



저작자표시-비영리-변경금지 2.0 대한민국

이용자는 아래의 조건을 따르는 경우에 한하여 자유롭게

- 이 저작물을 복제, 배포, 전송, 전시, 공연 및 방송할 수 있습니다.

다음과 같은 조건을 따라야 합니다:



저작자표시. 귀하는 원저작자를 표시하여야 합니다.



비영리. 귀하는 이 저작물을 영리 목적으로 이용할 수 없습니다.



변경금지. 귀하는 이 저작물을 개작, 변형 또는 가공할 수 없습니다.

- 귀하는, 이 저작물의 재이용이나 배포의 경우, 이 저작물에 적용된 이용허락조건을 명확하게 나타내어야 합니다.
- 저작권자로부터 별도의 허가를 받으면 이러한 조건들은 적용되지 않습니다.

저작권법에 따른 이용자의 권리는 위의 내용에 의하여 영향을 받지 않습니다.

이것은 [이용허락규약\(Legal Code\)](#)을 이해하기 쉽게 요약한 것입니다.

[Disclaimer](#)

석사학위논문

뱀장어 *Anguilla japonica*의 성 성숙유도
및 해순순치 후 기관세포의
조직 변화

제주대학교 대학원

해양생명과학과

이 승 현

2013년 7월

Induced sexual maturation and change of
organs tissue after acclimation seawater in
Japanese eel, *Anguilla japonica*

Seung-Hyun Lee

(supervised by professor Young-Don Lee)

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL
FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE
DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

MARINE LIFE SCIENCE
GRADUATE SCHOOL
JEJU NATIONAL UNIVERSITY

July 2013

목 차

List of figures	i
List of tables	ii
ABSTRACT	1
I. 서론	3
II. 재료 및 방법	
1. 실험어	5
2. 사육관리	5
3. 성 성숙 및 배란유도	7
4. 배우자 형성 과정 관찰	10
5. 전자 현미경적 관찰	10
6. 해수순치 전후 기관 조직의 세포변화	10
III. 결과	
1. 성 성숙 및 배란 유도	14
1) 호르몬 처리	
2. 배우자 형성 과정 조직학적 양상	17
1) 정자형성과정	
2) 난형성과정	
3. 해수순치 전후 기관 조직의 세포변화	21
1) 아가미의 염류세포, 점액세포	
2) 피부의 점액세포	
3) 신장의 세뇨관	
4) 간의 간세포	

5) 소화관의 배상세포, 근육층, 장주름

IV. 고찰 36

V. 요약 41

VI. 참고문헌 42

감사의글 48

List of figures

Fig. 1. Diagram of recirculating rearing system used for broodstock	6
Fig. 2. Broodstock management of <i>A. japonica</i>	9
Fig. 3. External morphology of the digestive tract of <i>A. japonica</i>	13
Fig. 4. Change body weight with salmon pituitary extracts(SPE) injection	15
Fig. 5. Examination steps for artificial ovulation of mature stage of female <i>A. japonica</i>	16
Fig. 6. Photomicrographs and electron microscope of sperm developmental stages of <i>A. japonica</i>	18
Fig. 7. Photomicrographs of ovarian developmental stages of <i>A. japonica</i>	20
Fig. 8. Photomicrographs of gills of <i>A. japonica</i> reared under fresh water condition (A, B and E) and seawater condition(C, D and F)	22
Fig. 9. Photomicrographs of mucous cells in the skin of <i>A. japonica</i> . reared under fresh water condition(A, B and E) and seawater condition(C, D and F)	24
Fig. 10. Photomicrographs of renal tubule in the kidney of <i>A. japonica</i>	26
Fig. 11. Numbers of renal tubule in the kidney of <i>A. japonica</i>	27
Fig. 12. Photomicrographs of hepatocytes in the liver of <i>A. japonica</i>	29
Fig. 13. Changes in number and nucleus size of hepatocyte in the liver of <i>A. japonica</i> . Different superscript on the bars are significantly different ($P < 0.05$)	30
Fig. 14. Photomicrographs of digestive tract of <i>A. japonica</i> reared under fresh water condition	32
Fig. 15. Photomicrographs of digestive tract of <i>A. japonica</i> reared under sea water condition	33
Fig. 16. Photomicrographs of digestive tract of <i>A. japonica</i> after ovulation	34
Fig. 17. Changes of goblet cell, muscularis externa and mucosal fold of the digestive tract of <i>A. japonica</i>	35

List of tables

Table 1. Body weight and body length of female <i>A. japonica</i> used in induction of sexual maturity	8
Table 2. Body weight and body length of female <i>A. japonica</i> used in histological observation	12

Abstract

Japanese eel, *Anguilla japonica* is a commercially important species and catadromous fish that grows in fresh water, and moves to the sea to spawn. This study investigated the gametogenesis process based on artificially induced sexual maturity and changes of organs of *A. japonica* based on sexual maturity where it acclimated to the aquatic environment of the seawater.

10 female *A. japonica*(mean TL 70.1±2.3 cm , mean BW 727±74 g) were used for the inducement of sexual maturity. And specimens were treated with salmon pituitary extracts(SPE) once per week, and induced sexual maturity after 8-12 weeks, and then gametogenesis process was observed. Male *A. japonica* were treated with human chronic gonadotropin(HCG) every week, and allocation was induced after 6-8 weeks, and then spermatogenesis was observed.

To understand histological changes of organs of *A. japonica* based on fresh water condition and seawater condition, 25 specimens (mean TL 62±2 cm, mean BW 578±43 g) were used for comparative observation using gill, skin, kidney, liver and digestive tract.

A large amount of mucous cells were found and chloride cells were rarely observed in the gills in fresh water condition. However, mucous cells were not observed and chloride cells were increased in seawater condition.

In the skin, mucous cells were observed in each layer of epidermis from fresh water condition. On the other hand, mucous cells of seawater condition were decreased in each layer of epidermis.

In the kidney, upon the completion of microscopy on the number of renal tubules within the radius of 1000X1000 μm^2 , the number of observed renal tubules in seawater condition came out significantly increased than fresh water condition.

Hepatocytes were observed within the radius of 200X200 μm^2 in the liver. Cytoplasm of hepatocytes from seawater condition were increased compared to fresh water condition, and many oil globules were observed. After ovulation, the

liver lost oil globules, and showed a tendency of decreasing cytoplasm.

Digestive tracts were divided into esophagus, anterior intestine portion, mid intestine portion and posterior intestine portion. And then comparative microscopy was done on the change pattern of mucus-secreting goblet cells, mucosal folds, and muscularis externa of each part of digestive tract. Mucus-secreting goblet cells were significantly reduced in the specimen after ovulation than in the specimens under fresh water condition. Also, mucosal folds length and muscularis externa thickness were significantly reduced in after ovulation.

In the future, additional comparative studies on environmental characteristics related to the aspect of sexual maturity and osmotic pressure will be necessary.

서론

뱀장어목 뱀장어과에 속하는 어류는 세계적으로 18종이 분포하며, 우리나라에는 뱀장어(*Anguilla japonica*), 무태장어(*Anguilla marmorata*), 2종이 서식한다. 뱀장어(*A. japonica*)는 우리나라 동해 북부지방을 제외한 전국적으로 강이나 호수 하천에 서식하며 담수에서 5~10년 동안 성장한 뱀장어는 산란을 위해 바다로 돌아가는 강하성(catadromous)어류이다.

뱀장어의 산란지역은 오랫동안 밝혀지지 않았지만 Tsukamoto et al. (2006)는 북태평양 서부 마리아나해구 남쪽(14 N, 142 E)해역에서 pre-leptocephalus(전장 4.2~6.5 mm)를 대량 채집하여 유전자 분석을 통해 뱀장어의 유생임을 확인하고 이 부근이 뱀장어의 산란장임을 추정하였다. 부화된 치어들은 구로시오해류를 통해 이동하면서 변태과정을 거치며 강 하구로 소상한다. 뱀장어 양식은 소상하는 실뱀장어를 포획하여 종묘로 사용하기 때문에 매년 실뱀장어의 체포량에 따라서 가격 및 생산량의 변동 폭이 크다. 전체 내수면어업에서 뱀장어양식이 차지하는 비중은 갈수록 감소하고 있다. 뱀장어 생산량은 통계청자료에 의하면 2011년 7,822톤 에서 2012년 4,344톤으로 2011년 대비 생산량(40%) 급격하게 감소하는 경향이 나타났다. 실뱀장어 자원의 감소로 인한 문제점을 해결하기 위해 일본을 중심으로 뱀장어 인공종묘생산기술 연구가 이루어져 왔다(Yamamoto and Yamauchi, 1974; Otake et al., 1993; H. Tanaka et al., 2001).

뱀장어는 일반적인 양식장의 환경에서는 gonadotropins(GTHs) 합성 능력이 미흡하여 생식소 발달이 일어나지 않는다(Nagahama et al., 1973). GTH는 두 종류의 follicle stimulating hormone(FSH; 여포 자극 호르몬), luteinizing hormone(LH; 황체 형성 호르몬)의 호르몬 분비를 촉진하며, 어류를 포함한 척추동물의 생식소 발달에 필수적인 것으로 보고되었다(Schulz, 1995; Nagahama, 2000). 따라서 뱀장어의 성숙 유도의 경우 GTH를 포함하는 salmon pituitary extracts(SPE)의 반복주사를 통해 인위적 성 성숙을 유도하며, 난황형성이 완료된 개체는 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one(DHP)를 주사하여 최종배란을 유도한다(Yamamoto and Yamauchi 1974; Ohta et al., 1996). 최근 다른 방법으로는 암·수 뱀장어 복강에 human chronic gonadotropin(HCG), SPE를 저장하고 지속적으로 방출하는 osmotic pump를 삽입하여 성 성숙과 배정을 유도하였다(Kagawa et al., 2009, 2013). 또한 뱀

장어의 초기 부화자어는 먹이불임이 매우 낮아 자어의 생존율에 많은 비중을 차지하는 초기사료에 관한 연구가 이루어지고 있으며(Otake et al., 1993; Tanaka et al., 2001), 자어의 낮은 생존율의 원인은 친어사육과 번식학적, 영양적인 측면으로 보고하고 있다(Kwon and Adachi 2008). 우리나라에서도 재조합 호르몬을 이용한 뱀장어 성 성숙(Kim et al., 2008) 및 저수온 성 성숙유도(Kim et al., 2009)에 관한 연구 등이 진행되어 왔다.

Tanaka (2003)는 치어 먹이에 관한 연구로 뱀장어 수정란에서 부화자어의 사육과 실뱀장어로 변태에 성공하였고, 2010년 뱀장어 완전 양식에 성공하였다. 이러한 결과는 뱀장어 종묘생산기술의 발전으로 이어지고 있다.

우리나라에서 뱀장어는 가을철에 번식을 위하여 담수에서 서식하다 강을 따라서 바다로 강하한다. 이동시기에 뱀장어는 염분의 변화로 인하여 생리적응반응에 영향을 받으며, 대표적인 생리적 요인으로는 염분변화에 따른 삼투조절에 관련해서 스트레스 등을 유발한다고 알려져 있다(Min et al., 2003). 경골어류의 삼투압조절은 주로 아가미, 피부, 소화관 및 신장에서 이루어진다(Laurent and Dunel, 1980).

이 연구는 뱀장어의 수정란 생산을 위한 번식생물학적 연구의 일환으로 뱀장어를 담수에서 해수 환경으로 순치시킨 후 인위적 성 성숙을 유도에 따른 난 형성 과정 및 정자형성과정을 조사하였고, 해수순치 과정에 염분변화에 따른 아가미(염류세포), 피부(점액세포), 신장(세뇨관), 간(간세포), 소화관(배상세포, 근육층, 점막주름)의 관련세포 변화를 조직학적으로 관찰 하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험어

실험에 이용한 뱀장어(평균 전장 62 ± 2 cm, 평균 체중 578 ± 43 g)는 제주도 성산에 위치한 축양장에서 구입하여 제주대학교 해양과환경연구소로 이송 후, 25마리를 순환여과시스템(규격 $230\times 70\times 120$ cm, water temperature $20\pm 1^\circ\text{C}$)하에서 사육관리 하였다.

순환여과 시스템의 시설은 실험어의 인위적 성 성숙 유도조건을 유지하기 위해 수중펌프(120 W), 히터(2 KW)및 냉각기를 가동하였다(Fig. 1).

2. 사육관리

실험어의 안정을 취하기 위해 1주간 담수에 순치 시킨 후 실험어로 사용 하였다. 해수순치는 1일 50ℓ 씩 10일에 걸쳐 해수로 전량환수 시켰고, 실험어의 안정을 위해 차광필름을 이용하여 수조 외부의 빛을 차단하였다. 실험 기간 동안 수온은 $20\pm 1^\circ\text{C}$ 로, 용존산소는 8 ± 1 mg/L 을 유지시켜 사육하였다.

