

갈치의 난모세포 성숙에 대한 HCG의 *in vitro* 효과

강형철 · 김문관

I. 서 론

갈치(*Trichiurus lepturus*)는 농어목 갈치과의 어류로 우리나라 서해 와 남해, 전 세계의 온대와 열대 해역에 서식하는 난류성 어종이다(KIM et al., 2011).

갈치는 월동기간인 1~3월에 제주도 서남방과 동중국해 북부해역에 분포하며, 4월부터 북상하기 시작해 7~9월에는 남해안과 서해남부 연안에서 산란하는 것으로 알려져 있다(NFRDI, 2010). 또한 고등어, 멸치와 함께 국내 대표적 어획 대상종으로 1974년 16만6천여톤의 어획량을 기록했으며, 1980년대 12만톤 수준을 유지하다 2015년 41,049톤, 2016년 33,291톤으로 어획량이 감소하고 있어 자원회복이 시급한 실정이다.

국내외 갈치에 관한 연구는 자원변동(Zhang and Sohn, 1997), 자원평가 및 관리방안(Park et al., 2000), 분포와 회유(Park et al., 2002), 해황에 따른 어황변동(Baik and Park, 1986), 재생산 관한 연구(Park and Hwang, 1978) 등이 있으며, 번식생물학적 연구로는 생식주기에 따른 성호르몬 변화(Oryan et al., 1998)에 관한 보고가 있다.

경골어류에서 난모세포의 최종 성숙과 배란은 다양한 내분비 호르몬의 분비에 의해 조절된다. 우선 환경인자의 자극에 의해 뇌의 시상하부에서 생식소자극호르몬 방출호르몬(GnRH)이 분비되고, GnRH가 다시 뇌하수체의 생식소자극호르몬(GTH)을 분비하게 되며, GTH는 생식소로 전달되어 estrogen, testosterone 등과 같은 성 스테로이드 호르몬의 분비를 자극하게 됨으로써 난 성숙 또는 최종 배란을 유발하게 된다. 현재까지 *in vivo*와 *in vitro* 실험에 의해 경골어류에 있어 배란유도에 효과적 호르몬은 C21-steroid 호르몬과 이를 분비시키는 태반성 생식소자극호르몬(HCG)이 밝혀졌으며, 이중 HCG는 여러 경골어류에서 성숙유도 효과가 입증되었다.

본 연구에서는 현재까지 인위적 사육과 양식이 되지 않아 종자생산이 불가능한 갈치를 대상으로 어류의 최종성숙유도에 널리 사용되고 있는 HCG를 사용하여 난성숙 및 배란유도를 위한 농도별 효능 비교실험을 *in vitro* 상에서 실시하였다.

II. 재료 및 방법

1. 실험어

실험에 사용된 갈치는 10월 14~15일 제주 동부 근해에서 채낚기를 이용해 어획하였다. 실험어의 전장은 62~74cm, 체중은 223~301g 이었으며, 생식소 성숙지수(GSD)는 0.34~0.78 이었다(그림 1).



그림 1. 실험에 사용된 갈치와 채취된 난소

2. 난모세포 조직 배양

실험어는 2-phenoxyethanol로 마취시킨 후 무균상태에서 난소를 절취하여 iced-cold balanced water solution으로 세척하였다. 절취된 난소는 가는 핀셋을 이용하여 개체별로 난모세포를 조직 상태로 분리하였다. 분리된 난모세포는 24-well plate에 well당 Leibovitz L-15 medium (Gibco, USA) 1mL에 난소조직 10~20개를 넣은 후 20℃에서 42시간 배양하였다(그림 2).



그림 2. 갈치 난모세포 배양

HCG 농도는 5, 50, 500 IU/mL로 각 농도에 대하여 24시간과 42시간 후 난모세포의 크기변화를 조사하였다.

