

인공정장을 이용한 넙치 정자의 냉장보존 효과

임한규, 안철민, 손맹현, 김응오, 김대중, 조용철, 박윤정

국립수산과학원 양식관리팀

서론

어류 정자의 보존 방법은 크게 냉장보존과 냉동보존으로 나눌 수 있다. 냉동보존 방법은 장기간 정자를 보존 할 수 있다는 장점은 있지만 냉동과정이 복잡하고 프로그램 동결기나 액체질소탱크 등 많은 장비가 필요하다는 단점이 있다. 반면 냉장보존은 처리방법이 간단하지만 보존하려는 어종의 정자 특성에 맞는 보존용 희석액을 개발하고 냉장 보존조건을 미리 파악해야 하는 번거로움이 있다. 따라서 실제 인공종묘생산 현장에서 산란기간 동안 간편하게 사용할 수 있는 정자의 보존방법이 요구되고 있다.

본 연구는 넙치 육종프로그램의 1:1 교배를 지원하기 위한 기술로서 산란기간 동안 넙치 정자를 간편하게 보존할 수 있는 방법을 개발하기 위하여 수행되었다.

재료 및 방법

정액 채취 및 정자의 특성 : 정액은 실험어를 마취시킨 후 복부압박법으로 채취하였으며, 채취된 정액의 pH, 삼투질농도 및 정자수는 각각 pH meter (istek Model 735P, Korea), osmometer (The Advanced™, USA) 및 혈구계산판을 이용하여 측정하였다. Spermatocrit는 microhematocrit법을 변형하여 측정하였으며 원심분리 후 정장의 생화학적 조성은 생화학분석기(Fuji Dri-Chem 3500, Japan)로 분석하였다.

냉장보존 : 보존용 희석액으로 사용한 인공정장은 넙치 정장의 성분을 분석한 결과를 토대로 제조하였으며, 냉장보존 효과를 조사하기 위하여 정액을 인공정장과 해산어류생리식염수, Stein's solution에 10배 희석한 후 0, 2, 4℃에서 각각 보존하였다.

정자의 활성도와 수정률 측정 : 정자의 운동성은 현미경에 부착된 video camera와 video timer를 이용하여 정자의 운동속도와 움직이는 비율을 측정하였으며, 수정률은 10일간 보존한 정자를 수정시킨 후 8세포 이상 발생한 배만 수정된 것으로 간주하였다.

결과 및 요약

넙치의 인공정장을 제조하기 위하여 넙치 정액과 정장의 특성 및 화학적 성분을 분석한 결과, 정자의 농도는 $\text{mL 당 } 1.30 \pm 0.17 \times 10^9$ 마리였으며 정장의 pH와 삼투질농도는 각각 7.8 ± 0.1 과 $294.7 \pm 1.7 \text{ mOsm/kg}$ 이었다. Spermatocrit는 91.0 ± 1.6 이었으며 정장의 K^+ , Na^+ , Cl^- 및 glucose 농도는 각각 11.6, 141.0, 123.0 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 및 2.38 $\text{mg}\cdot 100 \text{ mL}^{-1}$

이었다. 정장의 생화학적 조성을 바탕으로 넙치 정자의 냉장보존용 인공정장(KCl 0.87 g·L⁻¹, NaCl 8.24 g·L⁻¹, CaCl₂ 0.54 g·L⁻¹, MgCl₂ 0.13 g·L⁻¹, glucose 0.02 g·L⁻¹, pH 7.8)을 제조하였다. 제조한 인공정장의 냉장보존 효과를 조사하기 위하여 0℃, 2℃ 및 4℃에서 냉장보존 온도조건별로 넙치 정자를 인공정장, Stein's solution 및 해산어류용 생리식염수에 희석 보존한 결과 0℃ 인공정장에서 보존한 정자의 운동성이 30일 동안 관찰되었다. 해산어류용 생리식염수나 Stein's solution 보다 인공정장에서 정자의 운동 속도가 빨랐으며 냉장보존 25일까지는 0℃보다 2℃와 4℃ 보존 온도구의 정자활성이 좋았다. 냉장보존 온도와 보존액에 따른 넙치 정자의 운동률은 2℃와 4℃에서 보존 5일만에 급격히 감소하였으나 0℃에서는 완만하게 감소하였다. 정자의 운동속도와 같이 정자의 운동률도 인공정장이 다른 보존액과 비교하여 높게 유지되었다. 냉장보존한 넙치 정자의 수정능력을 평가하기 위하여 정자의 활력이 비교적 높게 유지되었던 10일째에 수정시킨 정자의 수정률은 0℃의 경우 해산어류용 생리식염수에 보존한 정자를 제외한 다른 실험구에서 신선한 정액과 차이를 보이지 않았으며, 2℃와 4℃에서도 인공정장의 수정률은 신선한 정액과 차이를 보이지 않았다.

참고문헌

- Billard, R., J. Cosson, S.B. Noveiri and M. Pourkazemi. 2004. Cryopreservation and short-term storage of sturgeon sperm. *Aquaculture* 236: 1-9.
- Chao, N.H. and C. Liao. 2001. Cryopreservation of finfish and shellfish gametes and embryos. *Aquaculture* 197: 161-189.
- 임한규. 1998. 감성돔, *Acanthopagrus schlegeli* 정자의 생리활성과 배우자 보존. 부경대학교 박사학위 논문. 130 pp.