



## hCG 농도 및 투여 간격에 따른 양식산 수컷 뱀장어(*Anguilla japonica*)의 성성숙유도 효과

김효원\* · 김정현\* · 김대근\*\* · 정민환\* · 지승철\* · 양상근\* · 안철민\* · 명정인\*\* · 김대중\*

\*국립수산과학원 제주수산연구소(연구원) · \*\*국립수산과학원 양식관리과(연구원)

### Effect of Artificially Sexual Maturation by hCG Dose and Injection Interval in Cultured Male Eel, *Anguilla japonica*

Hyo-Won KIM\* · Jung-Hyun KIM† · Dae-Guen KIM\*\* · Min-Hwan JUNG\* · Seung-Cheol JI\* · Sang-Geun YANG\* · Chul-Min AHN\* · Jeong-In MYOUNG\*\* · Dae-Jung KIM\*

\*Jeju Fisheries Research Institute, National Institute of Fisheries Science(researcher) · \*\*Aquaculture Management Division, National Institute of Fisheries Science(researcher)

#### Abstract

The sexual maturation of the male eel can be induced by injection with human chorionic gonadotropin (hCG). However, sexual maturation via hCG injection results in the irregular production of low quality sperm. Low quality sperm have issues with low fertilization and development rates, even when fertilizing good quality eggs. For the stable production of fertilized eel eggs, the development of an effective technology for the induction of sexual maturation in male eels is needed. The current study used varying hCG concentrations (1 IU/g body weight (BW) or 5 IU/g BW), and injection intervals (once a week or twice a week) for the artificial induction of sexual maturation, in order to observe the treatment effects on the quantity and quality of male eel sperm. In addition, the milt from eels obtained after induction of sexual maturation was collected to compare and analyze the production periods, production volumes, motility, and velocity of the sperm. There was no significant difference in sperm motility or velocity with varying hCG concentrations or injection intervals. However, the treatment group with once weekly injections of 1 IU/g BW hCG began sperm production at 7 weeks, while the treatment group with once weekly injections of 5 IU/g BW hCG began sperm production at 6 weeks. The treatment groups that were injected twice per week with either 1 IU/g BW or 5 IU/g BW hCG began sperm production earlier than the other groups, at 5 weeks. The treatment group with weekly injections of 5 IU/g BW hCG had a sperm production volume of 55.3 ml, higher than those of other treatment groups.

**Key words :** Sexual maturation, Spermatogenesis, *Anguilla japonica*, Human chorionic gonadotropin

#### I. 서론

뱀장어(eel, *Anguilla japonica*)양식은 소상하는

실뱀장어를 채포하여 키우는 불완전 양식으로만 수행되고 있지만 기후변화, 환경오염, 남획 등으로 뱀장어 자원량이 급격하게 감소하고 있는 실

† Corresponding author : 064-780-5470, kimjh0403@korea.kr

※ 본 연구는 국립수산과학원의 지원(R2018035)에 의해 운영되었습니다.

정이다. 이로 인해 실뱀장어 가격이 폭등하였고 뱀장어 양식어가의 경영이 어려워져 동아시아 4 개국의 뱀장어 인공종자생산 기술에 관한 연구가 활발히 진행되고 있다(Lin et al., 1998; Liao et al., 2001; Tanaka et al., 2001; Lee et al., 2015; Tanaka et al., 2015). 뱀장어 인공종자생산 기술은 1970년대 부화자어 생산을 성공한 후(Yamamoto et al., 1974) 2000년대 실뱀장어 생산까지 성공하였으나(Tanaka et al., 2003; Lee et al., 2015), 인공적인 성성숙유도로 생산한 수정란의 수정률 및 부화율 등이 낮아 안정적인 종자생산이 어려운 실정이다(Kim et al., 2009).

뱀장어 친어에게 외인성 호르몬을 처리하지 않고 3개월 이상 해수에서 사육하면 암컷 뱀장어의 생식소중량지수 (gonadosomatic index; GSI)가 약 2-3 % 수준으로 증가하고 난모세포가 초기 난황형성기까지 발달하지만 더 이상 난 발달 및 난모세포 성숙이 일어나지 않는다(Kagawa et al., 1998; Kim et al., 2007). 반면, 수컷 뱀장어의 경우 전혀 정소발달이 진행되지 않는다고 알려져 있다(Ohta et al., 1997b; Kim et al., 2006). 이와 같이, 뱀장어는 수온과 광주기와 같은 인위적인 사육환경 조절을 통한 생식소 발달 및 성성숙 유도가 어려워(Kagawa et al., 2009), 암컷 뱀장어의 경우 외인성 호르몬인 연어뇌하수체추출물 (salmon pituitary extract; SPE)을 반복 주사하여 성성숙을 유도하고(Ohta et al., 1996a; Kagawa et al., 2003; Kim et al., 2007), 수컷 뱀장어의 경우 인간 태반성 성선자극호르몬(human chorionic gonadotropin; hCG)의 반복주사를 통해 정자형성 (spermatogenesis) 및 배정(spermiation)을 유도한다(Yamamoto et al., 1972; Miura & Miura., 2001; Kim et al., 2006).

