2	26~32
2	96.2	84.4	26~32
3	98.3	82.0	26~32
4	89.4	75.4	26~32
5	93.6	83.7	26~32
6	87.3	69.5	26~32
7	98.2	84.5	26~32
8	90.8	78.3	26~32
9	96.9	82.4	26~32

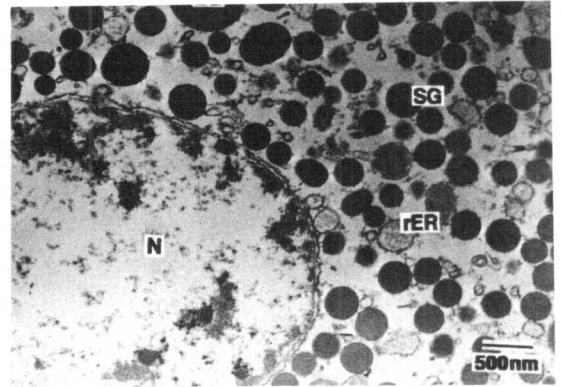


Fig. 5. Electron micrographs of gonadotrophs in the pituitary gland of a immature female catfish

N, nucleus; rER, rough endoplasmic reticulum; SG, small granule

#### IV. 고 찰

한국산 메기의 인위적인 산란은 LHRH-a의 단일 주사에 의해 성공적으로 유도되어 지는 것이 확인 되었는데, 가격면에 있어 종래 주로 사용되어 온 잉어 뇌하수체 및 HCG에 비해 적어도 2~3배 이상의 비용이 절감되는 것으로 나타났다.

호르몬 주사후 산란이 일어나기까지의 소요시간은 사육수는 호르몬 농도에 따라 다소 차이가 있지만 LHRH-a가 21~28시간으로 HCG의 15~20시간 (李 등, 1989)에 비해 느린 것으로 나타났다. 이것은 LHRH HCG(GTH)보다 上位의 호르몬이기 때문인 것으로 판단된다. 통산 호르몬에 의한

어류의 배란 및 산란 유도시 호르몬 농도는 생리적 적정 농도를 훨씬 초과하여 주사하게 되는데, HCG의 경우 복강 또는 근육에 주사된 다량의 호르몬이 직접 난소에 강하게 작용하여 배란을 유발함으로써 난질의 저하를 가져와 궁극적으로 수정을 및 부화율에 영향을 미치는 것으로 보고 되고 있다. 반면에 복강에 주사된 LHRH-a는 뇌하수체를 자극하여 그로 인하여 분비된 GnRH가 난소에 작용하여 배란을 유도하는 간접적인 방법을 취하므로 HCG에 비해 과속으로 되는 정도가 완만하여 대량의 작업에 유리한 것으로 나타났다. 실지로 평균 부화율에 있어서 HCG(李 등, 1989)의 경우 71.1%, 잉어 뇌하수체 분말(최 등, 1992)은 74%인데 비하여 LHRH의 경우는 81%로 다소 높은 수치를 나타냈다. 여기에서 부화까지의 시간이 HCG의 경우 수은 20~24℃에서 50~75시간 걸렸으나, LHRH-a는 27±1℃에서 26~32시간으로 나타나, 약간의 부화온도의 상승이 부화율을 높힐 수 있는 것으로 나타났다. 그러나 수온상승에 의한 부화를 및 기형의 발생을 통상의 방법과 비교해 유의차는 없었다. 따라서 부화율을 높이기 위해 高水温에서의 부화를 적극 활용해야 될 것으로 사료된다.

호르몬에 의해 인위적으로 산란을 유도할때 일반적으로 같은 종의 개체간에 있어서도 생식선속도지수(GSI)는 다양한 차이를 보이는데, 한국산 메기에 잉어 뇌하수체 분말을 주사한 경우에도 3.9~34.6%로 커다란 편차를 나타냈다. 그러나 본 연구에서는 GSI가 23~30%로 비교적 일정하게 나타났다. 또한 pseudo-GSI가 18~27%로 비교적 높고 고른 분포를 나타냈으며, 산란수에 있어서도 魚體重 kg당 약 60.00개로 호르몬들에 비해 그다지 큰 차이를 보이지 않았으나 산란유도된 대부분의 개체에서 일정한 수의 알을 낳아 LHRH-a가 난의 성숙 및 배란유기에 매우 효과적인 것으로 나타났다.

