J. Korean Fish. Soc. 29(4), 474~480, 1996

한수지, 29(4), 474~480, 1996

# 排精期間中 감성돔 (*Acanthopagrus schlegeli*) 精液의 物理·化學的 變化

林漢奎·張榮振
釜慶大學校 養殖學科

# Physicochemical Changes in Black Seabream (*Acanthopagrus schlegeli*) Milt during the Spermiation Period

**Han Kyu LIM and Young Jin CHANG**
*Department of Aquaculture, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea*

**Physicochemical changes of milt during the spermiation period were investigated in black seabream (*Acanthopagrus schlegeli*) reared in recirculating seawater system.**

**The spermiation period for the milt collection in cultured brood stock was from 11 April to 4 June. During the spermiation period, average milt volume (ml/100 g body weight) was 0.70 ± 0.33 ml and maintained high level from 2 May to 4 June. The total number of stripping spermatozoa per 100 g body weight reached the maximum value ($3.32\times10^{10}$) in 9 May, then decreased rapidly thereafter. Spermatozoa concentration per ml reached the minimum value in 2 May. There was no change in spermatocrit for the spermiation period.**

**Total protein, total lipid, glucose and Na concentration in spermatozoa and seminal fluid were lower than those in plasma. Total protein, total lipid and K concentration in spermatozoa were higher than those in seminal fluid. The glucose concentration in spermatozoa and seminal fluid in April and May were significantly higher than those in June.**

**Key words** : *Acanthopagrus schlegeli*, spermatozoa, seminal fluid, spermiation

## 緖 論

산란시기에 配偶者 質의 좋고 나쁨을 판정하는 일은 人工種苗生産 결과를 향상시킬 수 있는 중요한 과정이다. 그러므로 受精率이나 孵化率을 높이기 위하여 採卵한 알에 대한 평가 방법은 다수의 연구자들에 의해 보고되어 왔었다 (Craik 1985; Kashiwagi et al. 1987; 清野 1974). 그러나 採精한 精液의 평가에 대한 자료는 아직 빈약한 실정이다. 따라서 효과적인 人工種苗生産 방법을 확립하기 위해서는 산란기간중 알뿐만 아니라 精液의 질적인 평가도 선행되어야 할 것이다.

현재까지 보고된 精液의 특성에 관한 연구 (Aas et al. 1991; Kruger et al. 1984; Lahnsteiner et al. 1994; Suquet et al. 1992)는 精液의 經時的 변화를 고려하지 않은 상태에서 단순한 물리·화학적 특성만 평가하였고, 산란기간 동안 經時的으로 精液의 특성변화를 조사한 보고는 대부분이 연어科 어류에 국한되어 있다 (Buyukhatipoglu and Holtz 1984; Munkittrick and Moccia 1987; Piironen 1985).

따라서 본 연구에서는 산업적으로 유용한 해산 어류인 감성돔 (*Acanthopagrus schlegeli*)을 대상으로 排精 기간중 精液의 물리·화학적 특성변화를 파악하여 어류의 人工種苗 생산을 위한 受精 作業時 효과

적인 採精時期를 판정하는데 기초 자료를 제공하고자 하였다.

## 材料 및 方法

### 1. 採精 및 排精期間

실험어는 부산수산대학교 양식생리학연구실의 순환여과 사육시스템에서 사육한 全長 25.9 ± 1.7 cm, 体重 292.8 ± 53.7 g의 감성돔 成魚를 사용하였다. 실험기간중 사육수의 수온은 17.5~23.0℃ (평균 20.7 ± 1.2 ℃), 비중은 1.0227~1.0263 (평균 1.0246 ± 0.0011) 범위였다. 사료는 시판용 넙치 浮上飼料였으며, 1일 공급량은 魚體重의 1% 내외로 하였다.

사육한 감성돔의 排精이 가능한 기간을 알아내기 위하여 어체의 腹部가 외형적으로 부풀어오르는 시기인 3월말부터 7일 간격으로 수컷 어미의 腹部를 가볍게 壓迫하여 精液의 流出 여부를 조사하였다. 排精期間은 腹部壓迫時 최초로 精液이 流出되는 시기로부터 더 이상 精液이 流出되지 않는 시기까지의 기간으로 하였다.