Ⅲ. 결 과

분리된 난모세포를 대상으로 HCG (5, 50, 500 IU/mL) 호르몬 자극에 의한 난모세포 크기변화는 그림 3과 같다. 실험 시작시 난모세포의 평균 난경은 $678 \pm 27 \mu\text{m}$ 이었으며, 24시간 후 호르몬을 첨가하지 않은 대조구의 경우 $704 \pm 38 \mu\text{m}$, HCG 5IU/mL $704 \pm 38 \mu\text{m}$, 50IU/mL $724 \pm 42 \mu\text{m}$, 500IU/mL $741 \pm 35 \mu\text{m}$ 이었다. 42시간 후 대조구의 경우 $710 \pm 27 \mu\text{m}$, HCG 5IU/mL $715 \pm 29 \mu\text{m}$, 50IU/mL $741 \pm 20 \mu\text{m}$, 500IU/mL $737 \pm 34 \mu\text{m}$ 로 시작시에 비해 24시간 후와 42시간에서 다소 크기가 증가하였으나, 각 처리구별 유의한 난모세포의 크기변화는 나타나지 않았다.

난모세포의 형태변화 조사에서도 난막에 의해 내부 유구와 핵의 관찰이 이루어지지 않았으며, 시간에 따른 형태변화와 크기변화는 이루어지지 않았다(그림 4).

