

능성어 *Epinephelus septemfasciatus* 냉동정자의 수정능

송영보 · 김삼연 · 이병문* · 오성립** · 김세재*** · 이영돈

제주대학교 해양과환경연구소 · *마리아 병원

**제주도해양수산자원연구소 · **제주대학교 생명과학과

서론

어류의 정자 보존 기술 개발은 방란·방정시기 및 성비의 불균형에 따른 인공 채란 및 채정의 어려움을 극복하고, 수컷 어미의 사육관리에 필요한 노력과 경비를 절감할 수 있다. 이 연구는 자성선속형 (protogeny) 어류인 능성어 *Epinephelus septemfasciatus*의 정자냉동보존기술을 확보함으로써 암·수 배우자를 얻기 위한 시·공간적인 인공수정의 어려움을 해결하는데 있다.

재료 및 방법

실험에 이용한 능성어는 인위적 성전환 유도 과정을 걸친 기능적 수컷 (전장 47.8 ± 2.1 cm, 체중 2.1 ± 0.2 kg) 4마리에서 추출한 정자를 이용하여 실시하였다. 능성어의 냉동 정자의 수정 능력을 알아보기 위해 냉동보존을 위한 희석액과 동해방지제 종류에 따른 냉동정자의 운동 특성과 냉동정자의 수정율과 부화율을 조사하였다.

1) 희석액 종류

능성어 정자의 냉동보존에 적합한 희석액을 찾기 위해 5% glucose (G) 그리고 marine fish ringer's solution (M), Ham's-F10 (H)을 이용하였다.

2) 동해방지제 (Cryoprotectant) 종류 및 냉동보존

정자의 냉동보존에 이용한 동해방지제의 종류로서 dimethylsulfoxide (D)와 test yolk buffer (T)를 이용하였다. 각각의 희석액을 첨가한 정자 (S)에 D와 T를 혼합한 후 평형시간을 1분 이내로 하여 냉동하였다. 그리고 희석액과 동해방지제 그리고 정자를 조합한 GTS, HTS, MTS, GDS, HDS, MDS 실험에서의 정자 냉동은 희석 정액의 주입된 0.5 ml 용량의 정자보존용 straw를 액체질소 증기 (-76°C)로 1차 냉동한 다음, 신속히 액체질소 (-196°C)에 넣어 2차 냉동하였다. 냉동된 정자는 액체질소 탱크에 7일간 저장한 후 $30 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 의 항온수조를 이용하여 10초 이내에 해동하였다. 이후 각각 실험구의 해동 정자는 일정

비율로 해수에 희석한 후 해동 후 시간의 경과함에 따른 정자 활성도를 측정하였다.

정자의 운동성 파악은 Strussmann et al. (1994)의 정자 활성 지수 (sperm activity index: SAI) 측정 방법 중 실제 수정 능력을 가지고 있는 1단계의 정자 수만을 측정하였다. 각 실험에 대한 정자 활성은 3~5회 측정하여 평균을 구하였다.

3) 냉동정자를 이용한 수정률 및 부화율

냉동 보존된 정자의 수정률 및 부화율은 인공 채란된 능성어 난을 이용하였으며, 난과 정자의 비율 (100만개: 0.1 ml)로 건식법으로 수정하였다. 실험에 이용된 정자는 GDS실험구의 냉동정자와 실험시 어체에서 채정한 정자를 이용하였다. 수정률은 각각의 실험구에서 인공수정 후 난의 상실기 단계에 도달했을 때를 기준으로 하였고, 부화율은 부화후 1일째를 기준으로 하였다.

결과 및 요약

1) 냉동정자의 운동성

희석액과 동해방지제 종류에 따른 정자의 운동성은 대조구 (row semen, 20.42 ± 2.30)와 비교 했을 때 GTS (13.68 ± 1.77)와 GDS (14.24 ± 1.84) 실험구가 대조구보다 낮았으나 HTS (7.76 ± 1.00), MTS (6.08 ± 0.78), MDS (3.60 ± 0.46), HDS (7.52 ± 0.77) 실험구보다 유의하게 높게 나타났다 ($P < 0.05$).

냉동정자의 운동성은 GDS 그리고 HTS, MTS, MDS, HDS 실험구에서 해동 후 운동성이 활발하기 시작하여 20~30분 사이에 가장 활발하게 운동하였으며, 이후 점차 감소하였다. 그리고 GTS 실험구 정자의 운동성은 서서히 증가하기 시작하여 해동 후 60분 전후로 가장 활발한 운동성을 보였다.

2) 냉동정자를 이용한 수정률 및 부화율

냉동 보존된 정자에 의한 수정률 및 부화율은 대조구 (row semen)와 GDS 실험구를 대상으로 조사하였다.

냉동정자에 따른 수정률은 대조구에서 $94.85 \pm 2.02\%$ 였으며, GDS 실험구에서 $97.66 \pm 1.22\%$ 로 유사하였다. 그리고 부화율도 대조구에서 $97.33 \pm 1.45\%$ 였고 GDS 실험구에서 $97.00 \pm 0.89\%$ 로 유사하였다.

참고문헌

Strussmann, C. A., P. Renard, H. Ling and F. Takashima. 1994. Motility of pejerrey, *Odontesthes bonariensis* spermatozoa. Fish. Sci., 60 : 9~13.