

냉동-해동된 조개류 배의 발생과 생존율

최윤희·김영신·장영진

부경대학교 양식학과

서론

조개류 발생배의 냉동보존은 백합, *Meretrix lusoria* (Chao et al., 1997), 진주담치 *Mytilus edulis* (Toledo et al., 1989), 참굴 *Crassostrea gigas* (Renard, 1991; McFadzen, 1992; Gwo, 1995; Naidenko, 1997; Chao et al., 1997)에서 꾸준히 연구되어 왔다. 특히 *Crassostrea* 속의 발생배에 대한 냉동보존 연구가 많이 이루어졌으며, 해동후 일정시간 배양하여 발생배의 생존율을 파악한 결과들이었다.

한편, Chang et al. (1999)은 진주조개, *Pinctada fucata martensii*의 발생배를 냉동보존한 다음 해동직후의 생존율만으로 냉동보존의 효과를 평가하였지만, 해동후 발생 및 생존율 조사가 미흡함을 남겼다. 그리고 Paniagua-Chavez (1998)는 버지니아굴, *C. virginica*의 담륜자를 사용하여 냉동직후 해동하여 먹이를 공급하면서 종패까지 생산하였으나, 장기간 냉동보존후의 생존율은 제시하지 못하였다.

따라서, 본 연구에서는 참굴을 비롯한 진주조개, 북방대합 *Spisula sachalinensis*의 발생배를 장기간 냉동보존하여 해동직후의 생존율을 파악하고, 해동된 발생배를 먹이공급 없이 실온에서 배양하여 시간별 발생진행과 생존율을 조사하였다.

재료 및 방법

실험재료인 양식산 참굴, 진주조개 및 자연산 북방대합의 어미조개는 각각 남해, 통영 및 주문진 연안에서 구입하여 실험에 사용하였다.

참굴을 비롯한 진주조개와 북방대합의 담륜자를 0.2 M sucrose로 만든 동해방지제 2.0 M dimethyl sulfoxide와 ethylene glycol에 10분간 노출한 다음 0.5 ml straw에 주입하였다. 이어서 설정된 냉동률(seeding전 -12℃까지 0.25 또는 1℃/분, -35℃까지 1℃/분)에 따라 냉동한 다음 스텐레스통에 straw를 넣어 액체질소(-196℃)에서 6개월 동안 보존하였다. 이 기간중 액체질소내에 straw가 충분히 담길 수 있도록 기화된 액체질소량 만큼 계속 보충해 주었다. 해동후 발생진행 상태와 생존율은 straw를 꺼내 25℃의 온수에 급속 해동한 다음, 단계적 희석방법을 사용하여 동해방지제를 제거하고 먹이공급 없이 배양하면서 20시간 마다 조사하였다. 이때 희석방법으로는 해동된

발생배에 해수를 바로 첨가하는 방법, 해동한 발생배를 sieve에 옮겨 이를 각 동해방지제의 농도를 서서히 감소시킨 용액에 담금으로써 희석하는 방법 및 농도를 낮춘 동해방지제 용액을 해동한 발생배에 직접 첨가하는 방법을 사용하였다. 생존율은 광학현미경에 의해서 담륜자는 섬모로 선회 유행하는 개체수로, D형 유생은 섬모운동과 심장박동하는 개체수로 계산하였다.

결과 및 요약

참굴, 진주조개 및 북방대합의 담륜자를 이용하여 냉동보존한 다음 일정시간 배양하면서 배의 발생과 생존율을 조사하였다.

참굴 발생배에서는 동해방지제를 ethylene glycol, seeding 전 냉동률을 0.25℃/분으로 하였을 때, 해동직후 83.0±1.8%의 높은 생존율을 보였다. 진주조개와 북방대합에서는 동해방지제를 dimethyl sulfoxide, seeding 전 냉동률을 1.0℃/분으로 하였을 때, 해동직후 생존율이 각각 43.1±3.8%와 97.4±0.5%로 가장 높았다. 또한 해동 후 발생배로부터 동해방지제를 제거하기 위해 여과해수를 발생배에 바로 첨가하였을 때 가장 높은 생존율을 보였다.

6개월 보존후 해동한 발생배는 동해방지제를 제거한 다음 여과해수에서 배양하는 동안 생존율이 감소하는 경향을 보였다. 참굴과 진주조개의 담륜자는 배양 40시간까지, 북방대합은 배양 100시간까지 생존하였으며, D형 유생으로 발생하였다.

참고문헌

- Chang, Y.J., Y.H. Choi and Y.J. Chang. 1999. Selection of cryoprotectants for cryopreservation of pearl oyster, *Pinctada fucata martensii* trochophore. Dev. Reprod., 3, 107~111(in Korean).
- Chao, N.-H., T.-T. Lin, Y.-J. Chen, H.-W. Hsu and I.-C. Liao, 1997. Cryopreservation of late embryos and early larvae in the oyster and lard clam. Aquaculture, 155, 31~44.
- Gwo, J.C., 1995. Cryopreservation of oyster (*Crassostrea gigas*) embryos. Theriogenology, 43, 1163~1174.
- Naidenko, T., 1997. Cryopreservation of *Crassostrea gigas* oocytes, embryos and larvae using antioxidant echinochrome A and antifreeze protein AFP1. Cryo-Letters, 18, 375~382.
- Paniagua-Chavez, C.G., Buchanan, J.T., Supan, J.E. and Tiersch, T.R., 1998. Settlement and growth of eastern oysters produced from cryopreserved larvae. Cryo-Letters, 19, 283~292.
- Renard, P., 1991. Cooling and freezing tolerances in embryos of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas* : methanol and sucrose effects. Aquaculture, 92, 43-57.
- Toledo JD, Kurokura H, Kasahara S., 1989. Preliminary studies on the cryopreservation of the blue mussel embryos. Nippon Suisan Gakkaishi, 55, 1661 p.