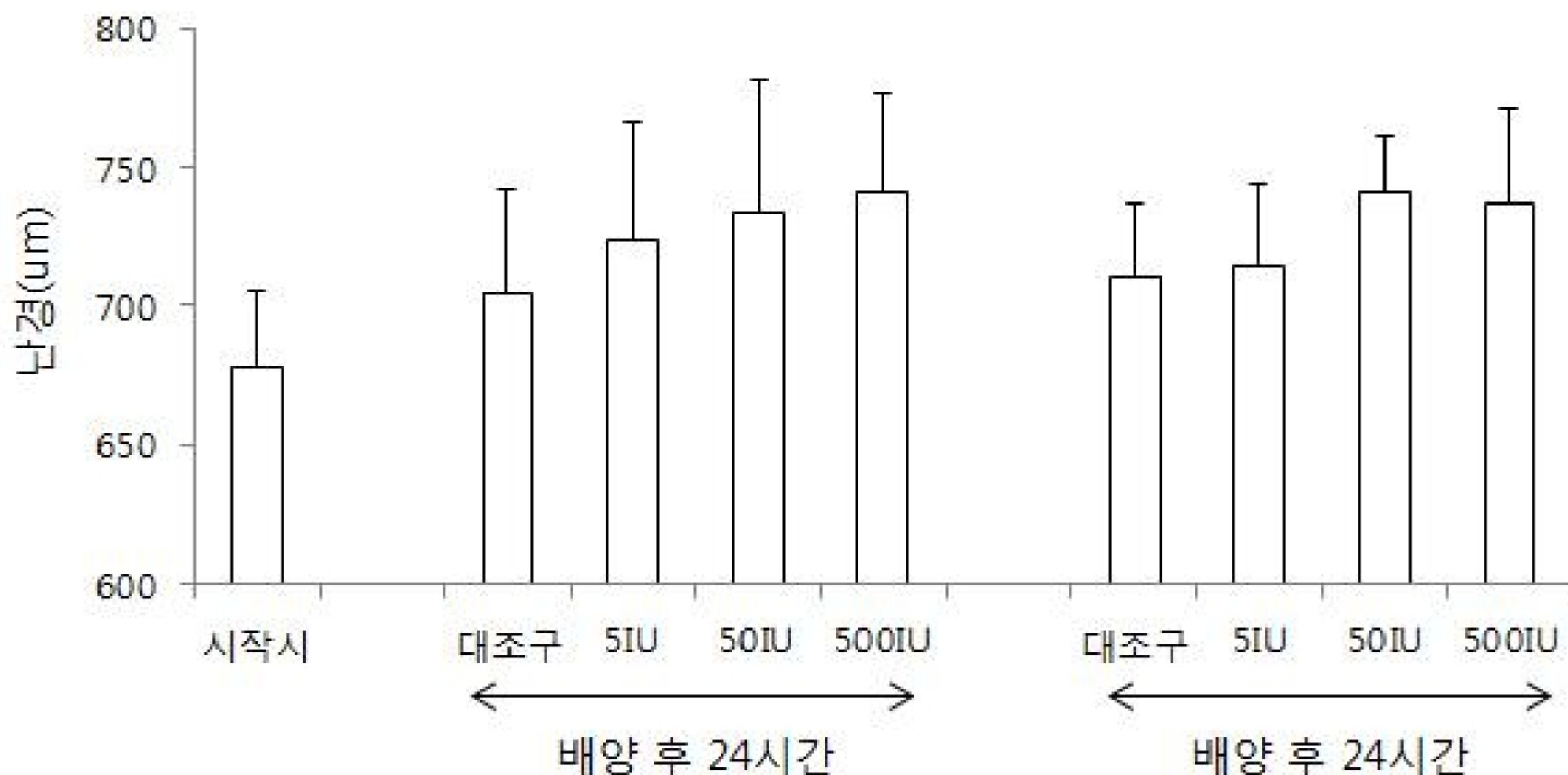


그림 3. 호르몬 농도별 시간에 따른 갈치 난모세포 크기변화.