뱀장어 자원량이 급감함에 따라 암컷 뱀장어의 성성숙유도 기술 연구는 활발히 진행되어오고 있지만(Ohta et al., 1997b; Kagawa et al., 2003; Kim et al., 2013), 정자의 질 향상을 위한 수컷의 성성숙유도 기술 연구는 상대적으로 부족하다. 성성

숙유도를 위해 주로 사용하는 hCG 반복주사를 통해 획득한 정자의 양과 운동성은 개체간에 큰 차이를 보이며(Ohta et al., 1996b), 낮은 정자의 질은 인공종자 생산시 수정율과 발생률의 저하를 야기한다. 안정적인 뱀장어 종자생산을 위해서는 난질 향상 뿐만 아니라 수컷의 성성숙유도 기술을 확립하여 정자의 질을 향상시킬 필요성이 있다.

따라서 본 연구에서는 hCG의 주사 농도 및 간격에 따른 배정량(cumulative milt volume), 정자의 운동성(sperm motility), 평균운동속도(the average path velocity; VAP), 직선운동속도(the straight line velocity; VSL), 나선운동속도(the curvilinear velocity; VCL)를 비교 분석하여 양식산 수컷 뱀장어의 정자의 양과 운동성을 향상 시키기 위한 기초자료를 제공하고자 하였다.

## II. 재료 및 방법

### 1. 실험어

실험어로 이용한 양식산 수컷 뱀장어 (Body weight : 345±39g)는 전남 영광군 소재의 민물장어 양식수협 친어연구센터에서 사육중인 개체를 국립수산물과학원 뱀장어연구동으로 이송하여 일주일에 걸쳐 해수에 서서히 순치하였다. 순치가 완료된 실험어는 실험전까지 무작위로 분배하여 1 ton FRP 수조에 수용하였다. 사육수는 필터된 해수를 유수식으로 공급하였고 수온은 20±0.5℃로 유지하였으며, 별도의 차광막을 설치하여 실험어가 안정을 취하도록 하였다. 실험기간동안 별도의 먹이는 공급하지 않았다.

개체 식별을 위해 실험어의 등 근육에 micro ID chip (∅2.1×12mm, DESTRON technologies, USA)를 삽입하여, mini portable reader (HS5900LF, DESTRON technologies, USA)로 개체 ID를 확인하였다.

### 2. 호르몬처리

가. hCG 농도에 따른 정자 활성 비교

hCG (10000 IU, Daesung microbiological labs. co., Korea)는 Nagae et al. (1996)의 방법에 따라 eel's ringer solution (150 mM NaCl, 3.0 mM KCl, 3.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 5.0 mM CaCl<sub>2</sub>, 10 mM HEPES, pH 7.4)을 제조하여 적정 농도로 희석하여 사용하였다. hCG 농도에 따른 성성숙유도 효과 및 정자활성을 조사하기 위해 각 실험구의 호르몬 투여농도는 1 IU/g Body Weight (n=8)와 5 IU/g Body Weight (n=8)로 설정하였다. 실험농도로 희석된 hCG를 12주간 주 1회 복강내 반복 주사하여 성성숙을 유도하였다. 호르몬 주사 전, 실험어는 2-phenoxyethanol (200 ppm, Sigma, USA)에 마취시켜 핸들링에 의한 스트레스를 최소화 하였고 호르몬 주사 후, 상처를 통한 감염을 예방하기 위해 30분간 OTC (Oxytetracycline-Hcl, 30 ppm, Yuhan, Korea) 약욕과정을 거친 후 사육수조에 수용하였다. 채정은 주 2회(호르몬 주사 직전과 호르몬 주사후 3일째) 실시하였다.

나. hCG 투여 간격에 따른 정자 활성 비교

위와 동일한 방법으로 제조한 hCG를 1 IU/g Body Weight (n=10) 또는 5 IU/g Body Weight (n=10) 농도로 매주 2회 (3일 간격) 복강 주사하여 12주간 성성숙유도 실험을 진행하였다. 마취 및 약욕 과정은 상기 기술한 방법과 동일하게 수행하였고 채정은 주 2회, 호르몬주사 직전에 실시하였다.

3. 채정량 조사

채정은 깨끗한 천을 이용하여 생식공 주위의 해수 및 오염원을 제거한 후 부드럽게 복부를 압박하여 채정하였다. 채정시마다 채정량을 측정하였고, 정자는 채정 즉시 Ohta et al. (1996c)의 방법에 따라 제조한 인공정장액 (Artificial seminal plasma; ASP, 149.3 mM NaCl, 15.2 mM KCl, 1.3 mM CaCl<sub>2</sub>, 1.6 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 8.2)에 1: 49의 비율로 희석하여 정자 운동성 및 운동속도를 분석

하기 전까지 4℃에서 냉장보관하였다.

