

월년잠종의 2년간 냉장에 의한 보존 시험

손봉희* · 강필돈 · 이상욱 · 김용순
농업과학기술원 농업생물부

Preservation Experiment of Hibernating Silkworm Eggs by 2 Year Cold Refrigeration

Bong-Hee Sohn*, Pil-Don Kang, Sang-Uk Lee and Yong-Soon Kim
Department of Agricultural Biology, NIAST, Suwon 441-100, Korea

ABSTRACT

Long term preservation experiment through refrigeration was conducted for 2 year on 300 lines of silkworm races preserved, as one method for the development of long term safe preservation technique. Experiment with 6 treatments was conducted for 680 days from July 1st 2000 to May 1st 2002. Embryonic development was conducted to each treatment. There are no differences among treatments and races in 400 days preservation, the stage of whole embryonic development was Eul B and condition of eggs was good. In 650 days preservation experiment, differences were revealed among races and treatment, the level of whole embryonic development was Byeong A and condition of eggs was good. The order of embryonic development is European races > Tropical, Korean races > Japanese, Chinese races, thus European races showed fast embryonic development. Control(treatment A) and treatment C showed faster development than other treatments. And treatment D and F showed stable individual stage among all treatments. The test of shape characteristics and embryo which were conducted in hatching period showed 61% of high line succession possibility in average of 6 treatments. But treatment A and B showed no hatching, 3 lines of treatment C, 48 lines of treatment D, 1 line of treatment E, and 29 lines of treatment F showed slow development. And treatments D and F which showed stable embryo condition had highest possibility. The two treatments D and F showed good result among six treatments, and the preservation period of treatment D and F are 235 days and 310 days, and exposure period in -2.5°C ...was longer than other treatments. Numbers of hatched lines of treatment D and F are 48 and 29, and occupied 15.6% and 9.4% of all tested lines, respectively. Average hatching ratio of treatment D and F were 54.% and 71.6%, and average dead egg ratio were 12.6% and 2.4%, respectively. These results show that average ratio of hatching dead eggs in treatment D and F are higher than general line. Thus reconsideration of hatching condition on treatment D and F is needed.

Key words : Silkworm eggs, Genetic resources, Refrigeration conservation, Cold preservation

서 론

1993년 생물 다양성협약 발효 이후 각 국의 유전자원에 대한 보호주의가 팽배해지고 있다. 이로 인하여 자국의 이익을 위해 자원 분양을 꺼려하고 있는 실정이므로 유전자원의 적극적인 수집은 물론 품종육성 등의 기초소재 등 활발한 자원 이용을 위해 보유 중인 유전자원의 안전한 보존법도 주요과제가 되고 있다(이, 1998). 현재 한국의 누에유전자원은 일본종 90계통, 중국종 96계통 등 지역종 특성에 의해 분류된 321계통이 등록되어 있으며 농업과학기술원에서 매년 사육을 통하여 계대 보존되고 있다.

그러나 누에유전자원은 계대 보존 시, 잠종 혼합사고 등으로 고유형질의 변화 위험성이 항시 상존하고 있으며 새로운 유전자원 도입, 돌연변이 개체 출현 등 계통 수의 증가로 계대 보존 노력 또한 매년 증가하고 있는 실정이다(山下, 1986). 누에유전자원의 계대보존은 매년 사육 후 월년 잠종 상태로 보호가 이루어지고 있다. 월년잠종 보호법은 단식냉장법에 준하여 행해지고 있는데 기존 냉장법인 단식냉장법에 의한 누에씨의 보존 가능기간은 1년(난기간 300일)이다. 따라서 본 시험에서는 누에유전자원 계대 보존의 생력화를 꾀하고 장기 안전 보존법에 대한 가능성을 검토코자 월년잠종의 2년간 냉장에 의한 보존

*Corresponding author. E-mail: sbh0112@rda.go.kr

(난기간 680일)시험을 수행하였다.