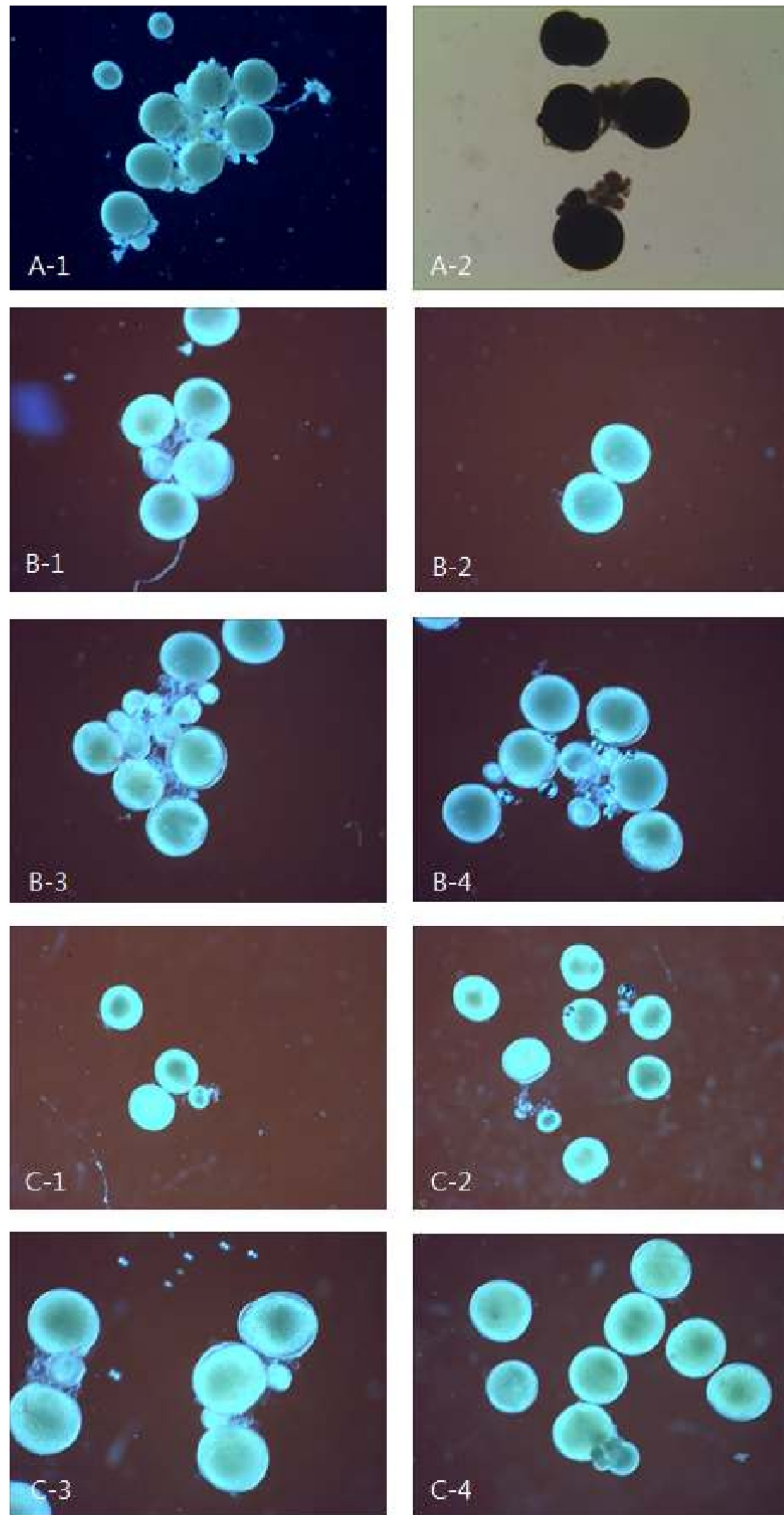


그림 4. 호르몬 농도별 시간에 따른 갈치 난모세포 형태변화. A-1: 시작시(1), A-2: 시작시(2), B-1: 배양 24시간 후 대조구, B-2: 배양 24시간 후 HCG 5IU, B-3: 배양 24시간 후 HCG 50IU, B-4: 배양 24시간 후 HCG 500IU, C-1: 배양 42시간 후 대조구, C-2: 배양 42시간 후 HCG 5IU, C-3: 배양 42시간 후 HCG 50IU, C-4: 배양 42시간 후 HCG 500IU.

IV. 고 찰

유용어종을 대상으로 계획적이고 안정적 종자생산을 위해서는 어미로부터 수정란 생산이 우선시되어야 한다. 돌돔, 넙치의 경우 수조내 자연산란이 이루어져 비교적 쉽게 수정란을 수거한 후 종자생산에 실시되나, 바리과 어류, 복어류 등과 같이 수조내 자연산란이 어려운 경우 인위적 호르몬 투여를 통해 성성숙 유도과 인공수정란 생산이 이루어진다. 이런 호르몬 투여에 의한 성성숙 유도는 어종에 따라 적합한 호르몬 종류와 농도 및 호르몬 처리에 반응할 수 있는 성숙단계를 파악해야하며 이와 같은 연구가 선행되지 않았을시 계획적인 수정란생산은 기대하기 어렵다.

In vitro 실험을 통한 호르몬 종류와 적정 농도의 조사는 직접 어체를 이용한 실험에 비해 여러 조건을 적용할 수 있어 현장에서의 시행착오를 최소화 할 수 있는 장점이 있어 동자개(Lim et al., 1997), 범가자미(Baek and Yoon, 1996), 농어(BAel et al., 1998), 홍바리(Kim and Baek, 2014) 등 여러 어종을 대상으로 연구가 실시되었다.

본 실험에 사용된 갈치의 난모세포는 조직학적 관찰을 통해 확인하지는 못하였지만, 평균 난경 678 μ m로 난황형성단기의 난모세포로 추정되었으며 HCG에 의한 최종 성숙이 가능할 것으로 판단되었다. 하지만 *in vitro* 실험결과 호르몬 농도별 처리구 모두에서 24시간 후와 42시간 후 대조구에 비해 유의적인 난모세포 난경변화가 이루어지지 않았으며, 외부형태 조사결과에서도 배란흔적이 관찰되지 않았다. 능성어 *Epinephelus septemfasciatus* 의 경우 HCG 투여에 따른 난경 크기변화를 *In vivo* 실험을 통해 조사하였을때 HCG 500 IU/kg 투여시, 처리 전 난경 300~500 μ m에서 24시간 후 난경 300~700 μ m, 48시간 후 800 μ m이상으로 성장하였으며(Song, 2004), 농어에서는 HCG 5IU, 50IU에서 GVBD 발생에 의한 배란율이 약 50%가 관찰되었다(Baek et al., 1998). 이처럼 *in vitro*와 *in vivo* 실험에서 호르몬 처리에 의해 난경의 크기변화와 형태적 변화에 의해 최종성숙이 확인되나, 본 실험에서는 대조구에 비해 난경 변화와 형태변화가 관찰되지 않아 향후 추가 실험시 호르몬 농도의 재설정 및 다양한 조건변화를 실시할 필요가 있을 것으로 사료된다.