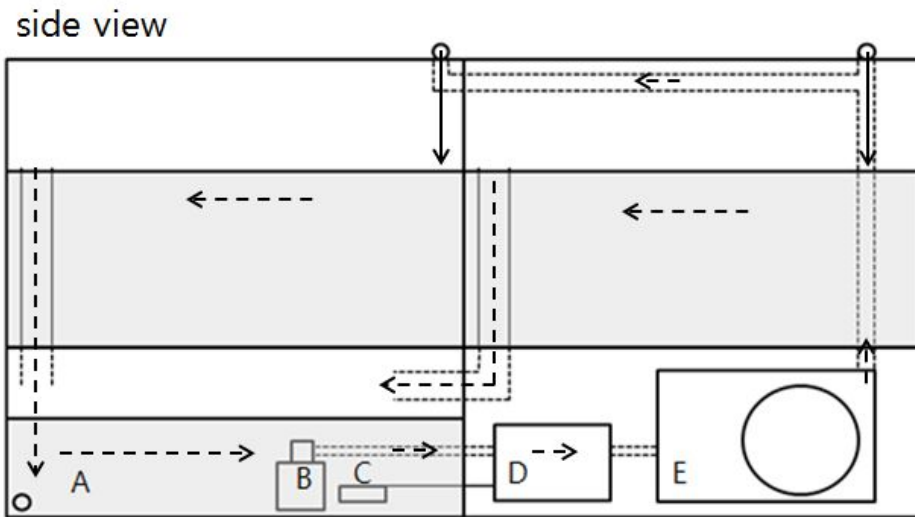


Fig. 1. Diagram of recirculating rearing system used for broodstock. A: bio-chemical filter chambers, B: water pump, C: immersion heater, D: water temperature controller, E: condenser chamber.

3. 성 성숙 및 배란유도

해수순치 1개월 이후 안정된 실험어(평균 전장 70.1 ± 2.3 cm, 평균 체중 727 ± 74 g) 10마리를 선별하여 성 성숙 실험에 사용하였다. 개체를 식별하기 위해 ID microchip (Trovan ID-100K)을 등 근육에 삽입하였으며, 실험시 Trovan GR-251 RFID Reader를 사용하여 개체별 추적관리를 하였다(Table 1, Fig. 2).

암컷 뱀장어는 salmon pituitary extracts(SPE, 20 mg/kg body weight/week)를 매주 1회 복강 주사하여 성 성숙을 유도하였으며(Yamamoto and Yamauchi 1974), 실험어중 체중이 증가한 개체(Fig. 4)는 2-phenoxyethanol(Sigma - Aldrich, St. Louis, MO, USA, 300 ppm)에 마취시킨 후 내외경 1.0 mm인 실리콘 재질의 튜브를 이용하여 cannulation을 하여 난 성숙도를 조사하였다(Fig. 6A). 최종 배란유도를 하기 위해 약 750~850 μm 의 난모세포를 가진 실험어를 대상으로 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregen-3-one(DHP, Sigma, 2 mg/kg body weight)를 주사하여 최종 배란을 유도하였다(Fig. 6B, C).

수컷 뱀장어(평균 전장 47.2 ± 2.5 cm, 평균 체중 322.8 ± 14 g)는 Yamamoto and Yamauchi (1974)의 방법으로 human chronic gonadotropin(HCG, Sigma, 1 IU/g body weight/week) 10주간 매주 1회 복강 주사 하여 생식소의 성숙을 유도하였다.

배정된 정자는 Ohta (1996)의 방법으로 뱀장어 인공정장액(114.5 mM NaCl, 30 mM KCl, 1.6 mM MgCl₂, 1.3 mM CaCl₂, 20 mM NaHCO₃, pH 8.2)에 희석하여 정자를 보관하여 수정에 사용 하였다.

Table 1. Body weight and body length of female *A. japonica* used in induction of sexual maturity

ID No.	Body Weight (g)	Body Length (cm)
6FE3EDA	502	68
6FE43EB	515	62
6FE30E1	578	66
6FE221B4	579	65
6FE1601	604	71
6FE1A52	605	63
6FE28F8	712	67
6FE1C7D	1006	78
6FE3A1F	1086	84
6FE243A	1087	77

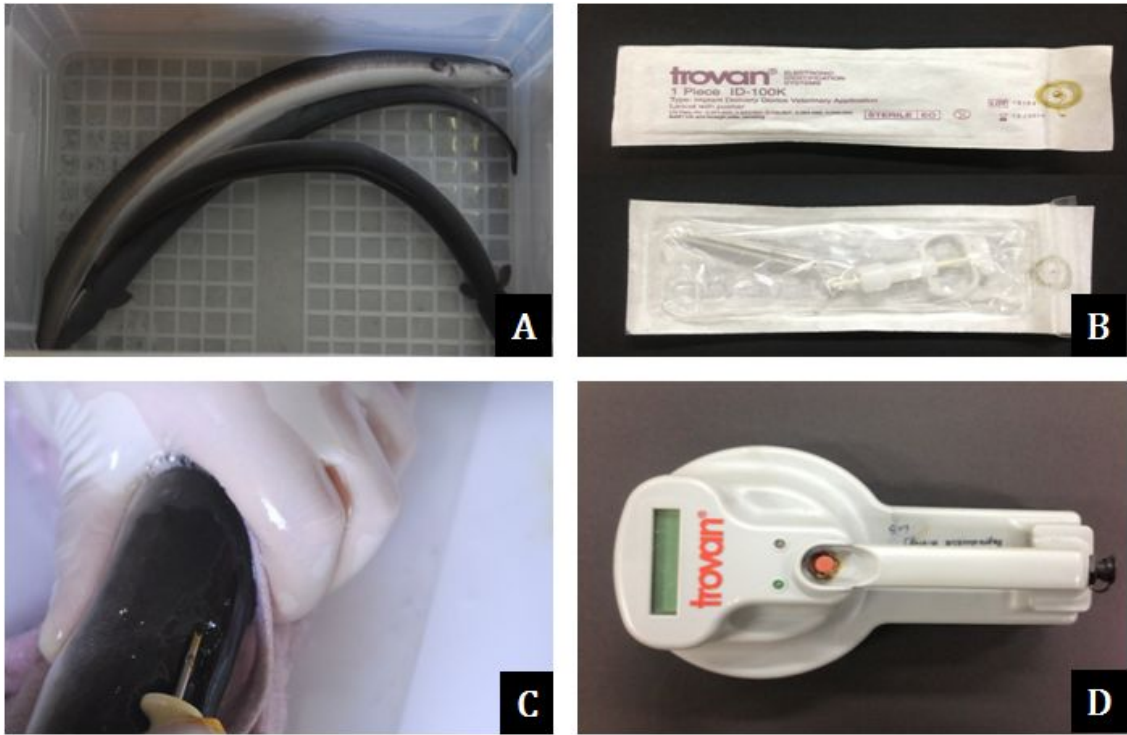


Fig. 2. Broodstock management of *A. japonica*. A: anaesthetization, B: ID chip injector, C: tagging with ID chip, D: ID chip reader.

4. 배우자형성과정 조직학적 관찰

담수구, 해수처리구(SPE injection, 6 weeks) 및 배란 후 뱀장어의 생식소를 적출하여 Bouin's solution에 고정하였고 70% EtOH 에 탈수 하였다. 이후 paraffin 절편법에 의해 5~7 μm 절편을 제작하여 Hansen's hematoxylin과 0.5% eosin으로 비교염색 하여 광학현미경(optical microscope; Axioskop ZEISS, Germany)하에서 배우자형성과정을 조직검경 하여 관찰하였다.

5. 전자 현미경적 관찰

정자의 외부 형태적 특징을 조사하기 위해 배정된 정자를 2.5% glutaraldehyde 용액에 90분 동안 전고정을 하였으며 2% osmium tetroxide 용액에 1시간 동안 후고정 하였다. 50% EtOH 로부터 탈수하고 isoamilacetate를 사용하여 치환시켰다. 형태적 특징은 주사전자현미경(Scanning Electron Microscope)을 이용하여 조사하였다.

6. 담수실험어, 해수처리구, 배란후 기관세포 조직변화 관찰

해수순치에 따른 기관세포의 조직변화 관찰을 위해 담수구(평균 전장 63.3 ± 1.2 cm, 평균 체중 651 ± 9 g) 3마리와 해수처리구 뱀장어(평균전장 65 ± 1.5 cm, 평균체중 594 ± 43 g) 3마리를 실험에 사용하였다(Table 2). 관련기관 세포의 조직학적 변화양상을 관찰하기 위하여 2-phenoxyethanol(Sigma)에 마취 후 아가미, 피부, 신장, 간, 소화관을 적출 하였다. 적출한 조직은 Bouin's solution에 24시간 고정 후 70% EtOH 탈수하여 paraffin 절편법에 의해 5~7 μm 절편을 제작하였다. 일반조직검경을 위해 Hansen's hematoxylin과 0.5% eosin 으로 비교염색 하였으며, 아가미와 피부의 점액세포 및 소화관의 배상세포를 관찰하기 위해 Alcian Blue(AB, pH 2.5) Periodic-Acid-Schiff(PAS)염색 후 광학현미경(optical microscope, Axioskop ZEISS, Germany)하에서 검경하였다. 간세포 개수는 cellsens dimension(Olympus, Japan)을 사용하여 조직절편 $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ 내의 간세포를 개수하여 비교하였다. 신

장은 조직절편 1000X1000 μm^2 내의 세뇨관 개수를 3반복으로 조사하였다. 소화관은 식도, 전장부, 중장부, 후장부로 나누어 각 부위별 점막주름 상피층에 분포하는 배상세포, 점막주름, 근육층의 변화양상을 광학현미경(optical microscope; Axioskop ZEISS, Germany)하에서 개수하였다(Fig. 3).

통계분석은 SPSS(Version 12.0) 프로그램을 이용하여 One-way ANOVA로 하였다. 데이터 값의 유의차는 Tukey's HSD(또는 Duncan, LSD)로 비교하였다. 데이터는 평균값±표준편차(mean±SD)로 나타내었다.

Table 2. Body weight and body length of *A. japonica* used in histological observation

ID No.	Body Weight (g)	Body Length (cm)
6FE1012	538	61
6FE4A76	524	58
6FE31F1	488	59
6FE41BE	583	65
6FE5EDA	469	55
6FE2D3A	531	68



Fig. 3. External morphology of the digestive tract of *A. japonica*.

AN: anus, ES: esophagus, SP: spleen, ST: stomach, ap: anterior intestine portion, ep: esophagus, mp: mid intestine portion, pp: posterior intestine portion.

Ⅲ. 결과

1. 성 성숙 및 배란 유도

1) 호르몬처리와 수정란 생산

실험어는 해수순치 1개월 이후 8~12주 동안 salmon pituitary extracts(SPE) 및 human chronic gonadotropin(HCG)를 처리하여 암·수 실험어의 성 성숙을 유도하였다. 암컷 실험어는 SPE 처리 3~5주 이후부터 체중이 증가하기 시작하여 8~12주 이후 성 성숙이 완료되어 실험어의 체중이 급격하게 증가하였다(Fig. 4). 호르몬 처리 기간 동안 실험어 5마리의 개체에서 성 성숙이 유도되었으며, 성숙이 유도된 개체는 내 외경 1.0 mm인 실리콘 재질의 튜브를 이용하여 cannulation을 실시하여 난경을 측정하였다(Fig. 5A). 난경관찰 후 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one(DHP, Sigma, 2mg/kg body weight)를 복강 주사하여 최종배란을 유도하였다(Fig. 5B, C). 수컷 실험어는 매주 human chronic gonadotropin(HCG)를 복강주사 하여 실험 시작 6주부터 정자형성(spermatogenesis) 및 배정(spermiation)이 유도되어 배우자형성과정을 관찰한 후 배정된 정자는 Ohta et al., (2006)의 방법으로 인공 정장액에 정자를 보관하여 수정에 사용하였다. 수정에 사용된 난의 양은 400 cc, 부상란의 양은 200 cc 였으며, 배체형성이 시작될 무렵 발달이 정지되어 발생 관찰은 실시하지 못했다.

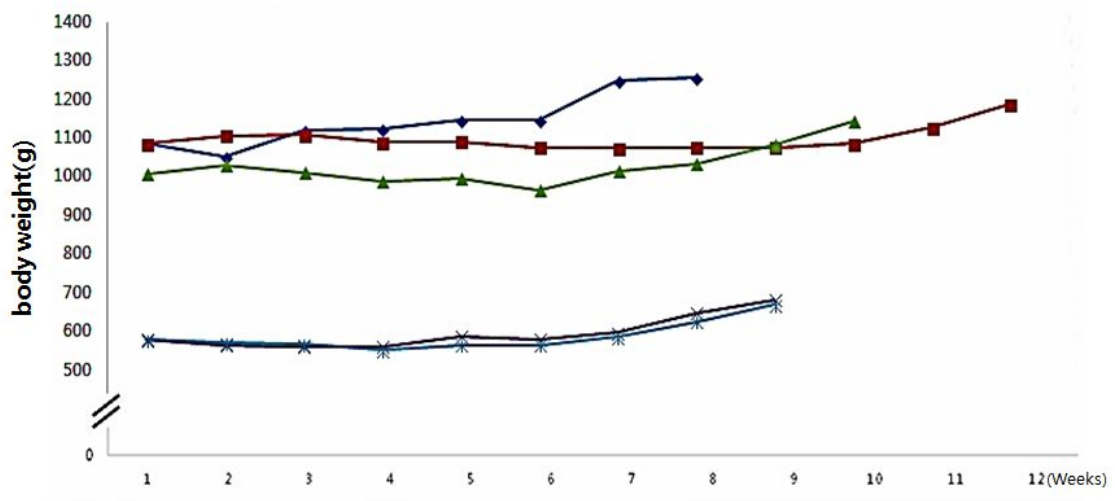


Fig. 4. Change of body weight with salmon pituitary extracts (SPE) injection.