재료 및 방법

월년잠종의 2년간 보존시험을 위하여 시험재료는 보존 중인 누에유전자원 321계통 중 산란상태나 부화비율이 떨어지는 계통을 제외한 300계통을 공시하였다. 장기냉장 보존 처리법은 그림 1과 같이 현행냉장법인 단식냉장법(보호기간 300일), 복식냉장법(보호기간 400일) 시스템을 참고로 하여 작성하였다. 즉, 2년(730일)간 보호기간 중 최청기간, 유충기간, 번데기기간 등 50일을 제외한 680일 보호 시스템을 설정하였으며 시험 기간은 2000년 7월1일부터 2002년 5월1일까지로 하였다. 시험구는 대조구를 포함한 6개 시험구로, 표 1과 같이 보호온도 별 냉장일수 및 중간처리를 달리하여 설정하였다. 보호온도는 -2.5°C, 0°C, 2.5°C, 5°C 범위 내로 설정하였으며 보호습도는 60~90%를 유지하도록 하였다. 주요 조사항목으로는 계대보존의 가능성 지표가 되는 부화비율, 최청사란비율에 비중을 두어 조사하였고 기타 2년간 냉장보호기간을 거쳐 부화된 계통들의 전전충, 건충충, 건충비율 등 사육성적을 조사하였다.

결과 및 고찰

1. 시험구 별 배자검사

냉장보호 기간 중 잠란의 발육 진전 상태를 알아보기 위하여 시험구 별로 배자검사를 실시하였다. 배자검사에 사용된 시험재료는 일본종, 중국종 등 원산지 별로 8~10계통을 사용하였으며 사용된 계통명은 표 2와 같다. 시험구 별 배자검사 결과, 표 3과 같이 잠종보호 400일 경과한 배자의 발육단계는 시험구 별, 원산지 별로 배자발육

차이는 나타나지 않았으며 전체 배자발육 정도는 을A 수준이었다. 표 4의 잠종보호기간이 500일인 경우, 원산지 별, 시험구 별 차이를 보이며 전체 배자발육 정도는 을B 수준이었으며 잠란 상태는 양호하였다. 원산지 별로 보면 유럽종> 열대종, 한국종> 일본종, 중국종 순으로 유럽종이 발육경과가 빨랐다. 시험구 별로 보면 대조구(A)와 시험구 C, 2개 시험구가 타 4개 시험구보다 발육정도가 빨

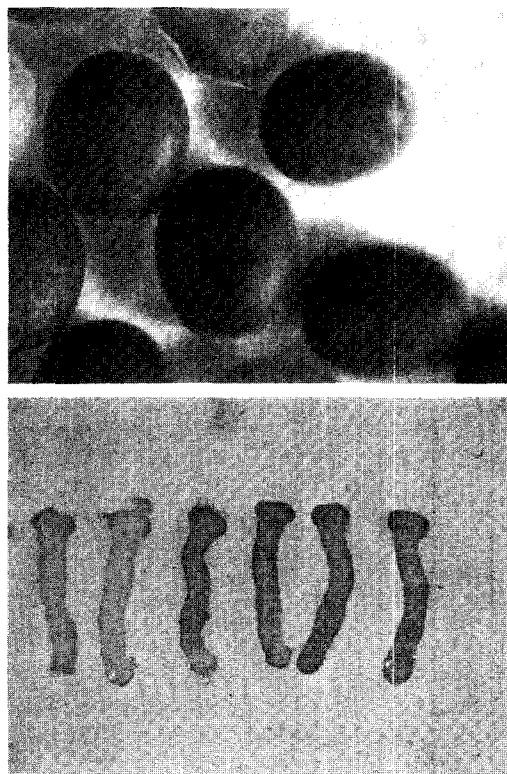


Fig. 2. Photographs of cold conserved eggs(400 days) and embryos.