4. 정자의 운동성 및 운동속도 분석

정자의 운동성 및 운동속도를 측정하기 위해 정장액에 희석보관된 정자와 필터된 해수를 1:9의 비율로 섞어 정자의 활성을 유도 후, 정자 화상분석기(Hemilton Thorne, IVOS II)를 이용하여 정자의 운동성(sperm motility)과 운동속도(VAP, VSL, VCL)를 각 3회 측정하였다. 측정된 결과는 실험구 별로 계산하여 평균±표준편차로 나타냈다.

5. 통계처리

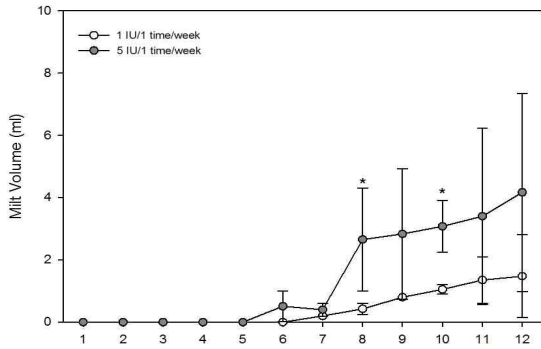
통계처리는 분산분석 후, Duncan's new multiple range test에 의해서 유의성 검증을 실시하였다 (p<0.05).

Ⅲ. 결 과

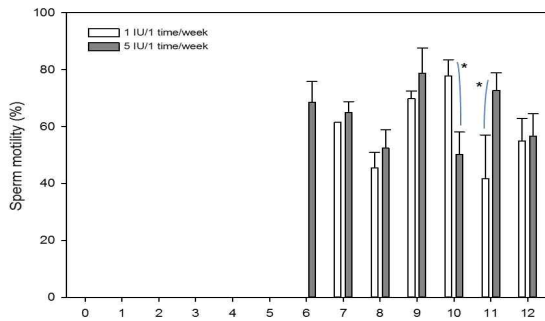
1. 주 1회 hCG 농도(1 또는 5 IU/g BW) 차에 따른 정자의 운동성 및 운동속도 조사

hCG를 1 IU/g BW 또는 5 IU/g BW 의 농도로 주 1회 주사하여 성성숙을 유도하였다. 1 IU/g BW 실험구의 경우 실험 7주차에 첫배정을 시작하였고, 첫 배정 이후 시간에 따라 배정량이 증가하였다. 5 IU/g BW 실험구의 경우 실험 6주차에 첫 배정을 시작하였고, 8주차부터 배정량이 급격하게 증가하였다(Fig. 1). 특히, 5 IU/g BW 실험구는 1 IU/g BW 실험구와 비교하였을 때 8주차와 10주차의 배정량이 유의하게 높게 나타났다 (p<0.05).

실험종료시 1 IU/g BW 실험구의 누적배정량은 10.25 ml 이었고, 5 IU/g BW 실험구의 누적배정량은 55.34 ml 로 나타나 1 IU/g BW 실험구보다 5 IU/g BW 실험구의 배정량이 많았다.



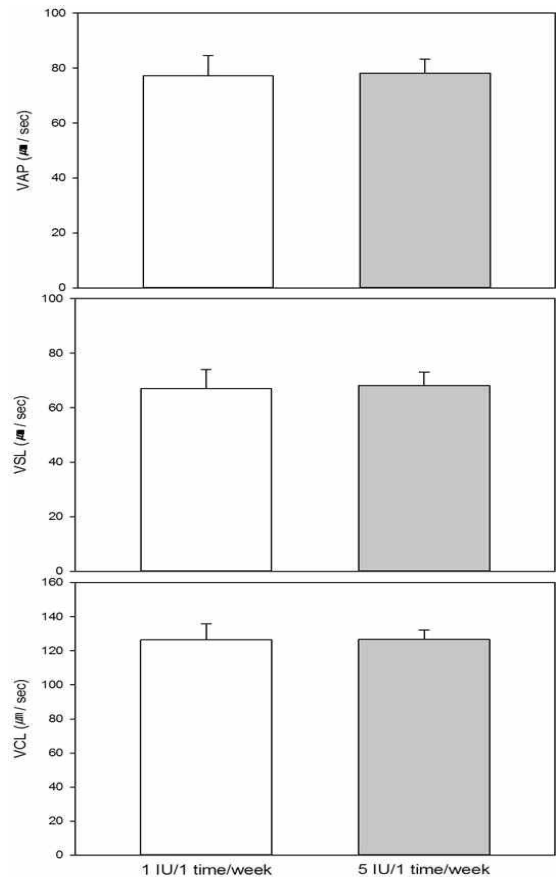
[Fig. 1] Changes in collected milt volume during the experimental period. Milt is collected before injection with human chorionic gonadotropin (hCG). \* indicates significant differences between 1 IU/g BW and 5 IU/g BW ( $p < 0.05$ ). The vertical lines represent the means  $\pm$  SEM.