採精時 실험어는 200 ppm의 MS 222에 마취시킨 다음 각 개체별 표지를 하였고, 魚體로 부터 精液을 채취하기 위하여 泌尿生殖孔 주위를 가볍게 눌러 오줌과 배설물을 미리 제거하였다. 이후 마른 거즈로 泌尿生殖孔 주위를 깨끗이 닦은 다음, 腹部를 여러번 가볍게 문질러 채취하였다. 채취된 精液은 시험관에 넣어 밀봉한 후 실험에 사용될 때까지 얼음을 채운 ice box에서 보관하였으며, 採精後 1시간 이내에 실험에 이용하였다.

### 2. 精液의 物理·化學的 特性

採精된 精液의 양은 0.1 ml까지 눈금이 표시된 시험관을 사용하여 측정하였으며, 정액 1 ml 당 精子의 수를 측정하기 위하여 eosin 용액[1]으로 精子를 염색한 후, 광학현미경 아래에서 血球計算板을 이용하여 計數하였다. 精液의 spermatocrit (Bouck and Jacobson 1976)는 micro hematocrit법을 변형한 방법으로 측정하였다.

精液을 遠心分離 (6000 g, 10분)하여 얻은 精漿의 삼투압은 삼투압 측정기 (Fiske"OS$^{TM}$"osmometer)를 사용하여 측정하였으며, pH 측정기를 사용하여 精漿의 pH를 측정하였다.

遠心分離하여 얻은 精子와 精漿의 총 단백질, 총 지질 및 glucose 농도 그리고 Na 및 K 농도는 由岐 (1984)의 방법에 따라 각각 反應法, 比色定量法, 酵素法 및 불꽃 分光光度法으로 측정하였다.

각 실험 결과는 t-test, one-way ANOVA 및 Tukey test로 검정하였다 (Zar 1984).

## 結 果

### 1. 排精期間과 採精量

사육한 감성돔의 排精期間은 1995년 4월 11일부터 6월 4일까지 7주간이었다. 排精期間 동안 魚體重 100 g당 평균 採精量은 0.70 ± 0.33 ml였으며, 排精期의 중반인 5월 2일부터 6월 4일까지는 비교적 높게 유지되었다. 排精期間 동안 날짜별 魚體重 100 g당 採精한 精子의 총 수는 排精期의 초기인 4월 11일에 $0.52\times10^{10}$ 마리였고, 중반으로 갈수록 증가하여 5월 9일에 $3.32\times10^{10}$ 마리로 가장 많았다가 排精末期인 6월 4일에 $1.08\times10^{10}$ 마리로 급격히 감소하였다 (Fig. 1).

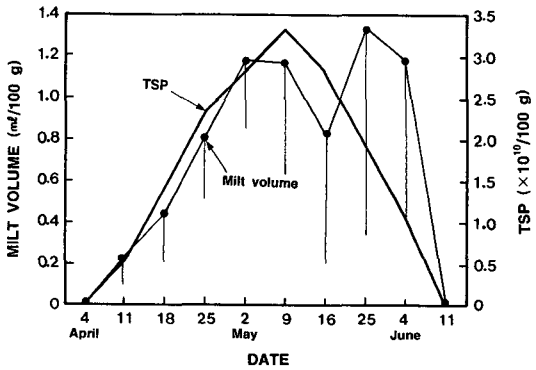


**Fig. 1. Variations of milt volume and total spermatozoa production (TSP) per 100 g body weight of black seabream during spermiation period. Vertical bars indicate standard deviations.**

1) 0.125M $Na_2HPO_4$ 80.4 ml + 0.125M $KH_2PO_4$ 19.6 ml + eosin 1g + aniline blue 1g

### 2. 排精期間에 따른 精液의 物理的 變化

排精期間 동안 精液을 遠心分離하여 얻은 精漿과 血漿의 물리적 특성들중 精液과 血漿의 pH는 각각 8.3 ± 0.1과 7.3 ± 0.1이었고, 精漿과 血漿의 삼투압은 각각 382 ± 70 mOsm/ kg, 342 ± 77 mOsm/kg으로 精漿이 血漿에 비해 pH와 삼투압 모두 다소 높은 값을 보였다. 排精期間 동안 採精된 精液의 평균 精子濃度는 2.87 ± 0.92×$10^{10}$/ml 마리였으며, spermatocrit는 97.4 ± 2.1이었다.