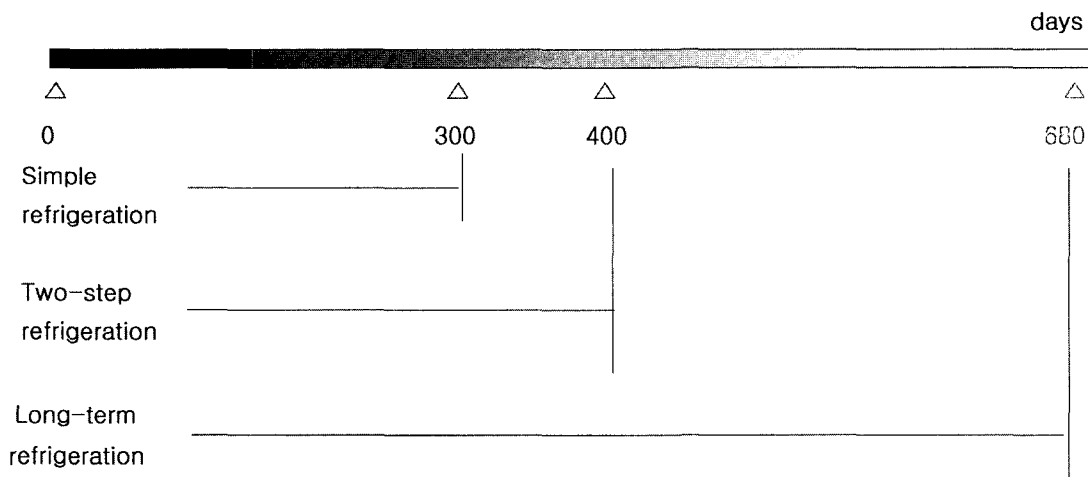


Fig. 1. Preservation methods according to refrigeration periods : 2000. 7. 1~2002. 5. 1(680 days).

랐으며 전체 시험구에서 D구가 개체 별로 발육정도가 안정된 상태였다. 표 5와 같이 잠중보호기간이 650일인 경우, 배자의 발육단계는 원산지 별, 시험구 별 차이를 보



Fig. 3. Embryos of the coldy preserved eggs(for 500 days).

이며 전체 배자발육 정도는 병A 수준이었으며 잠란 상태는 양호하였다. 원산지 별로 보면 잠중보호기간 500일 경과 시의 배자검사 결과와 같이 유럽종>열대종, 한국종>일본종, 중국종 순으로 유럽종이 발육경과가 빠른 것으로 나타났다. 시험구 별로 보면 대조구(A구)와 C구 2 시험구가 기타 시험구보다 발육정도가 빨랐으며 전체 시험구에서 D구와 F구가 개체 별로 발육정도가 안정된 상태였다.

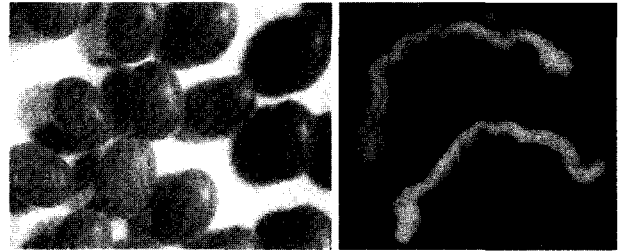
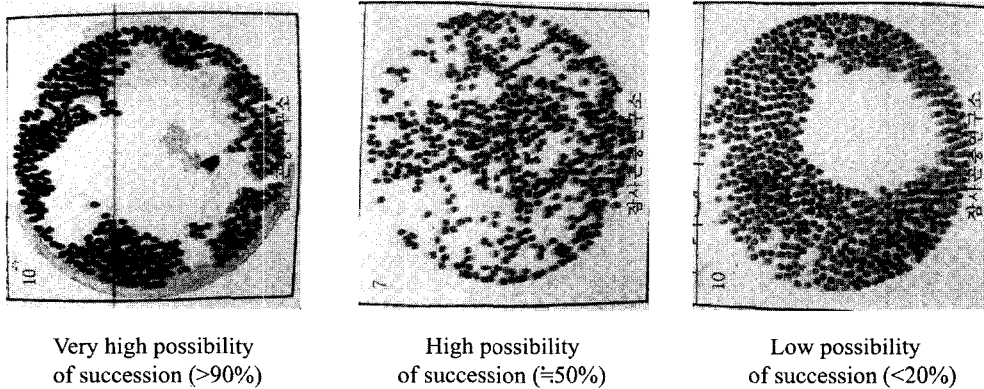


Fig. 4. Photographs of cold preserved eggs(650 days) and embryos.



Very high possibility of succession (>90%)

High possibility of succession (≈50%)

Low possibility of succession (<20%)

Fig. 5. Photographs of outward shape of cold conserved eggs just before incubation.