[Fig. 2] Changes in the sperm motility in milt collected before injection with human chorionic gonadotropin (hCG) (white bar: 1 IU/g BW/once a week; gray bar: 5 IU/g BW/once a week). \* indicates significant differences between 1 IU/g BW and 5 IU/g BW ( $p < 0.05$ ). The vertical lines represent the mean  $\pm$  SEM.

hCG를 주 1회 1 IU/g BW 또는 5 IU/g BW의 농도로 주사하였을 때 정자 운동성을 조사하였다 ([Fig. 2]). 모든 실험구에서 정자운동성은 채정시마다 차이를 보였다. 10주차에 채정한 정자의 운동성은 1 IU/g BW 실험구가 유의하게 높았고, 11주차는 5 IU/g BW 실험구의 운동성이 유의하

게 높았다( $p < 0.05$ ). 그러나 10주와 11주를 제외하고 정자 운동성은 유의한 차이를 나타내지 않았다. 정자의 운동성은 hCG 농도와 관계없이 감소와 증가를 반복하였다.



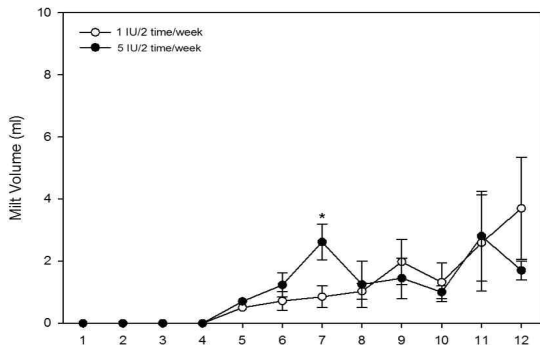
[Fig. 3] The velocity (average path velocity, VAP; straight line velocity, VSL; curvilinear velocity, VCL) of the experimental groups (white bar: 1 IU/g BW/once a week; gray bar: 5 IU/g BW/once a week), during the 12 week injection period of human chorionic gonadotropin (hCG). The vertical lines represent the mean  $\pm$  SEM.

hCG 농도에 따른 정자의 운동속도(VAP, VSL, VCL)를 조사하였다([Fig. 3]). 1 IU/g BW 실험구에서 채정된 정자의 운동속도는 VAP :  $77.25 \pm 7.33 \mu\text{m/sec}$ , VSL :  $66.98 \pm 7.06 \mu\text{m/sec}$ ,

VCL :  $126.46 \pm 9.37 \mu\text{m}/\text{sec}$ 로 나타났으며, 5 IU/g BW 실험구에서 채정된 정자의 운동속도는 VAP :  $78.25 \pm 4.96 \mu\text{m}/\text{sec}$ , VSL :  $68.09 \pm 4.96 \mu\text{m}/\text{sec}$ , VCL :  $126.71 \pm 5.60 \mu\text{m}/\text{sec}$ 로 나타났다. hCG 농도 차이에 따른 정자 운동속도 간의 유의한 차이는 나타나지 않았지만, 5 IU/g BW 실험구의 정자운동속도가 조금 빠른 경향을 보였다.

## 2. 주 2회 hCG 농도(1 또는 5 IU/g BW) 차에 따른 정자의 운동성 및 운동속도 조사

hCG를 1 IU/g BW 또는 5 IU/g BW 의 농도로 주 2회 주사하여 성성숙을 유도하였다. 그 결과, 주 2회 1 IU/g BW 실험구의 경우 실험 5주차에 첫 배정을 시작하였고 10주 이후부터 배정량이 급격하게 증가하였다. 주 2회 5 IU/g BW 실험구도 실험 5주차에 첫 배정을 시작하였고, 7주차까지 배정량이 증가하였지만 이후 일정한 경향을 나타내지 않았다([Fig. 4]).

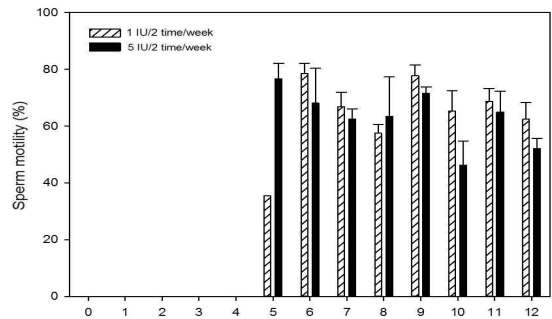


[Fig. 4] Changes in collected milt volume during the experimental period. Milt is collected before injection with human chorionic gonadotropin (hCG). \* indicates significant differences between 1 IU/g BW and 5 IU/g BW ( $p < 0.05$ ). The vertical lines represent the mean  $\pm$  SEM.