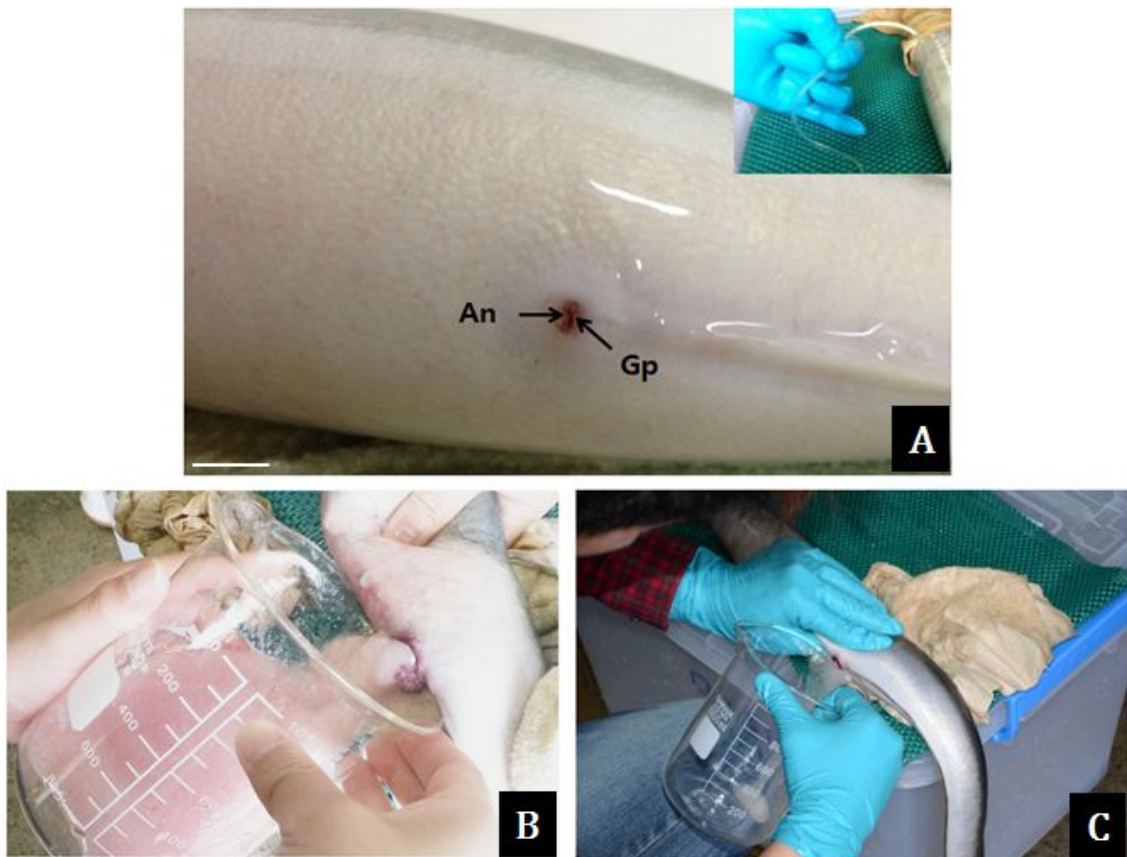


Fig. 5. Examination steps for artificial ovulation of mature stage of female *A. japonica*. A: external features of genital pore, B and C: egg stripping, An: anus, Gp: genital pore. Scale bar indicates 1 cm.

2. 배우자 형성 과정

(1) 정자형성과정

정소 발달과 함께 정소소엽내 정원세포, 정모세포, 정세포 무리들이 관찰되었다 (Fig. 6A, C, D, E). HCG 처리 6주후 성숙한 정소는 소엽내 변태를 마친 정자 무리들이 가득차 있었다(Fig. 6B, F). 배정된 정자를 주사전자현미경으로 관찰한 결과 정자의 총 길이는 18~20 μm 로 머리(head) 부분이 4 μm , 중간부분(middle piece)과 끝부분(end piece)의 꼬리가 14~16 μm 이었다(Fig. 6G, H).

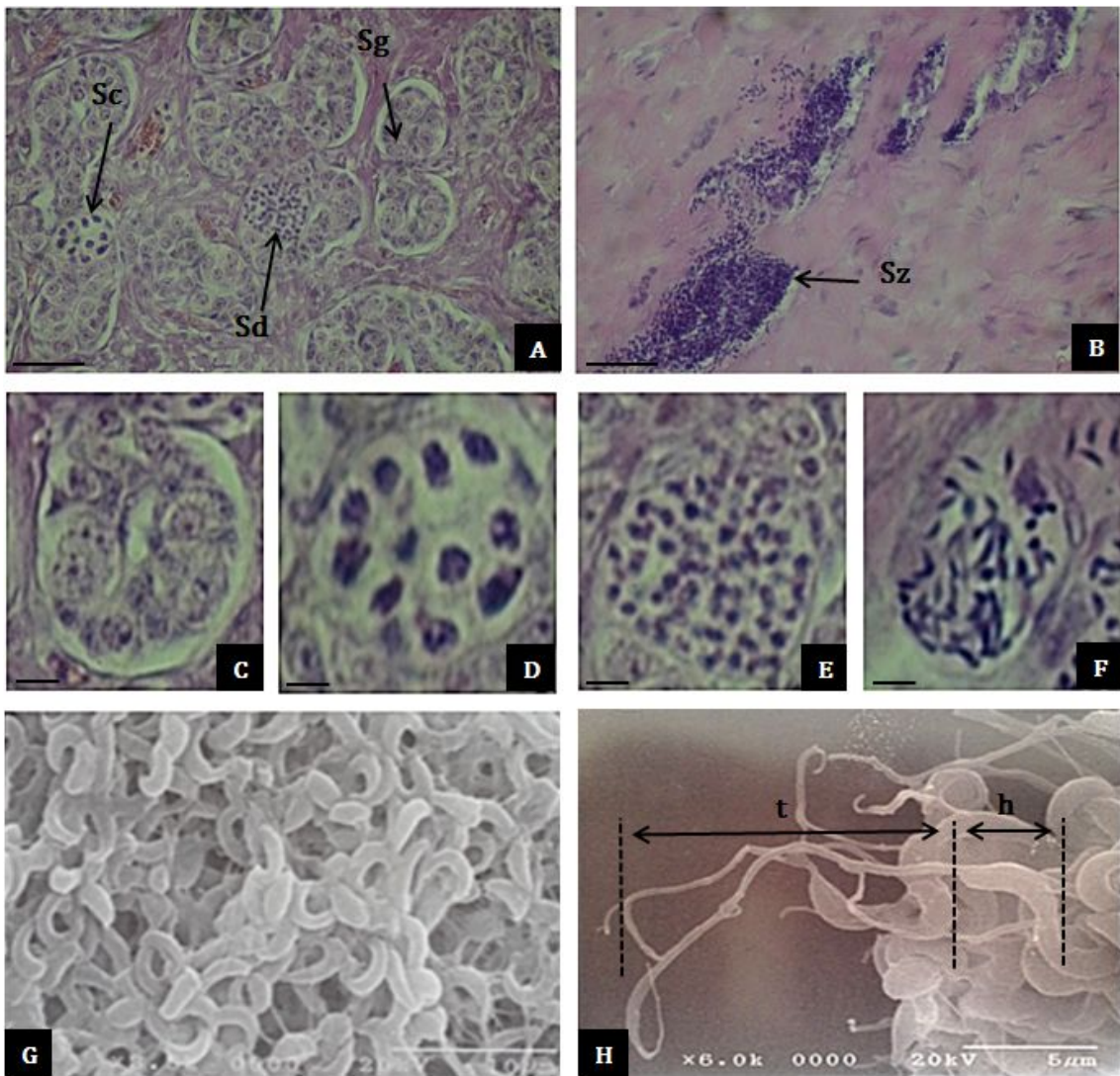


Fig. 6. Photomicrographs and electron microscope of sperm developmental stages of *A. japonica*. A: growing stage, scale bar = 10 μm . B: mature stage, scale bar = 10 μm . C: spermatogonia, scale bar = 5 μm . D: spermatocyte, scale bar = 5 μm . E: spermatid, scale bar = 5 μm . F: spermatozoa, scale bar = 5 μm . G: electronic micrographs of spermatozoa group. H: electronic micrographs of Spermatozoa. h: head, 4 μm . t: tail, 14 μm . Sc: Spermatocyte, Sd: spermatid, Sz: Spermatozoa.

(2) 난 형성과정

난 형성 과정을 관찰하기 위해 담수구, 해수처리구 및 배란 후 뱀장어 생식소를 절취하여 성 성숙상태를 조직학적인 방법으로 조사하였다.

염색인기의 난모세포는 난경이 약 10 μm 내외로 세포질 대부분을 차지하는 큰 핵을 가지고 있으며 haematoxylin에 짙게 염색되는 단일 인이 분포하였다(Fig. 7A). 주변인기 난모세포는 난경이 40~80 μm 로 핵막을 따라 인이 분산되어 관찰 되었다(Fig. 7B).

유구기 난모세포는 난경이 약 80~180 μm 로 핵주변의 세포질에 유구가 출현하며 유구기 초기에는 핵을 따라 공포상의 유구가 위치하였다. 난모세포 들이 성장함에 따라 세포질 전역에 유구가 산재하였다(Fig. 7C). 핵과 세포질이 증가하여 난경이 약 200~400 μm 에 이르면 세포질에 난황구가 축척 되어 난황구기 난모세포로 발달하였다(Fig. 7D). 후기 난황구기 난모세포들은 난경이 400~700 μm 로 성숙하였고 난황구와 공포상의 유구들이 분포하였다(Fig. 7E).

핵 이동기의 난모세포들은 난경이 약 700~850 μm 이상으로 발달되었으며 핵막이 거치화 되면서 핵이 동물극 쪽으로 이동하였다(Fig. 7F, G).

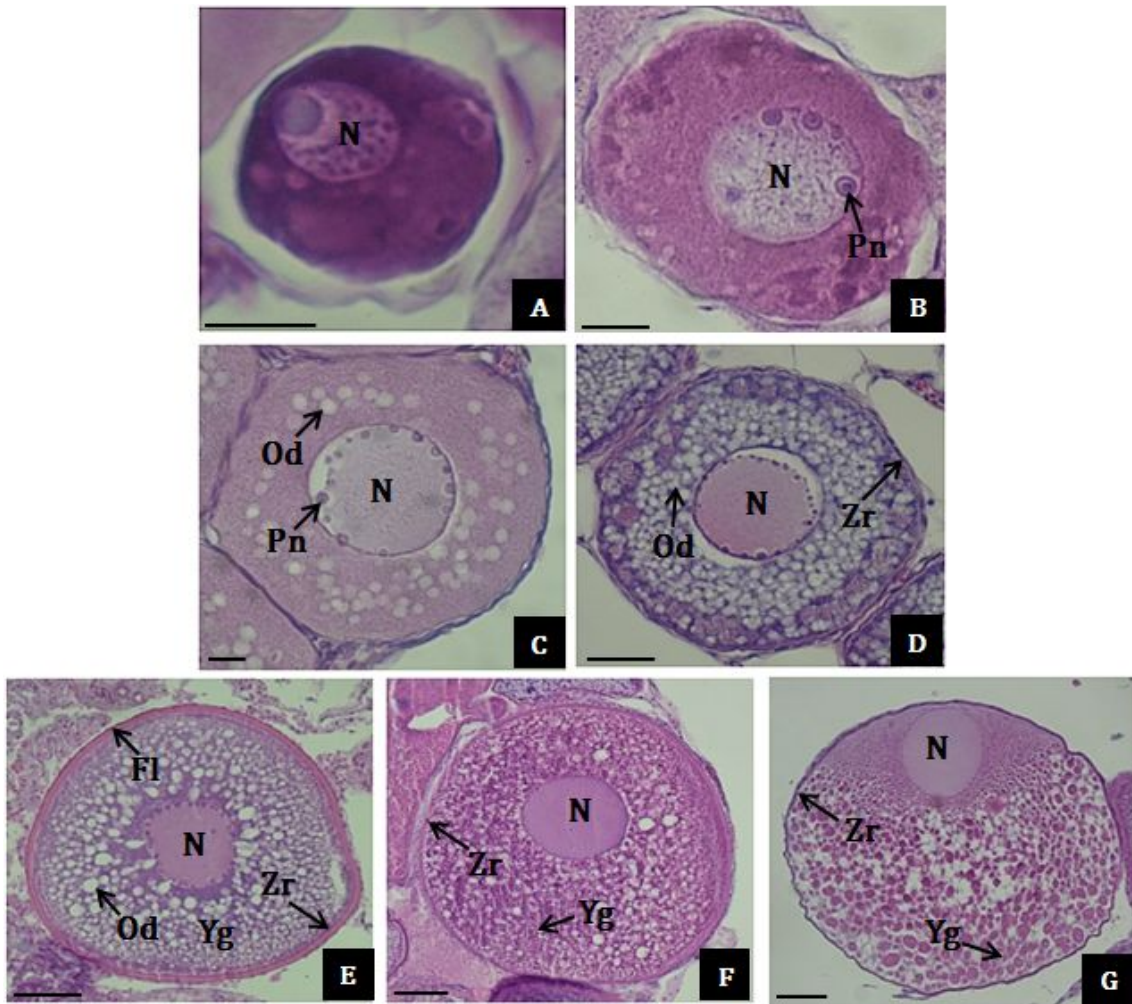


Fig. 7. Photomicrographs of ovarian developmental stages of *A. japonica*. A: early perinucleolus stage, scale bar = 10 μm B: perinucleolus stage, scale bar = 10 μm C: oil droplet stage, scale bar = 50 μm D: vitellogenic stage, scale bar = 50 μm E: vitellogenic stage, scale bar = 50 μm F: migratory nucleus stage, scale bar = 100 μm . G: migratory nucleus stage (overripe), scale bar = 100 μm . Fl: follicle layer, Yg: yolk globules, N: nucleus, Od: oil droplet, Pn: perinucleolus, Zr: zona radiata.

3. 해수순치 전후 기관 조직의 세포변화

1) 아가미

담수구의 아가미와 해수 처리구의 아가미를 절취하여 새변의 기부에 나타나는 염류세포 및 점액세포를 조직학적인 방법으로 비교 검경하였다.