Table 1. Preservation period by refrigeration temperature and periods of intermediate care day

Treatment	Refrigeration period by conservation temperature						Intermediate care (days/No. of times)
	25°C (days)	Natural temperature (days)	-2.5°C (days)	0°C (days)	2.5°C (days)	5°C (days)	
A	60	90	120	360	-	30	(8/4)
B	60	90	175	230	90	30	(5/5)
C	60	90	110	230	150	30	(6/6)
D	60	90	235	110	100	60	(7/7)
E	90+30*	15	175	240	120	-	(5/5)
F	90	20	310	80	140	30	(6/6)
Control I (Simple refrigeration)	60	90	-	-	90	60	(3/1)
Control III Two-step (refrigeration)	60	90	110	30	90	30	(3/1)

* 90+30 : 90days 25°C, 30days 20°C preservation

Table 2. Races used for embryo test

	Japanese races	Chinese races	European races	The others	
				Tropical races	Korean races
Varieties	N74	C14	Sansyurian	HM	Sammyeonjam
	Hukjam	Chungcun	Kyeonsaekjuk	SA 2	Sammyeonhong-huibak
	Nd	LY	E56	SA10	Hansammyeon
	Nd-s	C-heebaekran	Rok1042		Koreasammyeon
	N76	Hansungbanmun	IJPE		
	DY	Soyang	AP		
	Bukak	C7	Pedts		
	Myeon49	Jam106	E58		
	Usungjukee	Chunmun	I-NOVI		
	N19	Crimson	Bagdad		

Table 3. Results of embryonic development after 400 days preservation

Original races	Treatment					
	A*	B	C	D	E	F
Japanese races	Eul A ⁻ ~ Eul B	Eul A~ Eul B	Eul A~ Eul B	Eul A ⁻ ~ Eul A	Eul A ⁻ ~ Eul A+	Eul A ⁻ ~ Eul A+
Chinese races	Eul A ⁻ ~ Eul A+	Eul A~ Eul B	Eul A ⁻ ~ Eul A+	Eul A~ Eul B	Eul A~ Eul A+	Eul A~ Eul A+
European races	Eul A ⁻ ~ Eul A+	Eul A ⁻ ~ Eul A+	Eul A ⁻ ~ Eul A+	Eul A ⁻ ~ Eul B	Eul A ⁻ ~ Eul A+	Eul A ⁻ ~ Eul A
Tropical & Korean races	Eul A~ Eul B	Eul A~ Eul A	Eul A+~ Eul B	Eul A ⁻ ~ Eul B	Eul A~ Eul A+	Eul A ⁻ ~ Eul A+

※ A* : Control

Table 4. Results of embryonic development after 500 days preservation

Original races	Treatment					
	A*	B	C	D	E	F
Japanese races	Eul B ⁻ ~ Byeong A ⁻	Eul B ⁻ ~ Byeong A ⁻	Eul B~ Byeong A ⁺	Eul A ⁺ ~ Eul B ⁺	Eul B ⁻ ~ Byeong A ⁺	Eul B~ Byeong A ⁺
Chinese races	Eul B~ Byeong A	Eul A ⁺ ~ Eul B	Eul B~ Byeong A	Eul B~ Eul B ⁺	Eul B ⁻ ~ Byeong A ⁺	Eul B ⁻ ~ Byeong A
European races	Eul B~ Eul B ⁺	Eul A ⁺ ~ Eul B ⁺	Eul B~ Byeong A	Eul B ⁻ ~ Eul B	Eul B ⁺	Eul B~ Eul B ⁺
Tropical & Korean races	Eul B ⁻ ~ Eul B ⁺	Eul A ⁺ ~ Eul B	Eul B ⁻ ~ Eul B	Eul B ⁻ ~ Eul B ⁺	Eul B ⁻ ~ Eul B ⁺	Eul B~ Eul B ⁺

※ A* : Control

2. 2년간 냉장 보존 잡종의 부화 조사

표 6에서와 같이 최청기간 중 잠란의 외형적 성장조사 및 배자검사 결과, 계대보존 가능성(예상 부화비율)은 전체 6개 시험구 평균 61%로 높게 나타났다. 그러나 실제 부화된 계통은 시험구A, B는 전무하였고 시험구C 3계통, 시험구D 48계통, 시험구E 1계통, 시험구F 29계통으로