실험종료시 1 IU/g BW 실험구의 누적배정량은 44.38 ml 이었고, 5 IU/g BW 실험구의 누적배정량은 25.60 ml로 나타나 5 IU/g BW 실험구보다

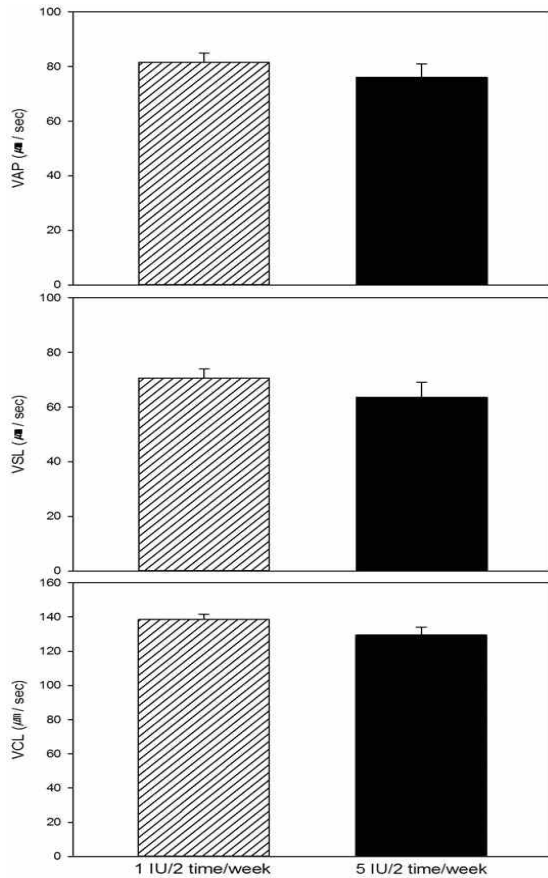
1 IU/g BW 실험구의 누적배정량이 많았다.

hCG를 주 2회 1 IU/g BW 또는 5 IU/g BW 의 농도로 주사하였을 때 정자 운동성을 조사하였다. 모든 실험구에서 정자운동성은 채정시마다 차이를 보였으나 10주차에 채정한 정자의 운동성은 1 IU/g BW 실험구가 유의하게 높았다 ( $P < 0.05$ ). 10주를 제외하고 정자 운동성은 유의한 차이를 나타내지 않았다. 정자의 운동성은 주 2회 투여에서도 hCG 농도와 관계없이 감소와 증가를 반복하였다([Fig. 5]).



[Fig. 5] Changes in the sperm motility in milt collected before injection with human chorionic gonadotropin (hCG) (shaded bar: 1 IU/g BW/twice a week, black bar: 5 IU/g BW/twice a week). \* indicates significant differences between 1 IU/g BW and 5 IU/g BW ( $p < 0.05$ ). The vertical lines represent the mean  $\pm$  SEM.

주 2회 hCG 투여 농도에 따른 정자의 운동속도(VAP, VSL, VCL)를 조사하였다. 1 IU/g BW 실험구에서 채정된 정자의 운동속도는 VAP :  $81.56 \pm 3.31 \mu\text{m}/\text{sec}$ , VSL :  $70.51 \pm 3.39 \mu\text{m}/\text{sec}$ , VCL :  $138.71 \pm 3.06 \mu\text{m}/\text{sec}$ 로 나타났으며, 5 IU/g BW 실험구에서 채정된 정자의 운동속도는 VAP :  $76.25 \pm 4.90 \mu\text{m}/\text{sec}$ , VSL :  $63.59 \pm 5.55 \mu\text{m}/\text{sec}$ , VCL :  $129.53 \pm 4.61 \mu\text{m}/\text{sec}$ 로 나타났다. hCG 농도에 따른 정자 운동속도 간의 유의한 차이는 나타나지 않았지만, 주 2회 1 IU/g BW 실험구의 정자운동속도가 빠른 경향을 보였다([Fig. 6]).



[Fig. 6] The velocity (average path velocity, VAP; straight line velocity, VSL; curvilinear velocity, VCL) of the experimental groups (shaded bar: 1 IU/g BW/twice a week, black bar: 5 IU/g BW/twice a week), during the 12 week injection period of human chorionic gonadotropin (hCG). The vertical lines represent the mean  $\pm$  SEM.

#### IV. 고찰

본 연구결과 hCG 농도와 투여 간격에 따른 정자 운동성과 운동속도에 유의한 차이는 없었다. 그러나 주 1회 5 IU/g BW 실험구에서 배정량이 가장 많았고, 주 1회 1 IU/g BW 실험구보다 배정이 빨라지는 효과가 있었다.