담수 아가미의 염류세포와 점액세포는 타원형의 형태로 관찰되었고, 점액세포는 2차 새변의 기저부 사이마다 관찰되지만 염류세포는 드물게 관찰되었다(Fig. 8A, B, E).

해수처리구의 아가미는 담수구보다 1차 새변 및 2차 새변의 상피세포층이 얇아지고 염류세포의 수가 증가하는 현상이 관찰되었지만 점액세포는 관찰되지 않았다(Fig. 8C, D, F).

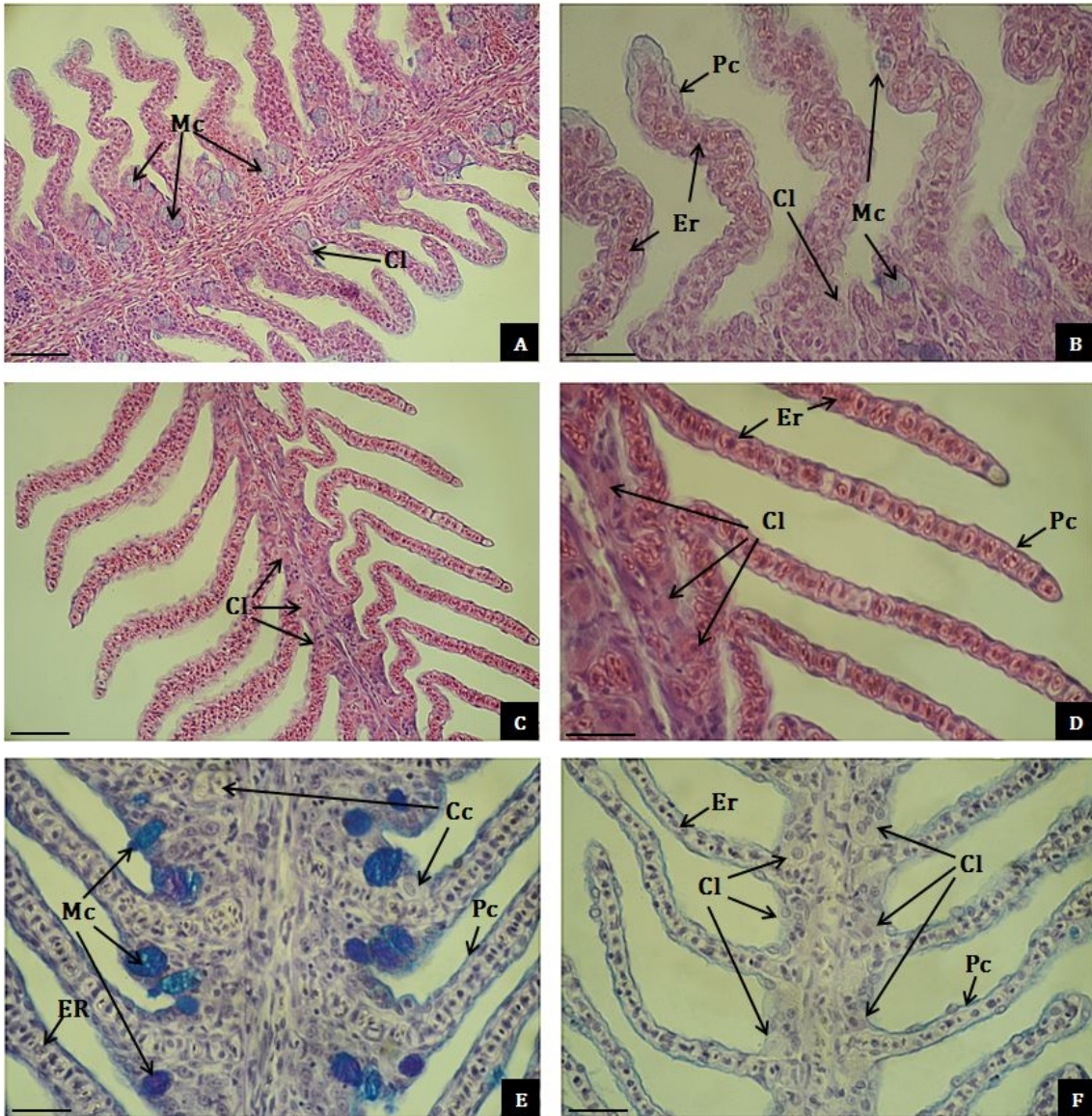


Fig. 8. Photomicrographs of gills of *A. japonica* reared under fresh water condition (A, B and E) and seawater condition (C, D and F).

Cl: chloride cell, Er: erythrocytes, Mc: mucous cell, Pc: pavement cell. Scale bars indicate 100 μm in A and C. Scale bars indicate 50 μm in B, D, E and F.

2) 피부조직

담수구와 해수처리구의 뱀장어 피부를 절취하여 체외 점액질을 분비하는 점액세포를 조직학적인 방법으로 비교 검경하였다.

담수구 뱀장어의 점액세포는 표피의 각 층에서 관찰되었다. 표피표면의 표층 점액세포가 가장 풍부하게 관찰되었으며, 중간층 점액세포는 표층점액세포보다 분포 개수가 낮게 관찰되었다. 기저점액세포는 기저세포층에 작은 크기로 관찰되었다(Fig. 9A, B, E).

해수 처리구의 뱀장어 표피에서도 점액세포들이 관찰되었다. 표피의 점액세포들은 해수순치 전과 비교하여 볼 때 표층, 중간층, 기저층 모든 층에서 담수 실험구보다 분포하는 점액세포수가 감소하는 경향이 관찰되었다(Fig. 9C, D, F).

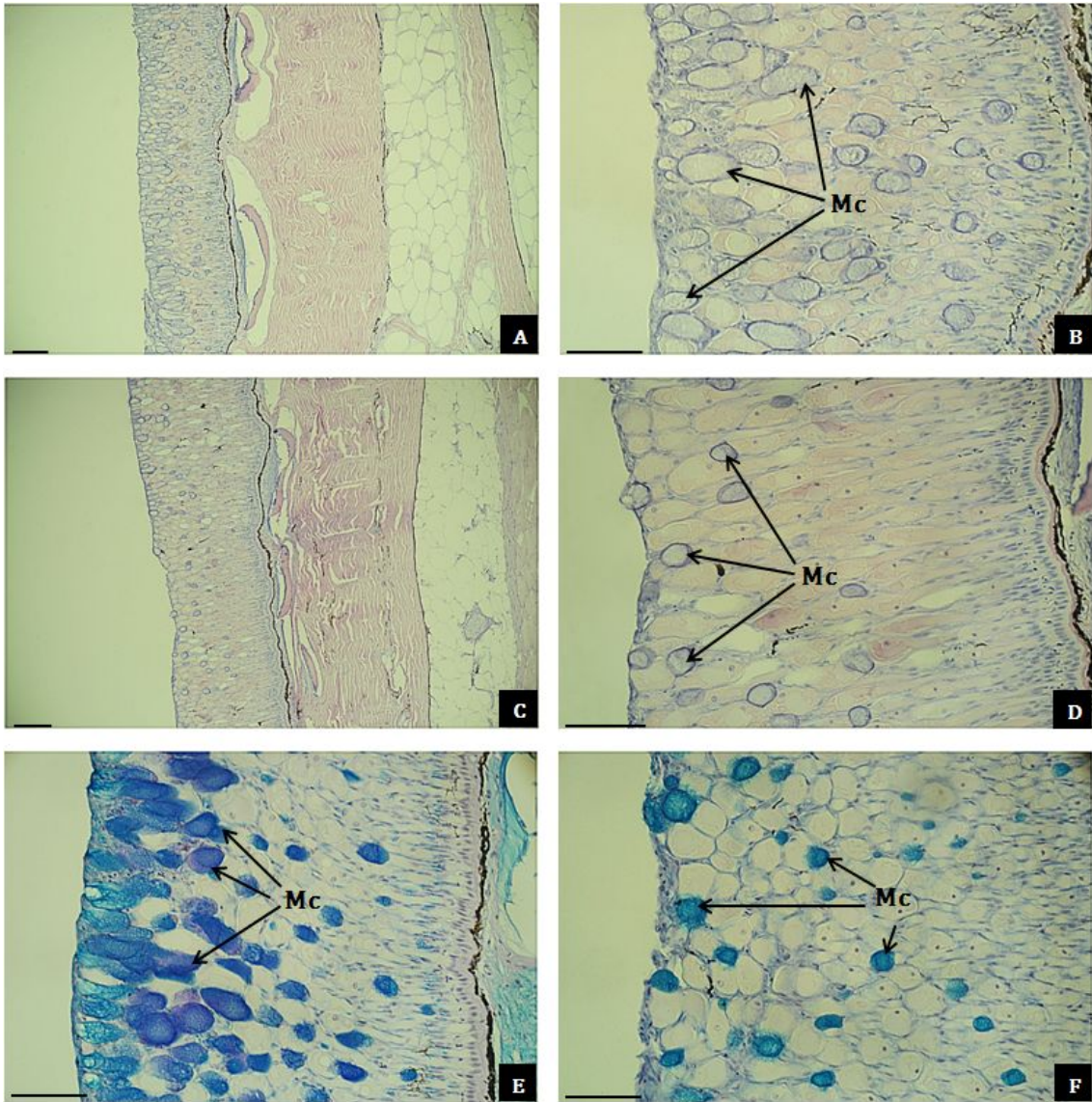


Fig. 9. Photomicrographs of mucous cells in the skin of *A. japonica* reared under fresh water condition (A, B and E) and seawater condition (C, D and F). Mc: mucous cell. Scale bars indicate 200 μm in A and C. Scale bars indicate 100 μm in B, D, E and F.

3) 신장

신장은 여분의 수분과 전해질의 흡수 및 분비를 담당하는 세뇨관을 중심으로 조직학적인 방법으로 관찰하였다. 담수 실험어의 신장과 해수 처리구의 뱀장어 신장을 절취하여 조직절편 $1000 \times 1000 \mu\text{m}^2$ 내의 세뇨관의 수를 조직학적인 방법으로 비교 검경하였다(Fig. 10A, B).

담수 처리구의 세뇨관은 69.6 ± 7.3 개, 해수처리구 99 ± 4.2 개로 해수처리구에서 세뇨관의 수가 유의적으로 높게 관찰되었다(Fig. 11).

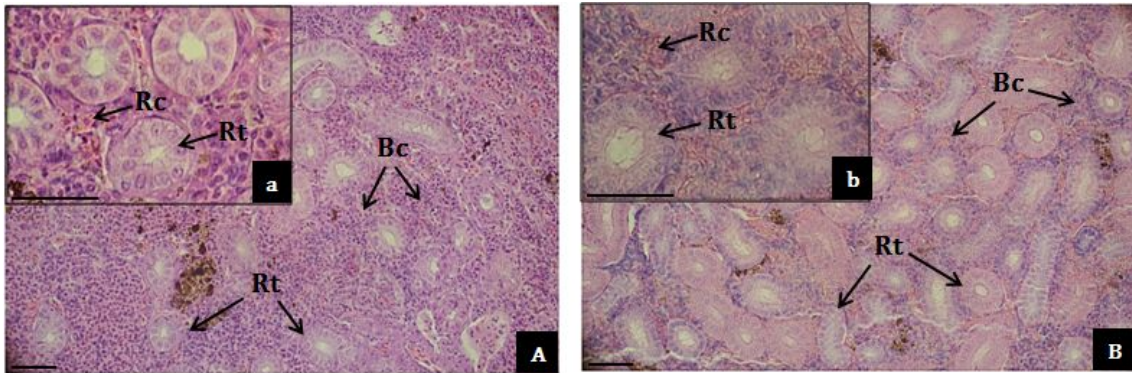


Fig. 10. Photomicrographs of renal tubule in the kidney of *A. japonica*.
A: fresh water condition, B: seawater condition, Bc: blood cell, Rc: red blood cell. Rt: renal tubule. Magnified renal tubules are shown in a and b. Scale bars indicate 200 μ m.

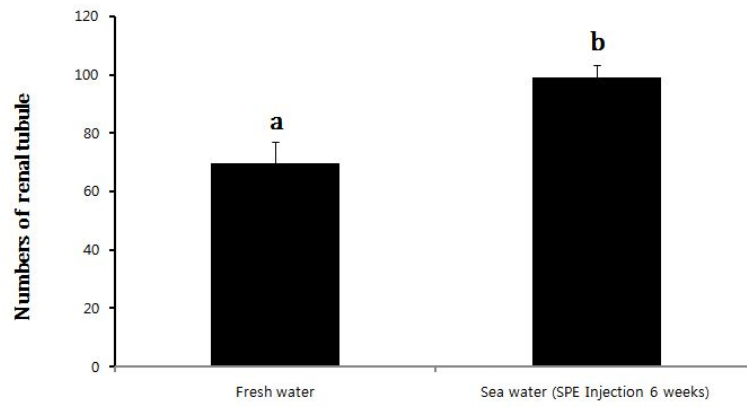


Fig. 11. Numbers of renal tubule in the kidney of *A. japonica*. Different superscript on the bars are significantly different ($P < 0.05$).

4) 간세포

담수구의 간, 해수처리구 및 배란 후 뱀장어의 간을 절취하여 해수순치 전후시기와 배란시기의 간세포와 핵의 크기변화를 조직절편 $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ 내에서 조직학적인 방법으로 비교 검경 하였다.

담수에서의 간세포는 세포질의 간격이 없이 조밀하게 분포하였다(Fig. 12A). 조사한 조직절편 $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ 의 간세포수는 3176 ± 20 개 핵의 크기는 $2.47 \pm 0.1 \mu\text{m}$ 로 관찰되었다.