배자발육이 늦고 배자상태가 안정적이었던 D구와 F구가 계대보존 가능성이 높은 시험구로 나타났다. D, F 2개 시험구의 부화된 계통수는 각 48계통, 29계통으로 전체 조사계통의 15.6%, 9.4%를 차지하였다. 이와 같이 A~F 6개 시험구 중 D, F 2개 시험구의 성적이 우수한 결과를 보인 것은 시험구 D, F의 -2.5°C 보호기간이 각 235일과

Table 5. Result of embryonic development before incubation(650 days preservation)

Original races	Treatment					
	A*	B	C	D	E	F
Japanese races	Byeong B~ Jeong A ⁺	Byeong A~ Jeong B ⁺	Byeong A~ Jeong A	Eul B~ Byeong B ⁺	Eul B ⁻ ~ Byeong B	Eul A ⁺ ~ Byeong B+
Chinese races	Byeong A~ Jeong A ⁺	Byeong A~ Byeong B ⁻	Byeong A~ Jeong A+	Eul B ⁺ ~ Byeong A+	Eul B~ Byeong B	Eul A ⁺ ~ Byeong B
European races	Byeong B~ Jeong A	Byeong A~ Byeong B	Byeong A ⁺ ~ Jeong A	Byeong A~ Jeong A	Eul B ⁻ ~ Byeong B	Eul B~ Byeong B
Tropical & Korean races	Jeong A	Byeong A	Byeong B ⁺ ~ Jeong A ⁺	Byeong B ⁺	Eul A ⁺ ~ Byeong A	Eul A~ Eul B

※ A* : Control

Table 6. Comparison of expected hatchability and real hatchability just before incubation

Treatment	Total No. of races surveyed	Expected hatchability(%)				Real hatchability results	
		<20	20~50	50~90	90< ¹⁾	No. of hatched races	Hatchability (%)
A	309	19.1	18.1	20.4	42.4	-	0
B	318	8.5	23.3	28.0	40.3	-	0
C	306	27.5	31.7	25.8	15.0	3	1.0
D	307	30.6	21.5	29.0	18.9	48	15.6
E	305	17.4	26.2	33.1	23.3	1	0.3
F	308	22.7	25.3	34.4	17.5	29	9.4

¹⁾ Possibility of succession : <20 ; very low, 20~50 : exists, 50~90 ; high, 90< ; very high.

Table 7. Average hatchability of tester D and F

Treatment	No. of surveyed races	Average hatchability (%)	Averaged died egg rate after body pigment stage (%)	Average died egg rate (%)
Control (Normal eggs)	17	88.9	8.9	1.3
D	16	54.5	33.0	12.6
F	7	71.6	25.0	2.4

310일로써 타 시험구보다 -2.5°C 접촉기간이 길었던 것에 원인이 있는 것으로 사료된다. 한편, 표 7은 성적이 우수 하였던 시험구 D, F구에 대한 장기냉장란의 평균 부화조사 결과이다. 표에서 알 수 있듯이 D, F 시험구의 평균부화비율은 각 54.5%, 71.6%였으며 평균사란비율은 각 33.0%, 25.0%로 상당히 높게 나타났다. 또한 표 8의 D, F 시험구의 품종 별 부화조사 결과를 보면 두 시험구에서 Nd, Nd-t, Nd-s 등 고치를 완전히 짓지 않거나 일부만 짓는 돌연변이 계통인 Nd계통이 부화비율 85%이상을 나타냄으로써 냉장저항성 계통 이용 소재로서의 가능성이 있음을 알 수 있었다. 이상의 결과를 보면 D, F 두 시험구 모두 최첨사란비율이 일반계통보다 높게 나타나 앞으로 두 시

험구에 대한 최첨조건의 재검토가 필요함을 알 수 있었다.