메기의 주산란기는 5월 중순에서 7월 중순인 것으로 알려지고 있는데(李 등, 1989). 본 연구의 실험기간인 2월 초에서 7월 하순사이의 계절별 배란 유도 결과는 커다란 차이를 보이지 않았다. (미 발표). 그러나 주산란기 보다 2~3개월 빠른 조기 산란을 유도하는 경우 친어에 대한 병의 발생빈도가 다소 높은 것으로 관찰되었다.

메기 뇌하수체 前葉主部에 널리 분포하는 gonadotropins는 好藍基性的 세포로 쉽게 다른 세포들과 구별할 수 있다. 이 세포들은 대부분 등글거나 타원형을 이루고 있는데 뇌하수체 前葉主部の & 性細胞들 중에서 가장 크다. 또한 이 세포들은 많은 소과립과 몇개의 대과립들이 관찰되는데, LHRH-a

주사후의 이들 과립들의 消失이 관찰되었다. 이러한 사실들은 Aida (1983)가 은어에서 관찰한 결과와 거의 유사한 것으로 나타났다. 이러한 대소 과립들의 소실은 LHRH-a주사에 따른 gonadotropin의 분비 결과에 기인한 것으로 사료되어진다.

이상과 같이 LHRH-a의 사용은 메기의 산란을 유도하는데 매우 유효한 것으로 판단된다. 그러나 메기의 종묘생산 단가를 더욱 낮추기 위해서 LHRH-a와 다른 호르몬 또는 물질과의 혼합투여에 대한 연구도 고려되어야 할 것이다. 예를 들면 dopamine에 대한 길항작용을 갖는 pimozide와 도파민 분해물질인 reserpine등은 LHRH-a의 활성을 높혀 排卵 및 排精作用을 증강 시켜주는 것이 여러 어종에서 보고되고 있다. (De Leeuw et al., 1985; Lin et al., 1985; Billard et al., 1987; Kestemont, 1988). 따라서 이들 물질들의 적절한 혼합 사용은 良質의 卵과 精子를 얻어내고, 보다 값싼 종묘생산을 위해 매우 유용할 것으로 기대 되어진다.

## 적 요

한국산 메기의 경제적이고 효율적인 산란유도를 위한 연구로써 LHRH-a의 이용 가능성에 대해 검토하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. LHRH-a로 처리된 메기의 산란유도율은 어체중 kg당 70μg에서 67%, 90μg에서 86%, 120μg 이상에서는 100%로 나타났다.
2. 호르몬 주사후 배란이 일어나기까지의 시간은 고농도에서 다소 빠른 경향을 보였으나 약 25시간 (22~28)시간 소요되었다.
3. 생식선 속도지수(GSI)는 100%의 산란유도율을 보인 120μg/kg 처리된 그룹에서 23~30%, pseudo-GSI는 18~21%의 비교적 고르고 높은 분포를 나타냈으며, 산란된 난의 수는 어체중 kg당 58,000~65,000개였다.
4. 또한 kg당 120μg주사된 메기에서의 수정율 및 부화율은 94%, 81%로 높게 나타났다. 부화수은 27+1℃에서의 부화율은 21+1℃보다 높게 나타났으며, 높은 수온에서의 부화시간은 26~32시간이 걸렸다.
5. LHRH-a주사후의 뇌하수체에서의 미세구조적 변화를 관찰한 바, 호르몬 주사전 성숙메기의 생식선자극호르몬 분비 세포(gonadotropins)는 전자밀도가 높은 100-250nm크기의 수 많은 small granules(소과립)과 800~1500nm의 전자밀도

가 다소 낮은 몇개의 large granules(과대립)의 존재가 관찰되었다. 한편 호르몬 주사후의 gonadotrops들에서는 大小과립들의 현저한 消失과 소포성 rER의 증가가 관찰되었는데, 이것은 LHRH-a에 의해 GTH의 대량분비가 일어났음을 시사하는 것이다.