일반적인 경골어류에서 정자형성(Spermatogenesis)

은 정원세포 (Spermatogonia)가 증식하여 1차 정모세포기(primary spermatocyte)와 2차 정모세포기(secondary spermatocyte)를 거쳐서 반수체의 정세포(spermatids)로 발달하고 정자변태 (spermiogenesis)를 통해 정자(spermatozoa)가 되는 과정이다(Miura et al., 2002). 뱀장어의 정자형성과정에서 hCG는 Leydig cell를 자극하여 11-Keto testosterone (11-KT)의 합성을 유도한다. 합성된 11-KT는 Sertoli cell을 자극하며 정소를 성숙시켜 수컷 뱀장어의 인위적 성성숙을 위한 외인성 호르몬으로 주로 hCG가 사용되고 있다(Miura et al., 1991a; Ohta et al., 1996b; Kim et al., 2006). Ohta et al. (1997a)의 hCG투여 후 수컷 뱀장어의 혈중 호르몬 농도변화에 관한 연구에 따르면 hCG 주사 후 1일차에 혈중 hCG의 농도가 최고치를 보인 후 감소하고, 이어서 주사 후 3일차에 혈중 11-KT의 농도가 최고치를 보인 후 서서히 감소하였다. 또한 Miura et al. (1991b)의 hCG 단일 투여에 따른 혈중 hCG와 11-KT의 관계에 대한 in vitro 연구에서 혈중 11-KT는 hCG 농도 의존적으로 반응하여 생성됨이 보고되었다. 본 연구 결과도 1 IU/g BW로 주사한 실험구보다 5 IU/g BW로 주사한 실험구의 첫배정이 1주 빨리 시작되었는데 이와 같은 결과는 hCG 농도 차이에 의한 것으로 보여진다. 또한 주 2회(3일 간격) hCG를 주사한 실험구의 첫 배정이 5주차에 시작한 것은 주사한 hCG에 의해 체내 11-KT의 농도가 지속적으로 유지되어 정소의 성숙기간이 비교적 짧아진 것으로 판단된다. 이를 뒷받침하여 양식산 수컷 뱀장어의 인위적 성성속유도 연구에서 주사 횟수가 증가할수록 성성숙 기간이 단축된다고 보고 되었다(Ohta et al., 1997b). 이처럼 hCG의 농도와 투여 횟수는 성성숙 기간을 조절하는 중요한 요인으로 판단된다.

Ohta et al. (1996b)의 연구에서 hCG 주사 7주와 8주에 정자 운동성은 40%, 9주 이후로는 정자 운동성이 60% 이상으로 나타났다. 하지만 본 연구에서는 첫 배정시 60%로 높게 나타났다. 그리

고 배정율은 상대적으로 낮게 나타났으며, 각 실험구의 개체 간 배정량은 hCG 농도 및 간격과 관계없이 큰 차이를 보였다. 이와 같은 개체간의 차이는 실험어의 영양상태와 밀접한 연관이 있다고 판단된다. 친어의 영양상태는 정자 및 난질에 큰 영향이 있다고 알려져 있는데(Izquierdo et al., 2001), 무지개송어(*Oncorhynchus mykiss*)에서 영양 결핍은 정자의 농도와 운동성을 감소시키고(Ciereszko & Dabrowski, 1995), 농어에게 지방산(fatty acid)이 풍부한 사료를 공급시 배정량, 정자 농도 그리고 부화율이 증가한다고 보고되었다(Astuarino et al., 2001). 본 연구에서 실험어로 사용된 뱀장어의 경우 해수에 순치 후 먹이를 먹지 않았으며, 연구가 진행되는 동안 영양공급이 전혀 없었기에 실험어의 영양상태가 안좋아졌다고 생각된다. 이와 같은 이유로 결과에서 개체간의 배정량과 정자 운동성의 차이가 발생한 것은 실험어의 건강 및 영양상태에 의한 것으로 추정된다. 또한, 본 연구에서 배정율은 Ohta et al. (1996b)의 결과보다 상대적으로 낮게 나타났으며, 이전 연구보다도 낮게 나타났다(Kim et al. 2006). 동일한 방법으로 실험하였음에도 이러한 연구결과의 차이가 나타난 것은 성육과정에서 친어의 영양상태 차이 또는 본 연구에 사용된 실험어의 평균 체중은 345 g 이지만 이전 연구는 평균 체중 220 g 의 개체를 사용한 결과이기 때문에 실험어의 체중 및 연령 차이에 의한 것으로 추측된다.

주 1회 실험구는 hCG 투여 횟수가 증가함에 따라 배정량이 증가하는 경향을 나타내었지만, 주 2회 실험구는 hCG 투여 횟수에 따른 배정량의 차이가 없었다. 잦은 핸들링은 실험어에게 스트레스로 작용하고(Bonga, 1997), 스트레스는 실험어의 면역력 저하 및 폐사로 이어진다고 알려져 있다(Tort, 2011). 본 연구에서도 주 2회 실험구는 실험어 체표에 염증이 발견되었다. 염증반응은 호르몬 주사를 위한 잦은 핸들링이 스트레스요인으로 작용하고 면역력 약화로 이어진 것으로 보이며, 이로 인해 실험어의 배정량이 일정하

지 못한 것으로 판단된다.