精液 1 ml당 精子濃度는 排精期 초반인 4월 18일에 3.06 ± 1.10×$10^{10}$ 마리로 가장 많았다가, 급격히 감소하여 5월 2일에 2.43 ± 0.24×$10^{10}$ 마리로 줄어든 후 다시 증가하였다. 그러나 spermatocrit는 排精期間 동안 94.8~98.2로 큰 변화가 없었다 (Fig. 2).

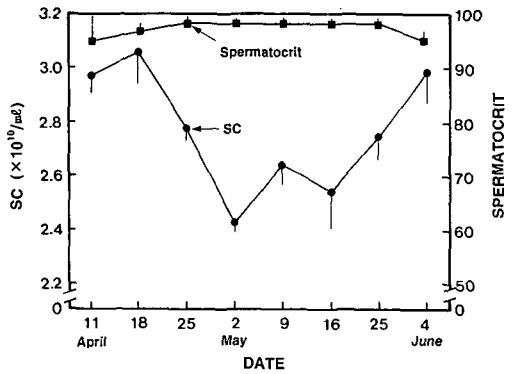


**Fig. 2. Variations of spermatozoa concentration (SC) and spermatocrit of black seabream during spermiation period. Vertical bars indicate standard deviations.**

### 3. 排精期間에 따른 精液의 化學的 變化

精液을 遠心分離하여 얻은 精子 및 精漿과 血漿의 화학적 특성은 Table 1과 같다. 총 단백질, 총 지질, glucose 및 Na 농도는 精子나 精漿에 비해 血漿이 모두 높은 값을 보였으나, K 농도는 血漿에 비해 精子나 精漿에서 높은 값을 보였다.

精子와 精漿에서의 총 단백질, 총 지질 및 K 농도는 精漿에 비해 精子에서 높았으나, glucose 및 Na 농도는 반대로 精漿에서 더 높았다.

排精期間중 4월에서 6월까지, 월별 精子와 精漿의 총 단백질, 총 지질 및 glucose 농도는 Fig. 3과 같다.

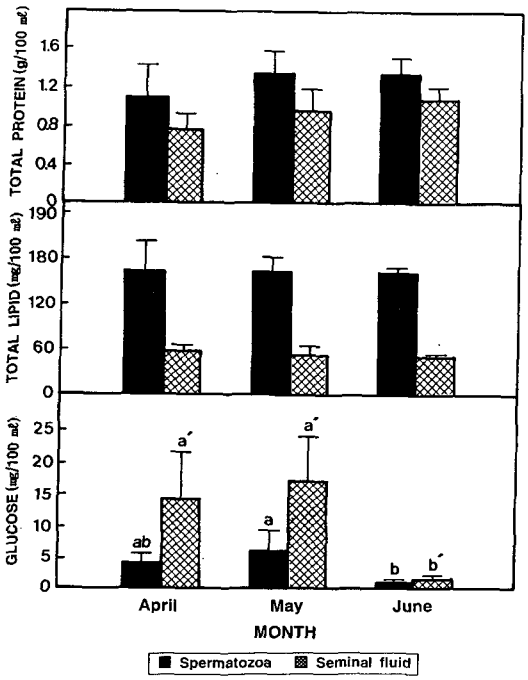


**Fig. 3. Variations of total protein, total lipid and glucose concentration of spermatozoa and seminal fluid in black seabream during spermiation period. Treatments marked with different letter differ significantly (P< 0.05).**