해수처리구의 간세포는 세포질의 면적이 증가하였으며, 담수의 간세포에서 관찰되지 않은 지방구가 분포하였다(Fig. 12B). 반경 내의 간세포수는 1612 ± 63 개로 유의적으로 세포수가 감소하였고 핵의 크기는 $4.51 \pm 0.2 \mu\text{m}$ 로 관찰되었다.

배란 후 간세포는 지방구가 소실되어 세포질이 축소되고 불규칙한 배열로 분포하였다(Fig. 12C). 반경 내의 간세포수는 1787 ± 59 개이며, 핵의 크기는 $6.9 \pm 0.1 \mu\text{m}$ 로 관찰되었다(Fig. 13).

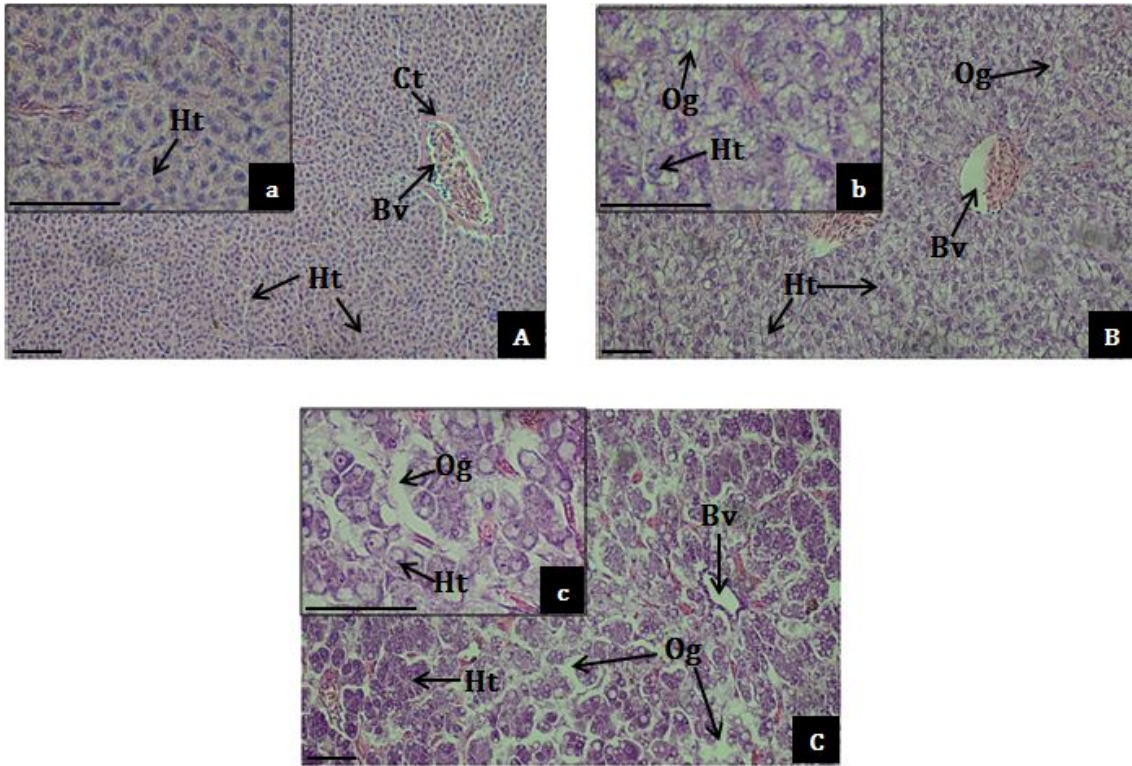


Fig. 12. Photomicrographs of hepatocytes in the liver of *A. japonica*.
 A: fresh water condition, B: seawater condition, C: after ovulation,
 Bv: blood vessel, Ct: connective tissue, Ht: hepatocytes, Og: oil globule.
 Magnified hepatocytes are shown in a, b and c. Scale bars indicate 50 μm .

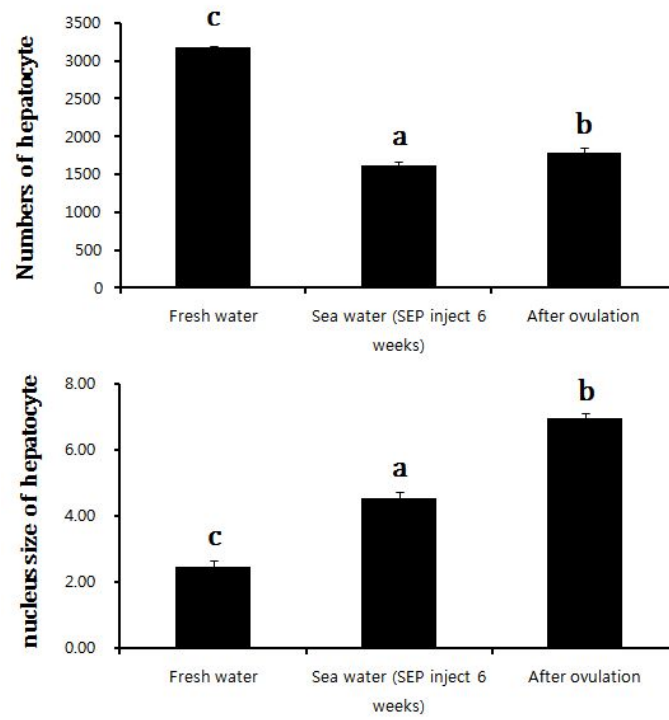


Fig. 13. Changes in number and nucleus size of hepatocyte in the liver of *A. japonica*. Different superscript on the bars are significantly different ($P < 0.05$).

5) 소화관

담수구, 해수 처리구, 배란 후 뱀장어의 소화관을 절취하여 식도, 전장부, 중장부, 후장부로 나누어 각 부위별 소화관의 배상세포, 점막주름, 근육층의 변화양상을 조직학적인 방법으로 비교 검경 하였다.

담수처리구 뱀장어의 배상세포는 소화관의 식도, 전장부, 중장부, 후장부의 점막주름 상피층을 따라 전체적으로 고르게 분포 하였다(Fig. 14). 담수 소화관 부위별 배상세포의 수는 식도(1,693±52), 전장부(2,141±123), 중장부(2,702±49), 후장부(1,143±69)개로 관찰되었다. 근육층의 두께는 식도(39.4±4.8 μm), 전장부(19.4±3.6 μm), 중장부(24.0±2.9 μm), 후장부(24.2±4.1 μm)로 관찰 되었다(Fig. 20), 점막주름의 길이는 식도(118.8±21 μm), 전장부(232.0±37.7 μm), 중장부(152.8±10.1 μm), 후장부(96.0±43.3 μm)로 관찰되었다(Fig. 17).

해수 처리구 소화관 부위별 전체 배상세포의 수는 식도(525±109), 전장부(1241±130), 중장부(1349±98), 후장부(901±47)개로 관찰되었다(Fig. 15). 근육층의 두께는 식도(37.0±7.2 μm), 전장부(30.2±10.0 μm), 중장부(11.4±1.1 μm), 후장부(11.4±1.5 μm)로 관찰 되었다(Fig. A), 점막주름의 길이는 식도(88.8±24.9 μm), 전장부(186.0±8.4 μm), 중장부(91.6±5.5 μm), 후장부(66.6±21.2 μm)로 관찰되었다. 담수군에 비해 해수처리구 소화관의 배상세포, 점막주름, 근육층 두께가 감소하였다(Fig. 17).

배란 후 소화관 배상세포의 수는 식도(840±82), 전장부(728±87), 중장부(473±46), 후장부(348±48)로 관찰되었다(Fig. 16). 배상세포의 수는 해수 처리구 보다 감소하는 경향이 관찰되었다. 소화관의 근육층의 두께는 식도(24.4±7.3 μm), 전장부(11.8±0.8 μm), 중장부(8.2±0.8 μm), 후장부(10.4±0.9 μm)로 관찰 되었다. 점막주름의 길이는 식도(83.4±15.3 μm), 전장부(103.0±17.8 μm), 중장부(47.2±3.0 μm), 후장부(40.0±10.7 μm)로 관찰되었다. 배란 후 소화관은 담수구와 해수처리구에 비해 배상세포의 수가 유의적으로 감소하였고 소화관 점막주름 및 근육층의 두께가 유의적으로 축소되는 경향이 관찰되었다(Fig. 17).

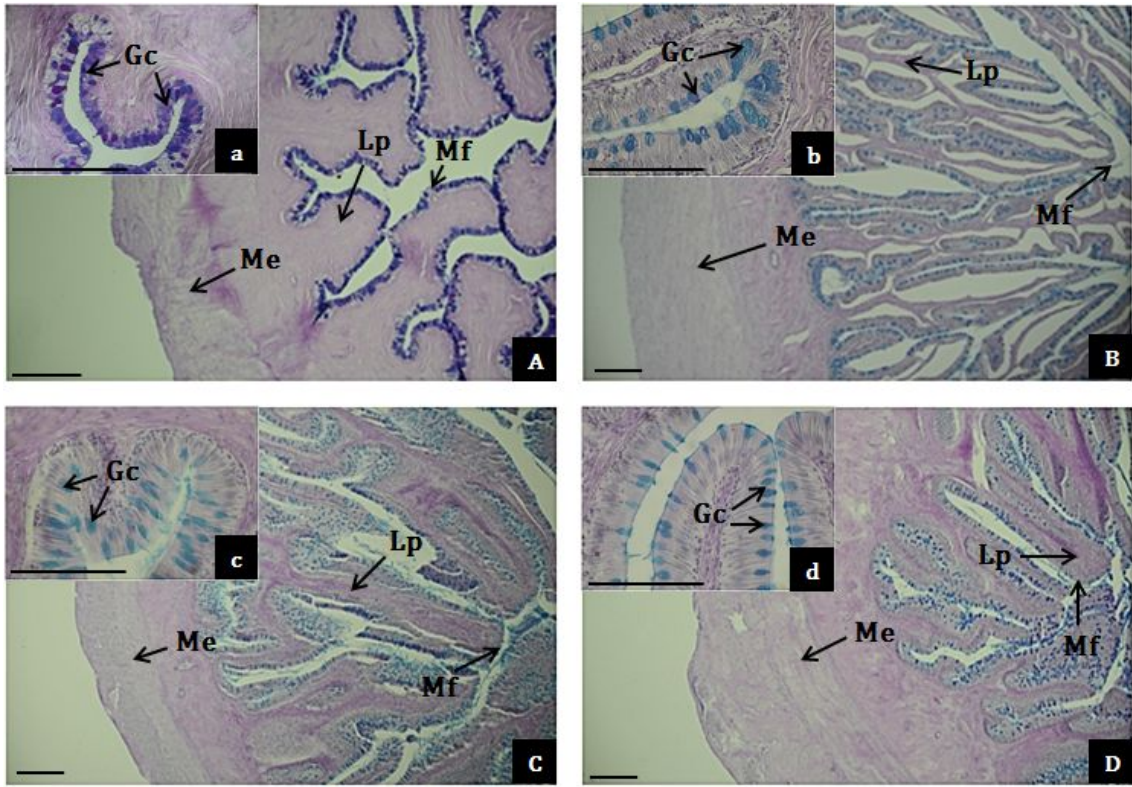


Fig. 14. Photomicrographs of digestive tract of *A. japonica* reared under fresh water condition.

A: esophagus, B: anterior intestine portion, C: mid intestine portion, D: posterior intestine portion, Gc: goblet cell, Lp: lamina propria, Me: muscularis externa, Mf: mucosal fold. Magnified goblet cells are shown in a, b, c and d. Scale bars indicate 20 μm .

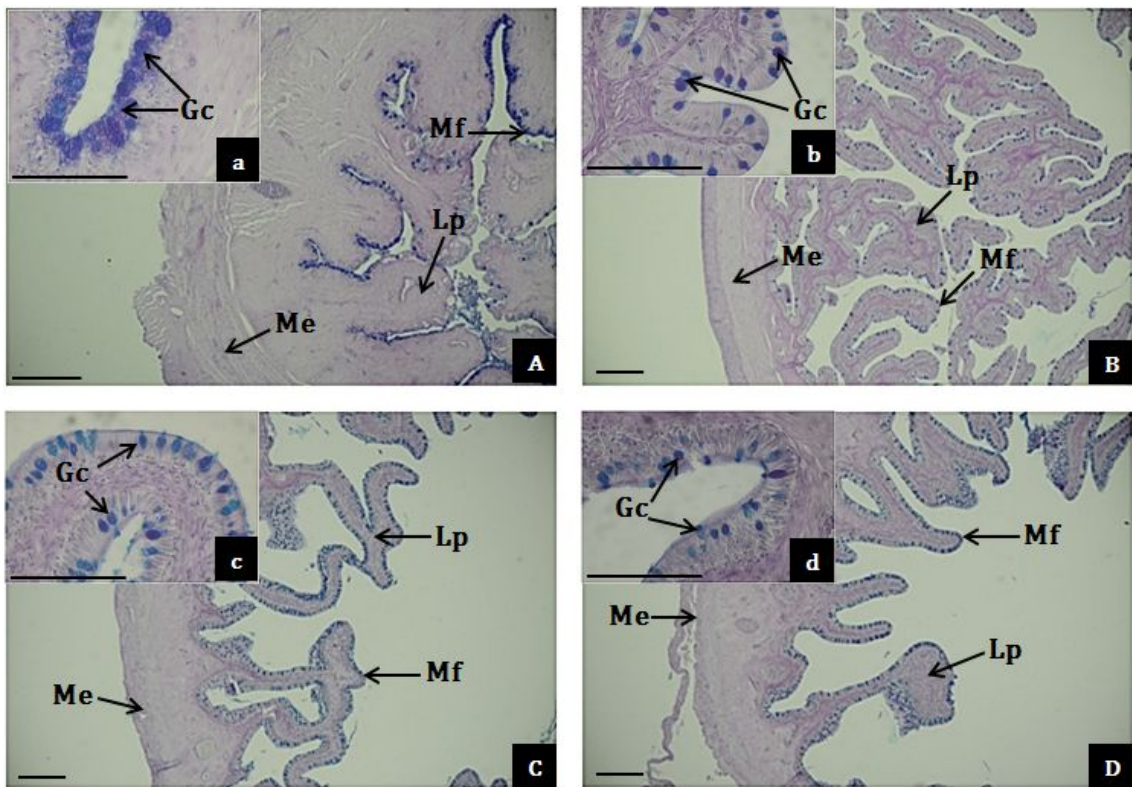


Fig. 15. Photomicrographs of digestive tract of *A. japonica* reared under seawater condition.