정자의 운동성 및 운동속도는 정자의 수정능력(fertility)을 판단하는 중요한 요인으로써(Rurangawa et al., 2004), 잉어(*Cyprinus carpio*) 및 무지개송어 등 여러 어종에서 정자의 운동성과 운동속도가 높을수록 수정에 유리하다고 알려져 있다(Lahnsteiner, 2000; Linhart et al., 2000). 본 연구에서 hCG 농도 및 간격에 따라 배정된 정자의 운동성은 일정하지 않았다. 정자는 DHP (17 $\alpha$ ,20 $\beta$ -dihydroxyprogesterone)에 의해 최종성숙과정을 거쳐 운동성을 가지게 되는데(Miura & Miura, 2001), hCG의 단일 투여만으로는 수컷 뱀장어의 정자성숙에 충분한 DHP의 생성이 이루어지지 않는다(Miura et al., 1991c). 본 연구의 결과에서 모든 실험구의 정자 운동성이 큰 차이를 보인 것은 정자성숙에 필요한 DHP가 체내에서 충분히 생성되지 못한 것으로 판단된다. 또한, 실험구 간의 정자 운동속도 (VAP, VSL, VCL)도 유의한 차이를 보이지 않았으며, 이는 hCG의 농도와 간격의 조절로는 정자 운동속도에 영향을 주지 않는 것으로 보여진다.

뱀장어와 유럽산 뱀장어(*A. anguilla*)의 hCG 주사 후 채정시기에 대한 이전 연구에서 hCG를 주사 1일후 채정된 정자가 가장 높은 정자 운동성을 나타내고 주사 3일후 정자의 운동성이 가장 낮게 나타났다(Ohta et al., 1997a; Perez et al., 2000). 본 연구에서는 hCG를 주사하고 3일 이후 채정을 실시하였으므로 조사된 정자운동성은 최저치를 나타내고 있다고 보여지며, 향후 hCG를 주사하고 1일 후 채정을 진행한다면 본 논문에서 측정된 운동성보다 향상된 운동성을 얻을 수 있을 것으로 판단된다.

## V. 결론

본 연구에서는 수컷 뱀장어의 효율적인 배정유도 기술개발 및 정자의 질을 향상시키기 위해 hCG의 농도 및 주사간격을 달리하여 효과를 비

교 분석하였다. 그 결과, hCG 투여 농도(1 IU 또는 5 IU/g BW) 및 투여 간격(주 1회 또는 2회)에 따른 정자 운동성과 운동속도의 유의한 차이는 없었다. 그러나 주 1회 5 IU/g BW 농도로 투여한 실험구는 실험종료시 55.3 ml로 가장 많은 양을 배정하였고, 주 1회 1 IU/g BW 실험구보다 1주 빨리 배정하였다. 향후 정자의 질을 향상시키기 위해서 뱀장어에게 투여된 호르몬의 대사과정 및 반응기작에 관계된 추가적인 연구가 수행되어야 할 것으로 판단된다.

## References

- Astuarino JF, Sorbera LA, Carrillo M, Zanuy S, Ramos J, Navarro JC and Bromage N(2001). Reproductive performance in male european sea bass (*Dicentrarchus labrax*, L.) fed two PUFA-enriched experimental diets: a comparison with males fed a wet diet. *Aquaculture* 194, 173~190.
- Bonga SW(1997). The stress response in fish. *Physiol. Rev.* 77, 591~625.
- Ciereszko A and Dabrowski K(1995). Sperm quality and ascorbic acid concentration in rainbow trout semen are affected by dietary vitamin C: an across-season study. *Biol. Reprod.* 52, 982~988.
- Izquierodo MS, Fernandes-Palacios H and Tacon AGJ(2001). Effect of broodstock nutrition on reproductive performance of fish. *Aquaculture* 197, 25~42.
- Kagawa H, Iinuma N, Tanaka H, Ohta H and Okuzawa K(1998). Effects of rearing period in seawater on induced maturation in female Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fish. Sci.* 64, 77~82.
- Kagawa H, Tanaka H, Unuma T, Ohta H, Gen K and Okuzawa K(2003). Role of prostaglandin in the control of ovulation in the Japanese eel *Anguilla japonica*. *Fish. Sci.* 69, 234~241.
- Kagawa H, Kasuga Y, Adachi J, Nishi A, Hashimoto H, Imaizumi H and 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.
- Kim EO, Bae JY, Lim SG, Son MH, Park MW, Park MS and Kim DJ(2006). Plasma sex steroid hormone profiles and testicular development in artificially maturing cultured male eel, *Anguilla japonica*. *Kor. J. Fish. Aquacult. Sci.* 39, 466~471.
- Kim DJ, Bae JY and Kim EO(2007). Changes in sex steroid hormones and ovarian development during artificial maturation of female eel, *Anguilla japonica*. *Integr. Biosci.* 11, 117~124.
- 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, Lee BI, Kim KK, Kim EO, Son MH and Seong KB(2013). Effects of estradiol-17 $\beta$  on the feminization of Japanese eel, *Anguilla japonica*. *J. Life Sci.* 23, 998~1003.
- Lahnsteiner F(2000). Semen cryopreservation in the Salmonidae and in the Northern pike. *Aquacult. Res.* 31, 245~258.
- Lee NS, Kim DJ, Lee BL, Kim SK and Kim KK(2015). Distribution of ghrelin immunoreactivity in artificially reared Japanese eel, *Anguilla japonica*, leptocephalus and metamorphosed glass eel. *J. Environ. Bio.* 36, 521~529.
- Lin HR, Xie G, Zhang LH, Wang XD and Chen LX(1998). Artificial induction of gonadal maturation and ovulation in the Japanese eel (*Anguilla japonica*, T ETS.). *Bull. Fr. Pêche. Piscic.* 349, 163~176.
- Liao IC and Chang SL(2001). Induced spawning and larval rearing of Japanese eel, *Anguilla japonica* in Taiwan. *J. Taiwan Fish. Res.* 9, 97~108.
- Linhart O, Rodina M and Cosson J(2000). Cryopreservation of sperm in common carp *Cyprinus carpio*: sperm motility and hatching success of embryos. *Cryobiology* 41, 241~250.
- Miura T, Yamauchi K, Takahashi H and Nagahama Y(1991a). Hormonal induction of all stages of spermatogenesis in vitro in the male Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 88, 5774~5778.