**Table 1. Chemical properties of spermatozoa, seminal fluid and plasma in black seabream**

| Properties | Spermatozoa | Seminal fluid | Plasma |
|---|---|---|---|
| Total protein (g/100 ml) | 0.6~1.6 | 0.3~1.2 | 3.4~3.8 |
| Total lipid (mg/100 ml) | 110~214 | 37~67 | 489~493 |
| Glucose (mg/100 ml) | 1~10 | 1~30 | 99~102 |
| Na (mEq/l) | 33~42 | 43~73 | 219~221 |
| K (mEq/l) | 48.1~53.1 | 33.7~49.8 | 4.9~5.1 |

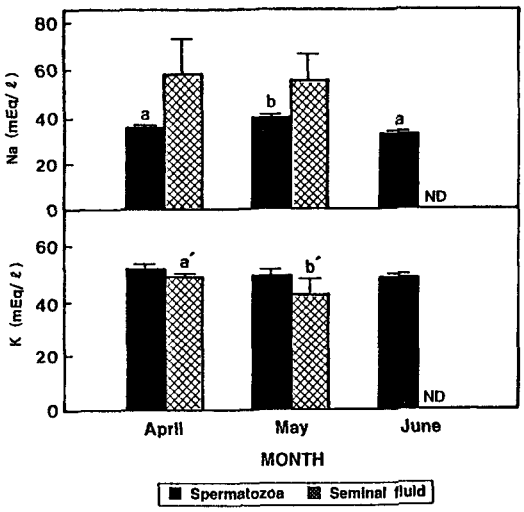


**Fig. 4. Variations of Na and K concentration of spermatozoa and seminal fluid in black seabream during spermiation period. ND: not detectable. Treatments marked with different letter differ significantly ($P<0.05$).**

精子의 단백질 농도는 4월 (1.1 ± 0.4 g/100 ml)에 비해 5월 (1.3 ± 0.2 g/100 ml)과 6월 (1.3 ± 0.2 g/100 ml)에 다소 높은 값을 보였으나 변화의 폭이 크지 않았고, 精漿에서는 排精末期로 갈수록 점차 증가하는 경향을 보였으나 유의차는 인정할 수 없었다 ($P>0.05$). 총 지질의 농도는 精漿에 비해 精子에서 월등히 높았으나 월별 차이는 없었다 ($P>0.05$). Glucose 농도는 4월이나 6월에 비해 채취 精子의 총 수가 가장 많았던 5월에 각각 4.2 ± 2.7 mg/100 ml와 13.7 ± 8.5 mg/100 ml로 유의하게 높았다 ($P<0.05$).

精子와 精漿의 Na 및 K 농도는 Fig. 4와 같다. 精漿의 Na 농도에서는 유의한 차이가 인정되지 않았으나 ($P>0.05$), 精子에서는 4월과 6월에 비해 5월에 유의하게 높았다 ($P<0.05$).

精子에서 K 농도는 48.3~51.7 mEq/l 범위로 排精期間 동안 유의한 차이가 인정되지 않았으나 ($P>0.05$), 精漿에서는 5월보다 4월에 유의하게 높았다 ($P<0.05$). 6월에 얻어진 精漿의 Na 및 K 농도는 採精된 精液量이 적어 측정할 수 없었다.

## 考　　察

본 연구에서 감성돔 精液의 pH는 8.3 ± 0.1로 排精期間 동안 7.4~7.8 범위를 보인 대서양연어, *Salmo salar* (Piironen 1985)나 turbot, *Scophthalmus maximus*의 7.31 ± 0.16 (Suquet et al. 1993) 및 숭어, *Mugil cephalus* 精液의 7.4 (Chao et al. 1975) 보다는 높았고, 汽水性 어류인 pejerrey, *Odontesthes bonariensis* (Strussmann et al. 1994)나 잉어과 어류 (Lahnsteiner et al. 1994)와는 비슷한 수준으로 약알카리성을 나타냈다. 그러나 Hwang and Idler (1969)는 대서양연어 精漿의 pH가 8.25 ± 0.03 이라고 보고하였고, Chao et al. (1987)은 *Oreochromis aureus*, 자바틸라피아, *O. mossambicus, O. niloticus* 및 *Tilapia zillii*의 pH가 6.2에서 pH 8.2까지 種에 따라 다양한 값을 가진다고 하였다. 이처럼 精液이나 精漿의 pH는 종에 따라 다양하고, 심지어 같은 種에서도 연구자에 따라 다양한 값이 보고되고 있다.