A: esophagus, B: anterior intestine portion, C: mid intestine portion, D: posterior intestine portion, Gc: goblet cell, Lp: lamina propria, Me: muscularis externa, Mf: mucosal fold. Magnified goblet cells are shown in a, b, c and d. Scale bars indicate 20 μm .

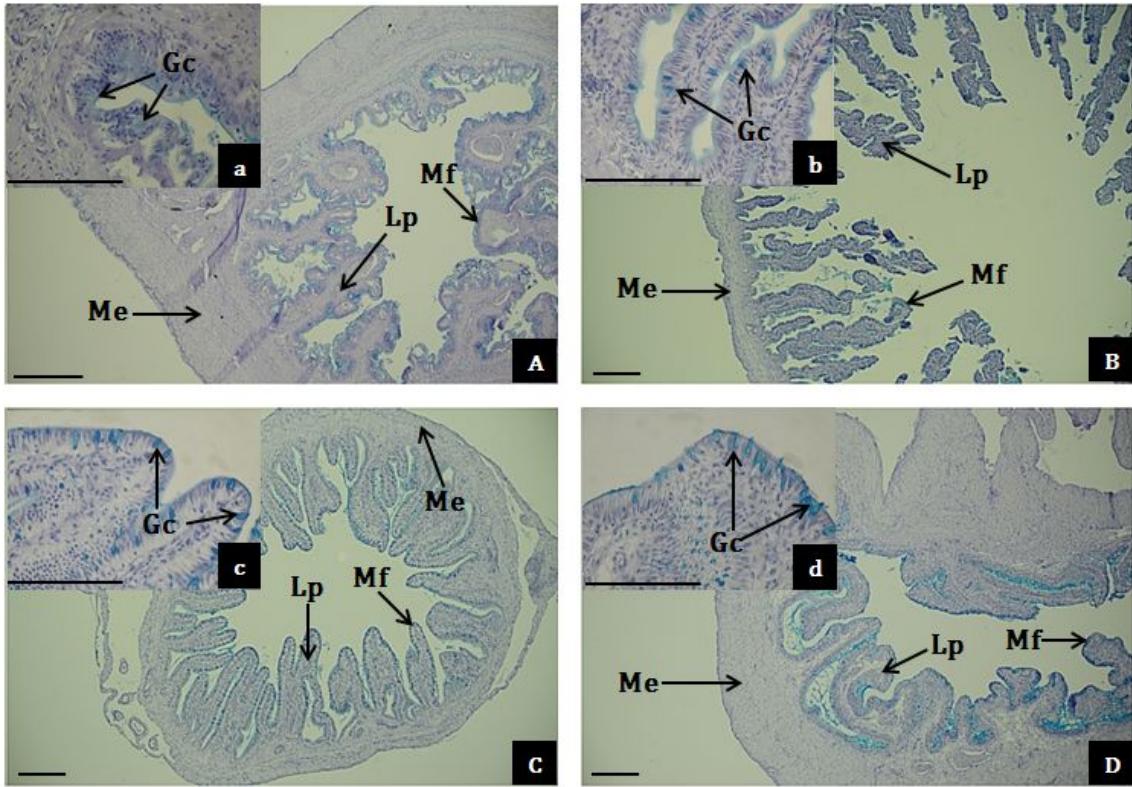


Fig. 16. Photomicrographs of digestive tract of *A. japonica* after ovulation. A: esophagus, B: anterior intestine portion, C: mid intestine portion, D: posterior intestine portion, Gc: goblet cell, Lp: lamina propria, Me: muscularis externa, Mf: mucosal fold. Magnified goblet cells are shown in a, b, c and d. Scale bars indicate 20 μm .

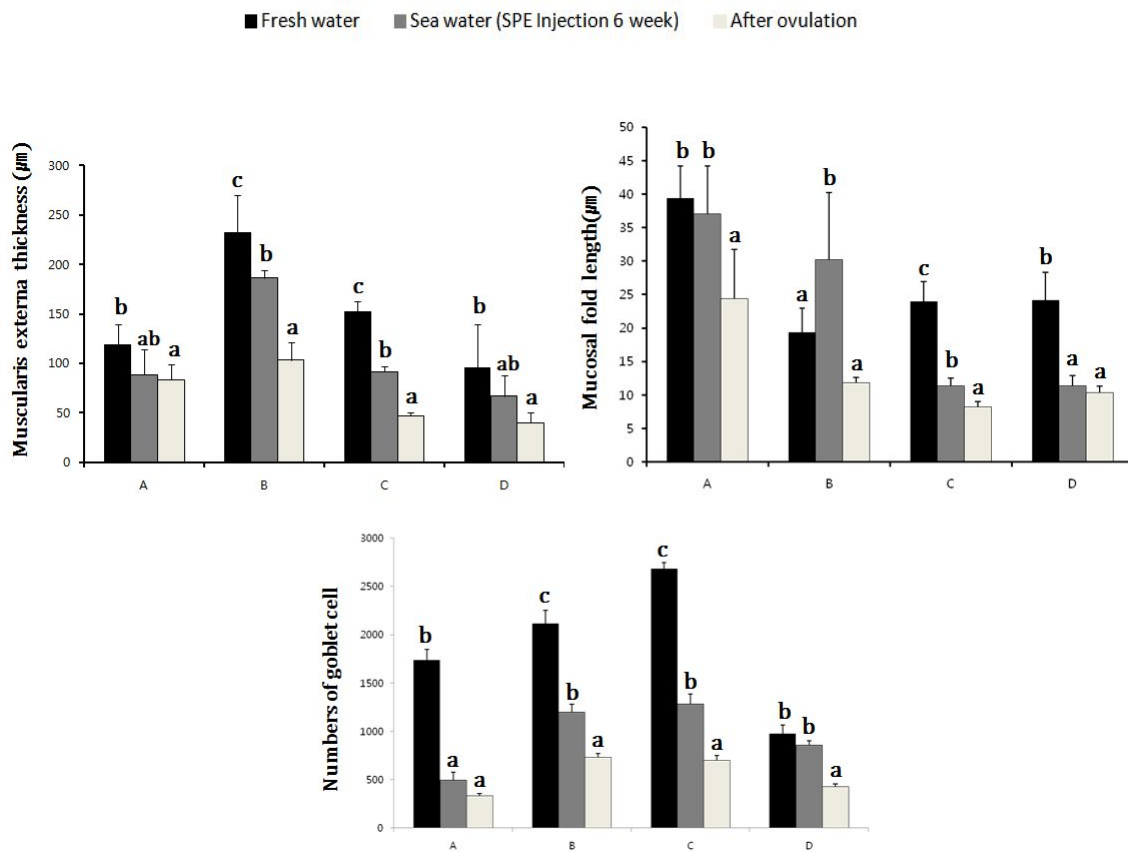


Fig. 17. Changes of goblet cell, muscularis externa and mucosal fold of the digestive tract of *A. japonica*.

A: esophagus, B: anterior intestine portion, C: mid intestine portion, D: posterior intestine portion. Different superscript on the bars are significantly different ($P < 0.05$).

IV. 고찰

어류의 성 성숙 및 산란을 제어하는 요인으로 내적 요인과 함께 환경요인으로 광주기와 수온이 깊이 관여하고(Nish, 1979), 대부분 어류는 광주기의 계절적 변화 패턴에 따라 생식 활동 특성을 가진다(Aida 1991; Bromega et al., 2001).

Tzeng et al. (1996)에 의하면 양식산 뱀장어를 수조에 20마리/m²의 양식밀도로 사육한 결과 40~55cm의 범위 내에서는 수컷의 비가 높았으며, 60cm 이상에서는 암컷의 비가 높다. 이러한 연구결과를 고려하여 암컷 성 성숙유도를 위하여 연구에 사용한 실험어는 평균길이 70.1±2.3 cm, 평균 체중 727±74g의 양식산 뱀장어를 사용하였다.

어류의 성 성숙과 산란은 뇌-뇌하수체-생식선의 축(Brain-Pituitary-Gonad axis; B-P-G axis)으로 이루어져 있으며 외부 환경요인에 자극을 받은 뇌의 시상하부에서 GnRH가 분비되고 뇌하수체에서 분비되는 Gonadotropic hormone(GTH; 생식선 자극 호르몬)의 자극에 의해 Follicle stimulating hormone(FSH; 여포자극호르몬)과 Luteinizing hormone(LH; 황체 형성 호르몬)의 분비를 촉진한다. 암컷에 있어 FSH는 성숙초기에 여포세포의 난황축척에 관여하며, LH는 성숙후기 난의 최종성숙과 배란을 조절하는 것으로 알려져 있다(Schulz, 1995, Nagahama, 2000).

Gonadotropins(GTH)의 일종인 human chorionic gonadotropin(HCG)는 11-KT 합성을 유도, 11-KT는 정원세포의 분화를 유도한다. 성숙과정에서 P전구체가 합성되어 정자내의 20β-hydroxy steroid dehydrogenase(20β-HSD)의 작용에 의해 pH를 상승시켜 정자의 성숙을 유도한다(Miura et al., 1991, 1991, 2003). 수컷의 정자는 HCG를 6~8 주간 복강주사 후 정자형성 및 배정을 유도하여 배우자형성과정을 관찰할 수 있었다.

이 연구에서는 해수순치 1개월 이후 인위적인 성 성숙을 통하여 뱀장어 10마리 중 5마리에서 성 성숙이 유도되었다. 성 성숙이 유도되지 않은 실험어는 담수시기의 생식소 발달이 미흡하여, 성 성숙에 영향을 미치지 못하는 것으로 추측된다. 이전 연구에서는 양식산 뱀장어를 대상으로 3개월 해수순치 하여 생식소의 발달을 유도한 결과 GSI증가와 난황형성이 유도 되어 자연에서의 암컷 뱀장어가 산란을 위해 바다로 내려갈 시기의 생식소 발달단계와 유사하다고 보고하였다(Kagawa et al., 1998). 이 연구에서는 양질의 수정란 생산은 할 수 없었지만 1개월의 해수순치로 성 성숙이 유도되

었다. 이러한 결과는 해수순치의 기간보다는 초기 생식소 상태에 따라 성 성숙에 미치는 영향이 큰 것으로 사료된다.

어류의 아가미는 서식환경에 따른 삼투조절 기능을 담당하며, 특히 아가미의 염류세포가 중요한 역할을 한다(Keys and Willmer, 1932). 2차 새변의 기부에 나타나는 염류세포는 해산경골어류에서 Na^+ , Cl^- 를 배설하는 곳으로(Payan et al., 1984), 해산어의 아가미염류세포는 체내의 과잉염을 외부로 배설하기 위한 기능을 담당하고 있다(Walter and Bereiter, 1978). 아가미의 점액세포는 아가미 상피 표면에 점액물질을 분비하여 점액층을 형성하는 세포로 아가미 상피와 외계 환경수와의 사이에서 방어적 기능을 가지고 있으며, 점액층을 통하여 CO_2 와 암모니아 배설, 이온조절 및 가스교환을 담당한다(Jakowska, 1963; Handy and Eddy, 1991). 다른 환경에 서식하는 3종 *Pleuronectes platessa*, *Platichthys fleus*, *Salmo gairdneri*의 아가미 점액세포에서 점액구성물의 차이는, 담수산의 무지개 송어와 기수에 서식하는 넙치종류는 산성점액을 더 많이 함유 하고 있다(Fletcher et al., 1976).

Utida (1971)의 연구에서 뱀장어를 담수에서의 해수로 이동시 1주 동안 염류세포의 수가 6배 증가 하였고, 다시 담수로 이동시 염류세포는 감소하여 4주 후 초기 염류세포의 수로 줄어들며, 이러한 현상은 Na^+ , K^+ -ATPase의 활성이 해수에서 뛰어나 이온 수송에 관여하는 염류세포의 수가 증가한다고 보고하였다. 또한 담수의 수중환경에서는 수분의 흡수를 조절하여 이온 수송 능력이 활성화 되어 Na^+ , K^+ -ATPase의 활성은 억제 된다고 보고 하였다(McCormick et al., 1995).

이 연구에서는 뱀장어의 아가미 점액세포는 Alcian Blue(AB, pH 2.5)에 양성 반응을 보여, 산성의 당단백질을 함유하고 있다. 점액세포는 담수구에서 아가미의 2차 새변 기저부에 타원형으로 고르게 분포한 반면 해수처리구의 아가미에서는 점액세포가 관찰되지 않았다. 염류세포는 담수구에서 드물게 발견된 반면 해수처리구의 염류세포의 수가 급격하게 증가하는 현상이 관찰되었다. 이 연구에서도 뱀장어의 아가미는 해수에서는 Na^+ , K^+ -ATPase의 활성으로 체내 항상성을 유지시키며, 담수에서는 수분의 흡수로 이온 조절을 담당하는 것으로 사료된다.