이상의 결과로부터 LHRH-a의 사용은 기존의 HCG 및 잉어 뇌하수체보다 적어도 2~3배 이상의 비용절감을 가져와 메기의 인공 산란을 유도하는데 매우 효과적이며 경제성이 있는 것으로 나타났다.

### 참 고 문 헌

1. Aida, K. 1983. Effect of LH-releasing hormone on gonadal development in a salmonid fish, the ayu. 1983. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. **49**. 711~718.
2. Aida, K., R. Z. Izomo. H. Satah and T. Hibiya. 1978. Induced of ovulation in place and goby with synthetic LH releasing hormone. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. **44**. 445~450.
3. Billard, R., K. Bieniarz. W. Popek, p. Epler, B. Breton and K. Alagarwami. 1987. Stimulation of gonadotropin secretion and spermiation in carp by pimoziide-LRH-a treatment: Effects of dose and time of day. Aquaculture, **62**, 161~170.
4. 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 held at low temperature. Aquaculture, **35**, 299~307.
5. De Leeuw, R., H. J. Th. Goes, C. J. J. Richer and E. H. Eding. 1985. Pimoziide LHRHa indexed breeding of the African catfish, *clarias gariepinus*(Burchell). Aquaculture, **44**. 295~302.
6. Donaldson, E. M. and G. A. Hunter. 1983. Induced final maturation, ovulation and spermiation in cultured fish. p. 351~403. In Hoar, W. S., D. Randall and E. M. Donaldson (Editors), Fish Physiology, Vol. IX(B). Academic Press. New York.
7. Harvey, B., J. Nacario, L. W. Crim, J. V. Juriano, and C. L. Marte. 1985. Induced spawning of sea bass, *Labeo calcarifer*, and rabbit fish, *Siganun guttaus*, agter implantation of pelleted LHRH analogue, Aquaculture, **47**. 53~59.
8. Hirose, K. 1982. 魚介類 成熟産卵의 制제, 日本水産學會編, **41**, 恒星社厚生閣, 東京 p. 50~63.
9. Hirose, K and R. Ishida. 1974. Induction of Ovulation in the ayu with LH-releasing hormone(LH-RH). Nippon Suisan Gakkaishi, **40**. 1235~1240
10. Lam, T. J. 1982. Applications of endocrinology to fish culture. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **39**. 111~137.
11. Lam, T. J. 1982. Applications of endocrinology to fish culture. Can. J. Fish. Aquat. Sci. **39**, 111~137.
12. Lam, T. J., S. Pandey. and W. S. Hoar. 1975. Induction of ovulation in goldfish by synthetic luteinizing hormone-releasing hormone(LHRH). Can. J. Zool. **53**, 1139~1192.
13. Lee, C. S., C. S. Tamaru, G. T. Miyamoto and C. D. Kelley. 1987. incuded spawning of grey mullet (*Mugil cephalus*) by LHRH-a. Aquaculture, **62**. 327~336.
14. Lin, H. -R., C. Peng, L. -z. Lu, X. -J. Zhou, G. Van der Kraak. and R. E. peter. 1985. Induction of ovulation in the loach (*Paramisgurnus dabryanus*) usning pimoziide and [D-Ala6, Pro9N-ethylamide]-LHRH. Aquaculture. **46**, 333~340.
15. 이생동, 최낙중, 박종득. 1989. 메기 *Parasilurus asotus*의 인공양식에 관한연구. 수진연보 **43**:181~185.
16. 최경철, 김동수, 조재운, 김종만. 1992. 메기(*Silurus asotus*)의 산란유도 및 실험실 사육에 관한 연구. 한국양식학회지 **5**(2):117~126.