해산 어류의 精漿 삼투압은 일반적으로 담수 어류보다 높다. 무지개송어, *Salmo gairdneri*의 精漿 삼투압은 297 mOsm/kg이고, 금붕어와 잉어는 각각 317, 302 mOsm/kg으로 血漿 삼투압에 비해 30~50 mOsm/kg 높다 (Morisawa 1985). 그러나 해산 어류인 복섬, *Fugu niphobles*과 감성돔에서는 각각 342, 359 mOsm/kg으로 담수어류에 비해 40 mOsm/kg 정도 높으며, 血漿 삼투압과는 비슷한 수준인 것으로 알려져 있다 (Morisawa 1985). 본 연구에서 감성돔 精漿의 삼투압은 382 mOsm/kg로 Morisawa (1985)의 결과와 비슷한 수준을 보였다.

어류 精子의 농도를 나타내는 방법으로는 精液 1 ml당 精子의 수를 計數하는 방법과 spermatocrit를 측정하는 두가지 방법이 일반적이고, 최근에는 分光光度計를 이용하는 방법이 시도되고 있다 (Ciereszko and Dabrowski 1993; Suquet et al. 1992). 본 연구에서 血球計算板을 이용하여 計數한 감성돔 精液의 ml당 精子數는 $2.87 \pm 0.92 \times 10^{10}$ 마리로 대서양연어 (Aas et al. 1991), whitefish, *Coregonus clupeaformis* (Ciereszko and Dabrowski 1993) 및 turbot (Suquet et al. 1993) 보다는 높았고, 참연어, *Oncorhynchus keta*나 자바틸라피아 (Chao et al. 1987)와 비슷한 수준이었다. 본 연구에서 97.4였던 감성돔의 spermatocrit는 25 전후의 값을 보인 대서양연어 (Aas et al. 1991), 무지개송어 및 whitefish (Ciereszko and Dabrowski 1993)에 비해

월등히 높았다. 한편, 대서양연어에서 spermatocrit는 精子濃度와 유의한 상관관계가 인정되기 때문에 양식 현장에서 손쉽고 빠르게 精子濃度를 파악할 수 있는 방법이 될 수 있었다(Aas et al. 1991). 그러나 감성돔에서 spermatocrit는 排精期間을 통하여 精子濃度와 뚜렷한 상관관계가 인정되지 않았기 때문에 精子濃度를 파악하는 방법으로는 활용하기 어렵다고 생각된다. 따라서 앞으로 양식 현장에서 신속하고 간편하게 精子濃度를 파악할 수 있는 방법이 강구되어야 할 것이다.

어체중 100 g당 採精量은 排精期의 중반으로 갈수록 증가하다가 다시 감소하는 경향을 보였다. 이것은 무지개송어(Buyukhatipoglu and Holtz 1984)에서 排精期間 동안 2주 또는 4주 간격으로 採精했을 때 採精量이 증가하다가 감소함으로써 본 연구와 일치하였고, Munkittrick and Moccia(1987)도 무지개송어에서 실험기간동안 월별 精液 産出量이 점차 증가하였다가 감소하는 경향을 보고하였다. 그러나 排精期間이 지남에 따라 점차 감소하는 경향을 보인 spermatocrit는 본 연구의 결과와 차이를 보였다. 이러한 차이는 감성돔과 무지개송어의 排精期間, 精液特性 및 採精頻度 등이 서로 다르기 때문이라고 생각된다. 또 어류에 있어서 精子濃度, spermatocrit 및 精液量은 어종간 뿐만 아니라 同種 내에서도 魚體의 成熟度, 연령, 크기, 採精時期 및 精液의 採取頻度 등에 따라 차이가 크므로, 서로간의 직접적인 비교는 어렵다(Piironen 1985). 따라서 앞으로 이 문제에 대한 세밀한 검토가 요구된다.

