

동해방지제 4종에 대한 왕우럭, *Tresus keenae* D상 유생의 냉동보존 효과

김영훈, 김잔디, 김재민, 선승천, Zhang zhi feng¹, 강경호
여수대학교 수산생명과학부, ¹중국해양대학

동물의 배 냉동보존은 Whittingham (1971)이 생쥐의 발생 배를 냉동하여 그 생존율을 조사한 이래, 지난 30여년 동안 주로 육상동물의 배를 대상으로 냉동보존하기 위한 여러 가지 기술들이 연구되어 왔다. 그러나 해양동물 유생의 냉동보존에 대한 보고로는 피조개 D상 유생과 Umbo유생(Kang et al, 2004) 등이 있을 뿐이다.

따라서 본 연구는 부착성 대형 조개로 우리나라 남해안의 거제, 사천, 남해 및 여수 연안에 서식하는 산업적으로 중요한 왕우럭의 D상 유생을 대상으로 냉동보존하였다.

냉동보존 시 사용된 재료는 수정 후 48시간 경과한 왕우럭 D상 유생으로서 평균각장은 $132 \pm 14.83 \mu\text{m}$ 였다. 동해방지제는 dimethyl sulfoxide, ethylene glycol, glycerol 및 1,2- propanediol 로서 121°C에서 20분간 멸균시킨 자연해수를 이용하여 최종 농도가 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 M이 되도록 하여 제조하였다. 유생은 각 실험구별로 20분간의 평형시간을 거친 후 0.5 ml straw에 200 inds./straw의 밀도로 넣어 봉입 하였다.

그 후 프로그램 냉동기를 이용하여 냉동프로그램에 따라 실온 20°C에서 -12°C까지 분당 -1°C/min., -12°C에서 -35°C까지 -2°C/min.의 속도로 1차 냉동 후, -196°C 액체질소에서 2차 냉동보존하였다. 냉동보존된 유생의 해동은 straw를 25°C의 담수에서 20초간 급속 해동하였고, 유생은 멸균 해수를 이용하여 5분씩 3회 세란 후, 광학현미경 하에서 D상 유생의 생존율을 조사하였다.

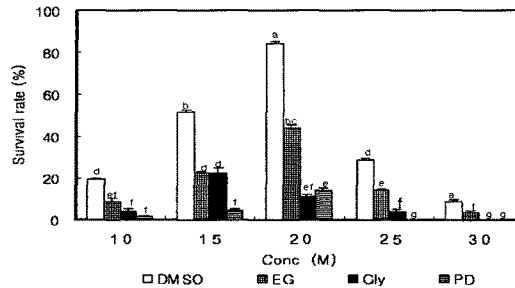


Fig. 1. Survival rates of *Tresus keenae* d-sheped larvae after frozen-thawed (-196°C, 1 day).

동해방지제 종류와 농도에 따라 왕우럭 D상 유생을 냉동 후 해동한 결과, 85% 정도의 높은 생존율을 보였다. DMSO에서 $8.8 \pm 1.0 \sim 84.2 \pm 0.8\%$ 의 가장 높은 생존율을 보였고, 그 다음으로 EG에서 $3.731.1 \sim 44.3 \pm 1.5\%$, Gly은 $0 \sim 22.7 \pm 2.2\%$, PD $0 \sim 13.9 \pm 1.1\%$ 순이었다. 각 농도별 생존율을 보면 DMSO의 경우 1.0 M $19.3 \pm 0.7\%$, 1.5 M $51.6 \pm 1.2\%$, 2.0 M $84.2 \pm 0.8\%$ 으로 가장 높은 생존율을 보였으며, 2.5 M에서는 $28.5 \pm 1.3\%$, 3.0 M은 $8.8 \pm 1.0\%$ 의 생존율을 나타냈다. 또, EG의 경우 1.0 M에서 $8.8 \pm 1.2\%$, 1.5 M에서 $22.5 \pm 0.4\%$, 2.0 M에서 $44.3 \pm 1.5\%$, 2.5 M에서 $14.2 \pm 0.7\%$, 3.0 M에서는 $3.7 \pm 1.1\%$ 의 생존율을 보였다. Gly은 1.0 M $4.2 \pm 0.7\%$, 1.5 M에서 $22.7 \pm 2.2\%$, 2.0 M에서 $11.1 \pm 0.9\%$, 2.5 M에서 $4.1 \pm 1.0\%$, 3.0 M에서는 폐사하였다. PD은 1.0에서 $1.3 \pm 0.5\%$ 를 1.5 M에서 $4.4 \pm 0.7\%$, 2.0 M에서 $13.9 \pm 1.1\%$ 를 보였으나 2.5 M과 3.0 M에서는 폐사하였다.

Key words: 왕우럭, D상 유생, 냉동보존, 동해방지제