뱀장어 피부의 점액세포 역할은 상피보호 및 박테리아와 다른 병원균에 대한 방어 및 삼투 기능에 있어 중요한 역할을 한다(Allen et al., 1986, Gupta, 1989; Smith, 1989; Loretz, 1995). 담수구의 피부의 표피 점액세포는 기저점 부위와 표피까지 고르게 분포 한 반면 해수처리구의 표피 점액세포의 분포밀도는 줄어드는 현

상이 관찰되었다. Park et al., (1995)의 연구에서 담수에서 해수로 이동하는 동안 표피의 점액세포가 증가하는 경향이 보고되었다. 따라서 뱀장어의 해수순치 기간 및 성 성숙에 따른 표피의 변화에 점액세포에 대한 연구는 추후 세부적인 연구가 더 필요하다고 사료된다. 경골어류의 신장은 체내외의 염분과 수분의 적절한 균형을 유지하는 기관이다(Yasutake and Wales, 1983). 물과 이온 등을 마신 해수어류는 1가 이온(Na^+ , Cl^- , K^+)을 소화관 벽에서 흡수하여 아가미에서 배출하고, 2가 이온(Mg^{2+} , Ca^{2+})은 소화관 내에 축적되어 신장에서 배출된다(Kirsch and Meister, 1982). 담수경골어류의 신장은 사구체낭과 사구체로 구성되는 신소체와 경부세뇨관, 근위세뇨관, 원위세뇨관으로 구성되어 있다. 대부분의 해수 경골어류는 원위세뇨관이 없으며, 이러한 현상은 해수경골어류의 높은 삼투압에서 생활하고 있는 환경적응현상으로 보인다.

이 연구에서는 담수구와 해수처리구의 뱀장어 신장의 세뇨관을 검경한 결과 담수에서 보다 해수 처리구의 세뇨관이 증가하는 수치를 나타내었다. Endo and Kimura (1985)의 연구에서는 담수의 뱀장어를 해수에 10일간 처리한 결과 해수 처리구의 세뇨관은 줄어드는 경향을 나타내었지만 2, 4일후 뱀장어는 해수에 적응하여 새로운 세뇨관이 생성되어 높은 물 투과성을 보인다고 보고하였다. 뱀장어는 삼투압 적응능력이 매우 뛰어난 어류에 속하며, 산란지의 특성으로 장기간 높은 삼투압에 노출되어 유영하기 때문에 끊임없는 수분의 손실에 대한 방책으로 해수에서 세뇨관이 증가양상을 보이며, 수분 배출에 대한 재흡수 작용을 필요로 하는 환경적응으로 사료된다.

어류에서의 간은 주로 담즙의 합성과 분비를 하며 간세포는 glycogen의 축적 및 지방의 축적 하는 기능을 가지고 있다. 또한 어류의 혈액, 젖산, 지질 및 간의 glycogen의 변화로 스트레스의 여부를 판정하기도 하며(Schreck 1982), 어체의 생리활성에 있어 지표가 되기도 한다(Wedemeyer and Mcleay, 1981). 해수순치와 같은 환경요인의 변화 및 인위적 성 성숙유도에 따른 변화가 관찰되었다. Strussmann and Takashima (1990)는 청어과 어류인 pejerrey, (*Odontesthes bonariensis*) 자어의 기아시 간세포는 크기가 작아지는 반면 분포밀도는 높아지는 현상이 관찰되었다. 또한 연어(*Oncorhynchus keta*) 및 넙치(*Paralichthys olivaceus*)에서도 기아시 간세포의 크기가 작아지고 분포밀도는 높아지는 연구결과를 보고하였다(Park, 2006; Seong et al., 2012). 대부분의 어류는 기아시 간세포는 줄어드는

현상을 보이는데 본 실험에서의 실험어 또한 먹이를 먹지 않은 상태이지만 인위적인 성 성숙유도를 통해 간세포는 증대되는 현상이 관찰되었다. Okumura (2001)는 뱀장어의 인위적인 성 성숙 시기의 혈중 Vitellogenin의 변화와 간세포의 변화 연구에서 호르몬처리 이후 VTG와 간세포의 세포질은 증가한다고 보고하였다. 간에서 합성되어지는 난황전구물질 Vitellogenin (VTG)은 생식소 발달에 필요한 성특이 단백질이며 난소에서 분비된 estradiol-17b (E_2)는 간세포 내에서 결합 후 핵 내 유전자를 활성화시켜 VTG를 합성하며, 혈중으로 방출된 VTG는 생식소에 영양물질로 유입되어 성성숙을 유도시킨다(Wallace, 1985; Mommsen and Walsh 1988). 대부분의 어류는 E_2 만으로 VTG합성이 유도되지만 뱀장어의 VTG합성은 E_2 없이 성장호르몬(growth hormone, GH)의 단독처리로는 VTG합성을 유도하지 못하며, E_2 단독에 의한 VTG 합성능력은 매우 미미하여, GH 또는 prolactin과 함께 존재할 때 합성능력이 향상되는 것이 보고되었다(Kwon and Mugiya, 1994; Peyon et al., 1996).

간세포는 인위적인 성 성숙유도에 따른 실험어의 환경조절로 간세포에 축적되어 있는 지방이 성 성숙 에너지원으로 동원되어 간에서의 에너지 과다 소비 및 VTG, 합성에 의한 기관의 조직변화가 일어났음을 추측한다.

소화관은 먹이섭취를 통한 성장과 성 성숙에 필요한 영양분의 소화 및 흡수라는 측면에서 아주 중요한 기능을 담당하고 있다(Hur, 2013). 어류의 소화관 상피층의 배상세포에서 점액분비가 이루어진다(Kapoor et al., 1975; Ostos Garrido et al., 1993). 배상세포는 어류를 포함한 척추동물의 소화효율에 중요한 역할을 담당하며(Osman and Caceci, 1991; Domeneghini et al., 2005), 예방과 흡수, 단백질 분해촉진, 박테리아와 다른 병원균에 대한 방어 및 삼투 기능에 있어 중요한 역할을 한다(Allen et al., 1986, Gupta, 1989, Smith, 1989, Loretz, 1995). 뱀장어와 같이 상업적 가치가 높은 어류의 소화관에 관한 연구는 어류양식에 있어 매우 중요해지고 있으며(Ostos MV. 1996), 이전의 연구에서 *Monopterus albus*, *Pseudopleuronectes americanus*, *Salmo gairdneri*의 기아시 소화관의 점막주름 감소, 소화관의 형태 및 구조변화가 일어나며, 근육층의 두께 및 점막주름의 감소가 보고되었다(Liem, 1967; MacLeod, 1978; Hall and Bellwood, 1995). 하지만 뱀장어의 소화관에 대한 변동양상에 대한 연구는 미흡한 실정이다.

소화관은 식도, 전장부, 중장부, 후장부로 나누어 각 부위별 소화관의 배상세포, 점막주름, 근육층의 변화양상을 비교 검경한 결과 배란 후 소화관의 배상세포의 수

담수구에 비해 유의적으로 감소하였고, 소화관 점막주름 및 근육층의 두께가 유의적으로 축소되었다. 이처럼 소화관 근조직층 및 점막주름의 수축은 성 성숙시기 먹이를 먹지 않는 뱀장어의 특이성과 성 성숙에 필요한 에너지 소모로 인한 현상으로 사료 된다.

추후 성 성숙 유도의 측면과 먹이공급 유무에 따른 소화관특성에 관한 비교 연구가 수행되어야 할 것으로 생각된다.

V. 요약

뱀장어(*Anguilla japonica*)는 담수에서 성장하다 산란하기 위하여 바다로 이동하는 강하성 어류이다. 이 연구에서는 뱀장어의 인위적 성 성숙 유도에 따른 배우자 형성과정과 해수에 적응하는 뱀장어의 기관별 반응을 관찰하였다.

성 성숙 유도에 이용한 암컷 뱀장어는(평균 전장 70.1 ± 2.3 cm, 평균 체중 727 ± 74 g) 10마리 실험에 이용하였고 salmon pituitary extracts(SPE)를 매주 1회 처리하여 8~12 주후 성 성숙이 유도되어 배우자 형성과정을 관찰하였다. 수컷 실험어는 매주 human chronic gonadotropin (HCG)를 처리하여 6~8주후 배정이 유도되어 정자형성과정을 관찰하였다.

담수구, 해수처리구의 기관별 반응을 알아보기(평균 전장 62 ± 2 cm, 평균 체중 578 ± 43 g)의 실험어 25마리를 이용하여 아가미, 피부, 신장, 간, 소화관을 이용하여 비교 관찰하였다.

아가미는 담수구에서 많은 수의 점액세포가 상피층에 존재하였고, 염류세포는 드물게 관찰되었다. 해수처리구에서 점액세포는 관찰되지 않았고 염류세포의 수가 증가하였다. 피부는 담수구 표피의 각 층에서 점액세포가 관찰되었고, 해수처리구 뱀장어 피부층에 점액세포는 감소하는 경향을 나타냈다. 신장은 조직절편 $1000 \times 1000 \mu\text{m}^2$ 내의 세뇨관의 수를 조직학적인 방법으로 검정한 결과 해수처리구의 세뇨관의 수가 유의적으로 높게 관찰되었다. 간은 반경 $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ 내의 간세포를 관찰하였다. 해수처리구 뱀장어의 간세포질이 담수구에 비해 증가하였으며 많은 지방구가 관찰되었다. 배란후 간은 간세포질의 지방구가 소실되어 세포질이 축소되는 경향을 보였다. 소화관은 식도, 전장부, 중장부, 후장부로 나누어 각 부위별 소화관의 배상세포, 점막주름, 근육층의 변화양상을 비교 검정한 결과 배란 후 소화관의 배상세포의 수가 담수구에 비해 유의적으로 감소하였고, 소화관 점막주름 및 근육층의 두께가 유의적으로 축소되었다. 추후 성 성숙 유도의 측면과 삼투압과 관련된 환경특성에 관한 비교 연구가 수행되어야 할 것으로 사료된다.

VI. 참고문헌

- Abaurrea and Ostos. 1996. Enterocytes in the anterior intestine of *Oncorhynchus mykiss* : Cytological characteristics. *Aquaculture*. 139 : 109-116.
- Aida K. 1991. Environmental regulation of reproductive rhythms in teleostei. *Bull. Inst. Zool., Academia Sinica, Monograph*. 16 : 173-187.
- Allen A, Hutton DA, Leonard AJ, Pearson JP, Sellar LA. 1986. The role of mucus in the protection of the gastroduodenal mucosa. *Scand J. Gastroenterol*. 21 : 71-77.
- Bromage N, M Porter and C Randall. 2001. The environmental regulation of maturation in farmed finfish with special reference to the role of photoperiod and melatonin. *Aquaculture*. 197 : 63-98.
- Domeneghini C, Pannelli Straini R, Veggetti A. 2005. Histochemical analysis of glycoconjugate secretion in the alimentary canal of *Anguilla anguilla* L. *Acta. Histochem*. 106 : 477-487.
- Endo and Kimura. 1985. Histological and Enzyme Histochemical Changes Found in the Renal Tubules of Eels Transferred from Freshwater to Sea water. *Japanes journal of ichthyology*. 33 : No. 1.
- Fletcher TC, R Jones and L Reid. 1976. Identification of glycoproteins in goblet cells of epidermis and gill of pla-ice (*Pleuronectes platessa* L.), flounder (*Platichthys fleus* L.) and rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richard-son). *Histochemical Journal*, 8 : 597-608.
- Gupta BL. 1989. The relationship of mucoid substances and ion and water transport, with new data on intestinal goblet cells and a model for gastric secretion. *Symp Soc Exp Biol*. 43 : 81-100.
- Hall KC, Bellwood DR. 1995. Histological effects of cyanide, stress and starvation on the intestinal mucosa of *Pomacentrus coelestis*, a marine aquarium fish species, *J. Fish Biol*. 47 : 438-454.
- Handy RD and Eddy FB. 1991. The absence of mucus on the secondary lamellae

- of unstressed rainbow trout, *Oncorhynchus mukiss* (Walbaum). J. Fish Biology. 38 : 153-155.
- Hur SW, Lee CH, Kim BH, Lee SH, Kim HB, Baek HJ, Lee YD, 2013. Characterization of cholecystokinin-producing cells and mucus-secreting gobletcells in the blacktip grouper, *Epinephelus fasciatus*. Tissue and Cell. 45 : 153-157.
- Yasutake WT and JH Wales. 1983. Microscopic anatomy of salmonids An atals. Department of the interior fish and wildlife service washington D.C. U.S.A, pp. 97.
- Jakowska S. 1963. Mucus secretion in fish—a note. Ann.N.Y. Acad. Sci. 106 : 458-462.
- Kagawa H, Iinuma N, Tanaka H, Ohta H and Okuzawa. 1998. Effects of rearing period in seawater on induced maturation in female Japanese eel, *Anguilla japonica*. Fish. Sci, 64: 77-82.
- Kagawa H, Kasuga Y, Asachi J, Nishi A, Hashimoto H, Imaizumi H, Kaji S. 2009. Effects of continuous administration of human chorionic gonadotropin, salmon pituitary extract, and gonadotropin-releasing hormone using osmotic pumps on induction of sexual maturation in male Japanese eel, *Anguilla japonica*. Aquaculture. 296 : 117-122.
- Kagawa H, Fujie N, Imaizumi H, Masuda Y, Oda K, Adachi J, Nishi A, Hashimoto H, Teruya K, Kaji S. 2013. Using osmotic pumps to deliver hormones to induce sexual maturation of female japanese eels, *Anguilla japonica*. Aquaculture. 388-391 : 30-34.
- Kapoor BG, Smit H and Verighlna IA. 1975. The alimentary canal and digestion in teleost. Advances in Marine Biology. 13 : 109-239.
- Keys A and Willmer. 1932. Chloride secreting cells in the gill of fishes with special refernce to the common eel. J. Physiol. Lond. 76 : 368-377.
- Kim DJ, Kim YC, Choi YK, Son MH, Lee JU, Park MS and Heo YS. 2009. Effects of Rearing Condition during the Winter Period on Artificial Maturation and Reproduction of Cultured Female Eel, *Anguilla japonica*.