지금까지의 연구결과 어류 精液에서 精子의 보호역할(Cruea 1969)을 한다고 생각되는 총 단백질 농도는 精子가 1.2 ± 0.2 g/100 ml, 精漿이 0.9 ± 0.2 g/100 ml로 turbot 精漿의 0.88 ± 0.16 g/100 ml와는 비슷하였으나 Kruger et al.(1984)과 Lahnsteiner et al.(1994)이 보고한 잉어과 어류보다는 매우 높았다. 특히 유리 아미노산이 精漿의 삼투질 농도를 높이고(Billard and Menezo 1984), 단백질이 體液의 膠質 삼투압을 조절한다는 사실을 감안할 때, 감성돔 精漿에서 고농도의 精漿 단백질 농도는 精漿 삼투질 농도의 조절에 관여할 것으로 추측된다.

精子와 精漿의 총 지질 함량은 단백질 농도와 같이 排精期間 동안 큰 차이가 없었으나, glucose 농도는 총 精子 採取數가 가장 많았던 5월에 가장 높았다. 이것은 陸封形 대서양연어, *Salmo salar M. sebago*의 산란기간중 산란기 말에 精漿의 총 지질과 glucose 농도가 갑자기 증가하였다(Piironen 1985)는 보고와 차이를 보였다. 이러한 glucose 농도의 經時的 변화는 Na이나 K과 같은 양이온 농도의 변화와 같이 精子質을 평가하는데 중요한 요인으로 이용 가능할 것이다. 특히 glucose는 어류 精子가 酸化過程을 통해서 세포 밖의 탄수화물을 이용할 수 있다는 사실을 고려해 볼 때(Gregory 1968), 精子의 운동과 생존에 필요한 간접적 또는 직접적 에너지원으로 이용될 것이다. 그러나 아직 精子와 精漿중 각 유기물들의 역할이 정확하게 구명되지 않았기 때문에 精巢에서의 지질 대사와 기타 유기물의 대사에 관한 보다 심층적인 연구가 요구된다.

## 要　　約

循環濾過 사육시스템에서 사육한 감성돔, *Acanthopagrus schlegeli*을 사용하여 排精時期에 따른 精液의 특성을 조사하였다.

사육한 감성돔의 排精期間은 1995년 4월 11일부터 6월 4일까지로 7주간이었다. 이 기간 동안 魚體重 100 g당 採取된 精液量은 평균 0.70 ± 0.33 ml였으며, 排精期의 중반인 5월 2일부터 6월 4일까지는 비교적 높게 유지되었다. 排精期間 동안 날짜별 魚體重 100 g당 採精된 精子의 총 수는 排精期의 중반으로 갈수록 증가하여 5월 9일에 $3.32\times10^{10}$ 마리로 가장 많았다가 급격히 감소하였다. 精液 1 ml당 精子濃度는 排精期 중반인 5월 2일에 가장 낮았다가 다시 증가하는 변화 경향을 보였다. 그러나 spermatocrit는 排精期間 동안 94.8~98.2로 큰 변화가 없었다.

총 단백질, 총 지질, glucose 및 Na 농도는 精子나 精漿에 비해 血漿이 모두 높은 값을 보였으나, K 농도는 血漿에 비해 精子나 精漿에서 높은 값을 보였다. 精子와 精漿에서의 총 단백질, 총 지질 및 K 농도는 精漿에 비해 精子에서 높았으나, glucose 및 Na 농도는 반대로 精漿에서 더 높았다. 정자와 精漿의 glucose 농도는 4월과 6월에 비해 채취 精子의 총 수가 가장 많았던 5월에 각각 4.2 ± 2.7 mg/100 ml와 13.7 ± 8.5 mg/100 ml로 가장 높게 나타났다.