V. 사 사

이 연구는 한국해양과학기술진흥원 수산실용화과제(과제번호 : 20150374, 갈치끝납시 어업 생력화 기술개발)의 지원에 의해 수행되었습니다.

VI. 참고문헌

- Baik CI and Park JH. 1986. Relationship between oceanographic conditions and catch of the hairtail, *Trichiurus lepturus* Linne from the stow net. Bull. Fish. Res. Dev. Agency. 39: 29-41.
- Baek HJ and Kim Y. 1996. Effect of Human Chorionic Gonadotropin (HCG) and Steroids on in vitro germinal vesicle breackdown in the spotted halibut, *Verasper variegatus*. J. Korean Aquaculture 9(1):57-63.
- Baek HJ, Kim HB, An CM, Myeong JI. 1998. In vitro effects of hormonal treatment on induced maturation and ovulation in the sea bass, *Lateolabrax japonicus*. J. Korean Aquaculture 11(1):119-124.
- Kim IS, Choi Y, Lee CL, Lee YJ, Kim BJ and Kim JH, 2011. Illustrated book of Korean fishes. Kyo-hak Publishing Co. Ltd., Seoul, Korea, pp. 615.
- Kim SK and Baek HJ. 2014. Steroid metabolism in the blacktip grouper *Epinephelus fasciatus* during oocyte vitellogenesis. J. Korean Fish. Soc. 47(6). 882-887.
- Lim SK, Baek HJ and Han CH. 1997. Effect of steroids and HCG on in vitro Maturation and ovulation of oocyte in Banded Catfish, *Pseudobagrus fulvidraco*. J. Korean Fish. Soc. 30(2), 203-210.
- NFRDI. 2010. Ecology and fishing ground of fisheries resources in Korean waters. Yaemoonsa, Busan, Korea, 7-18.
- Oryan SH, Parivar K, Yekrangian and Hosseinzadeh AH. 1998. Sex hormones changes in the reproductive cycle of female *Trichiurus lepturus*. Iranian. Fish Sci J 7, 6-13.
- Park CS and Hwang BI. 1978. A study on the maturity and spawning of the hairtail, *Trichiurus lepturus* Linnaeus in the South-Western waters of Korean. Bull. Fish. Res. Dev. Agency. 20: 15-56.
- Park CS, Hong BQ and Lee DW. 1996. Age and growth of hairtail, *Trichiurus lepturus* in Korean waters. Rep Res Nat' l Fish Res Dev Age 52, 15-24.
- Park CS, Lee DW, Kim ZG and Kang YJ. 2000. Stock assessment and management of the hairtail, *Trichiurus lepturus* Linnaeus, in Korean waters. J Kor Soc Fish Res 3, 29-38.

- Song. 2004. Induction of maturation and ovulation with HCG treatment in the sevenband grouper *Epineohelus septemfasciatus*. J. Korean Aquaculture 21(2):96-101.
- Zhang CI and Sohn MH. 1997. A study on the stock assessment and management implications of the hairtail, *Trichiurus lepturus* Linne in korean waters 2. Variations in population biomass of the hairtail, *Trichiurus lepturus* Linnaeus in Korean waters. J. Korean Fish. Soc. 30(4): 620-626.