- Dev. Reprod. 13 : 35-41.
- Kim DJ, Park WD, Sohn YC, Bae JY, Yoon SJ, Son MH, Makito and Han CH. 2008. Maturation Induction by Manchurian Trout Recombinant Gonadotropin Hormone (mt-rGTH) in Female Eel, *Anguilla japonica*. Dev. Reprod. 12 : 261-266.
- Kirsch R and Meister M.F. 1982. Progressive processing of ingested water in the gut of seawater teleosts. J. Exp. Biology. 98 : 67-81.
- Kwon HC, Mugiya Y. 1994. Involvement of growth hormone and prolactin in the induction of vitellogenin synthesis in primary hepatocyte culture in the eel, *Anguilla japonica*. Gen Comp Endocrinol. 93 : 51-60.
- Kwon ON and Adachi S. 2008. Biochemical Overripeness Characterization of Artificially Maturated Japanese Eel *Anguilla japonica* Egg. J. Aquaculture. 21(3) : 176-180.
- Laurent P and Dunel S. 1980. Morphology of gill epithelia in fish. Am. J. Physiol. 238 : 147-159.
- Liem KF. 1967. Functional morphology of the integumentary, respiratory, and digestive systems of the synbranchoid fish *Monopterus albus*. Copeia 1967 : 375-388.
- Loretz CA. 1995. Electrophysiology of ion transport in teleost intestinal cells. In Wood CH, Shuttleworth TJ editors. Cellular and molecular approaches to fish ionic regulation. London, UK: Academic, pp. 25-56.
- Macleod MG. 1978. Effects of salinity and starvation on the alimentary canal anatomy of the rainbow trout *Salmo gairdneri* Richardson. J. Fish Biology. 12 : 71-79.
- McCormick SD, Hoar WS and Randall. 1995. Hormonal control of gill Na⁺,K⁺-ATPase and chloride cell function. Fish Physiology, Vol. 14. Academic Press, San Diego, pp. 285-731.
- Min BH. 2003. Physiological responses of black seabream, *Acanthopagrus schlegelii* to freshwater acclimation. Master thesis, Pukyong National University, Busan, Korea, pp. 55.

- Miura T, Yamauchi K, Nagahama Y and Takahashi H. 1991a. Induction of spermatogenesis in male Japanese eel, *Anguilla japonica* by asingleinjection of human chorionic gonadotropin. Zool. Sci, 8 : 63-73.
- Miura T, Yamauchi K, Takahashi H and Nagahama Y. 1991b. Human chorionic gonadotropin induces all stages of spermatogenesis *in vitro* in the male Japanese eel (*Anguilla japonica*). Dev. Biology. 146 : 258-262.
- Miura T, Miura C and Yamauchi K. 2003. Spermatogenesis in the Japanese eel. (in) K. Aida, K. Tsukamoto and K. Yamauchi (eds.), Eel Biology. Springer-Verlag, Tokyo, pp. 319-329.
- Mommsen TP, Walsh PJ. 1988. Vitellogenesis and oocyte assembly. In Physiology (W.S. Hoar and DJ Randall, Eds.), Vol. XIA, pp. 347-406.
- Nagahama Y and Yamamoto K. 1973. Cytological changes in the adenohipophysis of freach water cultivated male Japanese eel, *Anguilla japonica* induced to maturation by transfer to sea water and synahorin injection. Bull, Jap, Soc, Sci. Fish, 39 : 585-594.
- Nagahama Y. 2000. Gonadal steroid hormones: major regulators of gonadal sex differentiation and gametogenesis in fish. In: Norberg, B., Kjesbu, O. S., Taranger, G. L., Andersson, E., Stefansson, S. O.(Eds.), Proceeding of the 6th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish, Bergen, pp. 211-222.
- Nish K. 1979. A daily rhythm in the photosensitive development of the in the bitterling, *Rhodeus ocellatus ocellatus*. Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 30 : 109-115.
- Osman AHK, Caceci T. 1991. Histology of the stomach of *Tilapia nilotica*(Linnaeus, 1758)from the River Nile. J. Fish Biol. 38 : 211-223.
- Ostos Garrido MN, Tortes MI and Equisoain MA. 1993. Histological, histochemical and ultrastructural analysis of the gastric mucosa in *Oncorhynchus mykiss*. Aquaculture. 115 : 121-132.
- Ohta H, Kagawa H, Tanaka H, Okuzawa K and Hirose K. 1996. Changes in fertilization and hatching rates with time after ovulation induced by 17,20

- β -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. Aquaculture. 139 : 291-301.
- Okumura H. 2001. Changes in serum vitelogenin levels and immunohistochemical localization of vitellogenin in hepatic cell during ovarian development in the Japanese eel. Fisheries science. 67 : 880-887.
- Otake T, Nogami K, Maruyama K. 1993. Dissolved and particulate organic matter as possible food source for eel leptocephali. Mar. Ecol Prog. Ser. 92 : 27-34.
- Payan P, Girard JP and Gostan N. 1984. Branchialion movements in teleosts; the roles of respiratory and chloride cells. In: Hoar, W.S. and D.J Randall(ed.), Fish Physiology. XB. Academic Press, New York, pp. 36-63.
- Park IS, Kim JJ, JO UB and Park SO. 1995. Fine Structural Changes in Eel Epidermis According to seawater adaptation. Mucous cell & Club cell. K. J. Zool. Vol. 38, NO. 1.
- Park IS. 2006. Histological Changes of Hepatocyte and Intestinal Epithelium during Starvation in Olive Flounder *Paralichthys olivaceus*. J. Kor. fish. Soc. 39 : 303-307.
- Peyon P, Baloche S, Gerard E. 1996. Potentiating effect of growth hormone on vitellogenin synthesis induced by 17β -estradiol in primary culture of female silver eel (*Anguilla anguilla L.*) hepatocytes. Gen Comp Endocrinol. 102 : 263-273.
- Walter K, Schwerdtfeger and Bereiter-Hahn J. 1978. Transient occurrence of chloride cells in the abdominal epidermis of the guppy, *Poecilia reticulata* Peters, adapted to seawater. Cell tiss. 191 : 463-471.
- Schulz RW. 1995. Physiology, morphological, and molecular aspects of gonadotropins in fish with special reference to the African catfish, *Clarias gariepinus*. (in) Reproductive Physiology of Fish (eds.) Goetz, F. W. and P. Thomas, Fish Symposium 95. Austin, Texas, pp. 2-6.
- Seong KB, Park IS, Goo IB and Kim DS. 2012. Effects of Starvation on the Morphometric Characteristics and Histological Changes in Chum Salmon

- (*Oncorhynchus keta*)Fry. Ocean and Polar Researc. Volume 34, Issue ,2, pp. 165-173.
- Smith LS. 1989. Digestive functions in teleost fishes. In: Halver JE editor. Fish nutrition. San Diego, Academic. 331-421.
- Strussmann CA and Takashima F 1990. Hepatocyte nuclear size and nutritional co-ndition of starved pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (Cuvier et Valenciennes). J. Fish Biology. 36 : 59-65.
- Tanaka H, Kagawa H and Ohta H. 2001. Production of leptocephali of Japanese eel. *Anguilla japonica* in captivity. aquaculture, 201 : 51-60.
- Tanaka H, Kagawa H, Ohta H, Unuma T and Nomura. 2003. The first production of glass eel in captivity : fish reproductive physiology facilitates great progress in aquaculture. Fish Physiol, 28 : 493-497.
- Tsukamoto K. 2006. Spawning of eels near a seamount. Nature, 439(23), 929.
- Tzeng WN. 1996. Short-and long term fluctuations in catches of elvers of the Japans eel, *anguilla paponica*. D. A. Hancock, D. C. Smith, A. Gant and J. B. Beumer, Developing and sustaining world fisheries resources, the state of science and management. 2nd world fisheries compass proceedings. CSIRO publishing, victoria, australia, pp. 11-128.
- Utida S, Kamiya and Shirai. 1971. Relationship between the activity of Na⁺-activated adenosinetriphosphatase and the number of chloride cell in eel gills with special reference to seawater adaptation. Comparative Biochemistry and Physiology. Vol. 38, 443-446.
- Yamamoto K and Yamauchi K. 1974. Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. Nature. 251 : 220-221.
- Wallace RA. 1985. Vitellogenin and oocyte growth in non-mammalian vetebrates. In Developmental Biology. Vol. 1, pp. 127-177.
- Wedemeyer GA and McLeay DJ. 1981. Methods for the assessment of the effects of environmental stress. pp. 247-275.

감사의 글

직장을 그만두고 새로운 도전을 시작한 지가 엇그제 같은데 벌써 졸업이라고 이렇게 감사의 글을 쓰고 있습니다. 부족한 저를 무르익게 도와주신 소중한 분들께 감사의 글을 올리고자 합니다.

먼저 학부, 대학원 과정동안 뱀장어 종묘생산의 모험심을 품은 저에게 아낌없는 지원과 믿음을 주시고 지도학생 이상으로 아껴주시며, 학문적인 기초와 훈련이 모자란 제자의 글을 소중한 시간을 쪼개어 검토해 주신 이영돈 지도교수님께 존경과 깊은 감사를 드립니다. 바쁘신 와중에도 논문심사를 맞아주신 여인규 교수님, 이경준 교수님 논문에 대한 유익한 말씀과 충고가 많은 도움이 되었습니다. 진심으로 감사드립니다. 또한 수업시간 열정적인 강의를 보여주셨던 최광식 교수님, 김기영 교수님, 정준범 교수님께 너무나 감사하다는 말씀을 드리고 싶습니다.

4년간 즐거웠던 제주대학교 해양과환경연구소, 번식생물학 연구실 생활을 마무리 하며.... 전자현미경 스승님 김성훈 박사님, 항상 웃으며 따듯하게 다가오시는 송영보 박사님, 물심양면 많은 가르침을 주는 이치훈 박사님, 위닝 고수를 만들어 주신 박용주 박사님, 감동을 선물하시는 임봉수 박사님, 묵묵히 지켜봐 주시던 정형복 박사님, 언제나 큰 힘이 되어주고 애정 어린 구박을 아끼지 않았던 한결같이 친형같은 허상우 박사님과 형수님, 아낌없는 후배사랑의 표본 허성표 박사님, 멀리 있지만 가깝게 느껴지는 류용운 박사님, 연구소에 꼭 필요한 인재 형철이형, 언제나 도움이 필요할 때 달려와 주던 병훈이, 여러분들이 아니었으면 여전히 논문은 지지부진 했을 것이라는 점에서 제 논문 완성의 숨은 공로자들이 아닐까 싶습니다. 진심으로 감사드립니다.

제주대학교 해양과환경연구소에서 실험을 수행하는데 많은 도움을 주신 제주대학교 해양과환경연구소 변수철 선생님, 강태연 선생님, 진찬경 선생님, 조창환 선생님, 송경택 선생님, 임지일 선생님, 김선희님, 윤태석님에게도 진심으로 깊은 감사드립니다. 멀리서 힘이 되어주신 강원도립대학교 김형배 교수님, 김병기 교수님, 김재원 교수님, 박정환 교수님, 조교선생님 효일이형님이 없었더라면 여기까지 오지 못

했을 것입니다. 진심으로 깊은 감사드립니다. 평생 갚아도 모자랄 만큼 많은 것을 알려주신 김병직 박사님, 현근이, 효제에게 감사의 뜻을 전하고 싶습니다. 저의 실험에 대해 물심양면 아낌없이 많은 조언을 해주신 권오남 박사님, 김신권 박사님, 김대중 박사님께 깊은 감사드립니다. 또한 어디서나 잘 챙겨주시는 든든한 양현성 박사님, 김삼연 선배님 감사합니다. 선배이자 친구로 아낌없는 조언을 해준 현기, 원우, 남용아 고맙다. 형이라고 매번 괴롭혔던 사랑하는 동생들 수성이, 희중이, 희도, 유철이, 성원이, 동혁이, 용민이, 기수, 가영이 그리고 세상에서 가장 큰 선물을 안겨준 성현아 너무나도 고맙구나. 니들이 있었기에 학교생활의 추억이 배가 되었다. 그리고 초등학교부터 하나인 종암동 친구들.. 한팀 한팀 내려오지 말고 한번에 와라 힘들다..

제가 선택한 길을 이해하시고 묵묵히 지켜봐 주시며 못난 아들내미를 위해 밑바라지 해주신 아버지, 어머니에게 무한한 사랑과 감사의 마음을 전하며 보잘것없는 이 논문을 바칩니다. 베풀어 주신 은혜 잊지 않고 더욱 더 열심히 전진하겠습니다. 무뚝뚝한 성격이라 마음에만 담겨있던 사랑한단 말을 꺼내봅니다. 사랑합니다. 지금 이 순간에도 가족과 같이 저를 사랑으로 보호해주고 격려해주신 혜림이 아버지, 어머님께 진심으로 감사한 마음 전해드리고 싶습니다. 많이 부족한 나의 손을 잡고 같이 걸어준 세상에서 제일로 사랑하고 소중한 우리 혜림이 그동안 바쁘척해서 미안하고 사랑해...!! 마지막으로 너무나도 소중한 스승과 제자, 친구, 후배의 연을 이어준 제주 바다에게.. 감사합니다.

2013년 7월 이승현