PD - 23

피조개, *Scapharca broughtonii* 유생의 냉동보존을 위한 첨가제 및 동해방지제 선택

조필규, 정민환, 장영진
부경대학교 수산과학대학 양식학과

서 론

어패류 배우자 및 유생의 냉동보존은 암수의 유전적 특성 보존, 국제무역과 같은 장거리 수송의 간편화, 웅성선숙 또는 자성선숙 하는 종의 보존성을 높일 수 있다. 또한 연중 종묘생산과 선발육종이 가능해지고, 입 크기가 작은 양식어류의 종묘생산시 생먹이로 활용될 수 있다. 냉동보존에서 동해방지제 사용은 세포내 삼투질 농도 상승과 세포내외의 빙결정 형성 등을 완화·조절하기 위해 필수적인 요소이며(Chang et al., 1999), 세포나 배의 냉동보존 효과를 좌우하는 중요한 요인중의 하나이다. 그러나, 조개류 유생을 사용하여 그 효과를 검정한 연구사례는 미미하다. 조개류의 적정 동해방지제는 종에 따라 각각 다른 결과를 나타내며 적정 동해방지제가 밝혀졌더라도, 농도별로 생존율이 크게 다른 경우가 있어(Paniagua-Chavez and Tiersch, 2001), 유생에 대한 냉동보존시 동해방지제의 최적농도에 대한 탐색이 필요하다. 본 연구에서는 냉동보존시 많이 이용되는 첨가제로 fructose, glucose, sucrose와 동해방지제로 dimethyl sulfoxide (DMSO), ethylene glycol (EG)를 비교 검토하였다.

재료 및 방법

실험용 유생을 얻기 위하여 산란기 이전(4월)에 채집한 피조개 모패를 2시간 동안 공기노출한 다음, 23℃에서 1시간에 걸쳐 6℃의 수온상승 자극을 주어 채란, 채정하였으며, 부화한 유생을 10 ㎥ 수조에서 사육하면서 *Isochrysis galbana*와 *Chaetoceros calcitrans*를 혼합하여 급여하였다. 냉동보존을 위한 첨가제로는 인공해수를 이용하여 만든, 각각 0.2 M, 0.5 M fructose, glucose, sucrose 용액을 사용하였다. 동해방지제로는 1.0 M, 2.0 M DMSO와 EG를 사용하였다(Choi and Chang, 1999). 피조개 유생을 각 용액에 10분 동안 침지한 후 0.5 ㎖ straw에 넣고, 0℃로 설정된 프로그램냉동기에서 -1℃/분 냉동률로 -12℃까지 냉동하였다. 이후 -12℃에서 10분 동안 두면서 seeding한 다음, 동일한 냉동률로 -35℃까지 냉동하였다. 유생은 -35℃에 30분 유지

후, -196℃의 액체질소통에 보관하면서 1시간 후에 생존율을 조사하였다.

결과 및 요약

피조개 유생 해동후 생존율은 다음과 같다. Trochophore 유생은 1 M EG와 0.5 M fructose의 경우 65.0±4.2%였으며, 2 M EG와 0.2 M와 0.5 M fructose, 0.2 M sucrose의 경우 각각 55.0±4.2%, 62.0±5.7%, 54.0±8.5%였다. D형 초기 유생은 1 M과 2 M EG와 0.5 M fructose의 경우 각각 42.0±5.7%, 31.0±4.2%로 전체적으로 생존율이 낮았다. D형 중기 유생은 1 M과 2 M EG와 0.2 M fructose의 경우 각각 27.0±4.2%, 25.0±1.4%로 낮은 생존율을 보였다. D형 후기 유생은 1 M과 2 M EG와 0.2 M fructose의 경우 각각 36.0±2.8%, 51.0±1.4%였다. 각정기 초기에서는 0.5 M sucrose를 포함한 2 M의 EG에서 41.3±1.8%로 가장 높은 생존율을 나타냈다. 각정기 후기 유생은 2 M EG와 0.2 M과 0.5 M fructose, 0.2 M glucose의 경우 57.0±4.2%, 81.0±4.2%, 67.0±1.4%였다.

이상의 결과를 종합하면, 피조개 유생의 냉동보존을 위한 적정 첨가제 및 동해방지제는 각각 fructose, sucrose 및 EG였다. 유생의 발달단계별로는 trochophore와 D형 초기유생에서 0.5 M fructose와 1 M EG, D형 중기에서 0.2 M fructose와 1 M EG, D형 후기에서 0.2 M fructose와 2 M EG, 각정기 초기에서 0.5 M sucrose와 2 M EG, 각정기 후기 유생에서는 0.5 M fructose와 2 M EG였다. 더욱이 유생의 발달단계가 진행함에 따라 적정 동해방지제의 농도가 높아짐을 알 수 있었다.

참고문헌

Chang, Y.J., Choi Y.H. and Chang, Y.J. 1999. Selection of Cryoprotectants for Cryopreservation of Pearl Oyster, *Pinctada fucata martensii* Trochophore. *Dev. Repord.* 3: 107-111.

Choi, Y.H. and Chang, Y.J. 1999. Survival rates of trochophores from pearl oyster, *Pinctada fucata martensii* and Pacific oyster, *Crassostrea gigas* immersed in four kinds of cryoprotectant. *J. Korean Fish. Soc.* 32: 476-480.

Paniagua-Chavez, C.G. and Tiersch, T.R. 2001. Laboratory studies of cryopreservation of sperm and trochophore larvae of the eastern oyster. *Cryobiology* 43: 211-223.