- Miura T, Yamauchi K, Nagahama Y and Takahashi H(1991b). Induction of spermatogenesis in male Japanese eel, *Anguilla japonica*, by a single injection of human chorionic gonadotropin. Zool. Sci. 8, 63~73.
- Miura T, Yamauchi K, Takahashi H and Nagahama Y(1991c). Involvement of steroid hormone in gonadotropin-induced testicular maturation in male Japanese eel (*Anguilla japonica*). Biom. Res. 12(4), 241~248.
- Miura T and Miura C(2001). Japanese eel: a model for analysis of spermatogenesis. Zool. Sci. 18, 1055~1063.
- Miura T, Ando N, Miura C and Yamauchi K(2002). Comparative studies between in vivo and in vitro spermatogenesis of Japanese eel (*Anguilla japonica*). Zool. Sci. 19(3), 321-329.
- Nagae M, Todo T, Gen K, Kato Y, Young G, Adachi S and Yamauchi K(1996). Molecular cloning of the cDNAs encoding pituitary glycoprotein hormone  $\alpha$ - and gonadotropin II $\beta$ -subunits of the Japanese eel, *Anguilla japonica*, and increase in their mRNAs during ovarian development induced by injection of chum salmon pituitary homogenate. J. Mol. Endocrinol. 16, 171~181.
- Ohta H, Kagawa H, Tanaka H, Okuzawa K and Hirose K(1996a). Changes in fertilization and hatching rates with time after ovulation induced by 17 $\alpha$ , 20 $\beta$ -dihydroxy-4-pregnen-3-one in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. Aquaculture 139, 291~301.
- Ohta H, Kagawa H, Tanaka H, Okuzawa K and Hirose K(1996b). Milt production in the Japanese eel *Anguilla japonica* induced by repeated injections of human chorionic gonadotropin. Fish. Sci. 62, 44~49.
- Ohta H and Izawa T(1996c). Diluent for cool storage of the Japanese eel (*Anguilla japonica*) spermatozoa. Aquaculture 142, 107~118.
- Ohta H and Tanaka H(1997a). Relationship between serum levels of human chorionic gonadotropin (hCG) and 11-ketotestosterone after a single injection of hCG and induced maturity in the male Japanese eel, *Anguilla japonica*. Aquaculture 153, 123~134.
- Ohta H, Kagawa H, Tanaka H, Okuzawa K, Iinuma N and Hirose K(1997b). Artificial induction of maturation and fertilization in the Japanese eel, *Anguilla japonica*. Fish. Physiol. Biochem. 17, 163~169.
- Pérez L, Aturiano JF, Tomás A, Zegrari S, Barrera R, Espinós FJ and Jover M(2000). Induction of maturation and spermiation in the male European eel: assessment of sperm quality throughout treatment. J. Fish. Biol. 57, 1488~1504.
- Rurangwa E, Kime DE, Ollevier F and Nash JP(2004). The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. Aquaculture 234, 1~28.
- 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 K(2003). The first production of glass eel in captivity: fish reproductive physiology facilitates great progress in aquaculture. Fish. Physiol. Biochem. 28, 493~497.
- Tanaka H(2015). Progression in artificial seedling production of Japanese eel *Anguilla japonica*. Fish. Sci. 81, 11-19.
- Tort L(2011). Stress and immune modulation in fish. Dev. Comp. Immunol. 35, 1366~1375.
- Yamamoto K, Hiroi O and Morioka T(1972). Artificial maturation of cultivated male Japanese eels by synhormin injection. Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish. 38, 1083~1090.
- Yamamoto K and Yamauchi K(1974). Sexual maturation of Japanese eel and production of eel larvae in the aquarium. Nature 251, 220~222.

---

• Received : 09 July, 2018

• Revised : 09 August, 2018

• Accepted : 22 August, 2018