## 參 考 文 獻


Aas, G.H., T. Refstie and B. Gjerde. 1991. Evaluation of milt quality of atlantic salmon. Aquaculture, 95, 125~132.

Billard, R. and Y. Menezo. 1984. The amino acid composition of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) seminal fluid and blood plasma: A comparison with carp (*Cyprinus carpio*). Aquaculture, 41, 255~258.

Bouck, G.R. and J. Jacobson. 1976. Estimation of salmonid sperm concentration by microhematocrit technique. Trans. Am. Fish. Soc., 105, 534~535.

Buyukhatipoglu, S. and W. Holtz. 1984. Sperm output in rainbow trout (*Salmo gairdneri*)—Effect of age, timing and frequency of stripping and presence of females. Aquaculture, 37, 63~71.

Chao, N.H., W.C. Chao, K.C. Liu and I.C. Liao. 1987. The properties of tilapia sperm and its cryopreservation. J. Fish Biol., 30, 107~118.

Chao, N.H., H.P. Chen and I.C. Liao. 1975. Study on cryogenic preservation of grey mullet sperm. Aquaculture 5, 389~406.

Ciereszko, A. and K. Dabrowski. 1993. Estimation of sperm concentration of rainbow trout, whitefish and yellow perch using a spectrophotometric technique. Aquaculture, 109, 367~373.

Craik, J.C.A. 1985. Egg quality and egg pigment content in salmonid fishes. Aquaculture, 47, 61~88.

Cruea, D.D. 1969. Some chemical and physical characteristics of fish sperm. Trans. Ame. Fish. Soc., 98, 785~788.

Gregory, R.W. 1968. Occurrence of fructose in trout seminal plasma. Trans. Am. Fish. Soc. 97, 203~204.

Hwang, P.C. and D.R. Idler. 1969. A study of major cations, osmotic pressure, and pH in seminal components of atlantic salmon. J. Fish. Res. Board Canada 26 (2), 413~419.

Kashiwagi, M., H. Sakaki, T. Takahashi and T. Iwai. 1987. A relationship between egg size and hatching rate in japanese whiting *Sillago japonica*. Nippon Suisan Gakkaishi, 53, 2105~2110.

Kruger, J.C.De W., G.L. Smit, J.H.J. Van Vuren and J. T. Ferreira. 1984. Some chemical and physical characteristics of semen of *Cyprinus carpio L.* and *Oreochromis mossambicus* (Petter). J. Fish Biol., 24, 263~272.

Lahnsteiner, F., R.A. Patzner and T. Weismann. 1994. The testicular main ducts and the spermatic ducts in some cyprinid fishes—II. Composition of the seminal fluid. J. Fish Biol., 44, 459~467.

Morisawa, M. 1985. Initiation mechanism of sperm motility at spawning in teleosts. Zool. Sci., 2, 605~615.

Munkittrick, K., R. and R. D. Moccia. 1987. Seasonal changes in the quality of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen: Effect of a delay in stripping on spermatocrit, motility, volume and seminal plasma constituents. Aquaculture, 64, 147~156.

Piironen, J. 1985. Variation in the properties of milt from the finfish landlocked salmon (*Salmo salar m. sebago* Girard) during a spawning season. Aquaculture, 48, 337~350.

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

Suquet, M., G. Dorange, M.H. Omnes, Y. Normant, A. Le Roux and C. Fauvel. 1993. Composition of the seminal fluid and ultrastructure of the spermatozoon of turbot (*Scophthalmus maximus*). J. Fish Biol., 42, 509~516.

Suquet, M., M.H. Omnes, Y. Normant and C. Fauvel. 1992. Assessment of sperm concentration and motility in turbot (*Scophthalmus maximus*). Aquaculture, 101, 177~185.

Zar, J.H., 1984. Biostatistical analysis. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs, N.J., 620pp.

由岐英剛. 1984. 生化學分析法. 南江堂, 東京, 日本.

496pp.
清野通康. 1974. 魚類の成熟と產卵. 恒星社厚生閣, 東京, 日本. 127pp.

1996년 4월 8일 접수
1996년 7월 6일 수리