3. 시험구 D, F구 부화계통의 사육성적

시험구 D, F구 부화계통의 사육성적을 표 9에 나타내었다. 시험구 D, F구에서 중복 부화된 계통인 N44와 일 119계통을 대상으로 기존 냉장법인 단식냉장법을 이용, 일반 표준사육에 준하여 사육된 N44와 일 119계통을 대조로 하여 시험한 결과 장기냉장 시험구 D, F 모두 사육경과 일수의 지표가 되는 5령 및 전령 유충경과일수가 대조에 비해 길어짐을 알 수 있었다. 기타 사육성적을 보면 표준 냉장법에 의해 사육된 대조와 유사한 성적을 보여주고 있다. 특히 N44계통의 경우 전전중, 견충중, 견충비율 등이

Table 8. Average hatchability of Varieties in treatment D and F

Treatment	Variety	Hatchability (%)	Averaged died egg rate after body pigment stage (%)	Average died egg rate (%)
D	34	7.3	22.5	74.7
	Jung112	17.7	49.6	32.7
	Nakdong	16.8	56.0	26.8
	II119	81.0	17.5	1.5
	4051	34.3	65.5	0.2
	C66	24.5	71.7	3.6
	Soyang	81.5	14.2	4.3
	N76	42.2	53.0	4.0
	Damhukjam	35.1	43.3	21.6
	C70	66.2	32.1	1.5
	N44	71.4	22.1	5.5
	L862	25.1	57.5	17.4
	Nd	94.9	4.3	0.9
	Nd-t	87.6	6.5	6.0
	Nd-s	96.0	3.7	0.2
N6	90.7	8.2	1.1	
Average		54.5	33.0	12.6
F	4051	54.5	40.8	3.0
	R-Hwang	55.1	40.4	4.5
	N44	65.8	28.8	5.5
	C70	86.6	12.3	0.4
	Woosungnokeui	68.3	30.5	1.2
	II119	81.5	17.2	1.1
	Nd	94.9	4.3	0.9
Average		71.6	25.0	2.4

Table 9. Comparison of rearing results in treatment D and F

Variety	Treatment	Larval period (days.hr.)		Newly exuviated larvae weight (g)		Pupation rate (%)	10,000 3rd molted larvae (kg)	Single cocoon weight (g)	Cocoon shell weight (cg)	Cocoon shell percentage (%)
		5th	Total	♀	♂					
N44	Control	6.22	23.07	0.98	0.92	97.1	12.8	1.42	27.9	19.6
	D	8.11	29.06	1.03	1.04	98.2	14.6	1.78	38.0	21.4
	F	8.08	29.04	1.12	1.08	99.6	15.1	1.57	35.8	22.7
II119	Control	7.06	25.00	0.62	0.55	88.8	13.5	1.58	34.5	21.8
	D	9.00	28.20	0.59	0.54	78.0	10.1	1.32	31.0	23.5
	F	8.11	29.06	0.57	0.57	84.3	11.9	1.42	34.6	24.3

대조보다 우수한 결과를 나타내었다(Table 8, 9).

적 요

누에유전자원의 장기 안전보존 기술 개발의 일환으로 우선 보존 중인 300여 계통에 대한 2년간 냉장에 의한 장기보존시험을 하였다. 보호 온도 별 냉장일수 및 중간처리 횟수를 달리한 6개 시험구로 잠종보호기간을 2000년 7월1일부터 2002년 5월1일까지 680일로 하였다.

시험구 별 배자검사 결과, 잠종보호기간 400일의 경우 시험구 별, 원산지 별로 배자발육 차이는 나타나지 않았

으며 전체 배자발육 정도는 을A 수준이었다. 잠종보호기간 500일의 경우, 원산지 별, 시험구 별 차이를 보이며 전체 배자발육 정도는 을B 수준이었으며 잠란 상태는 양호하였다. 잠종보호기간 650일의 경우, 원산지 별, 시험구 별 차이를 보이며 전체 배자발육 정도는 병A 수준이었으며 잠란 상태는 양호하였다. 원산지 별로 보면 유럽종>열대종, 한국종>일본종, 중국종 순으로 유럽종이 발육경과가 빨랐으며 시험구 별로 보면 대조구(A구)와 C구 2 시험구가 기타 시험구보다 발육정도가 빨랐으며 전체 시험구에서 D구와 F구가 개체 별로 발육정도가 안정된 상태였다. 최청기간 중 잠란의 외형적 정상조사 및 배자검사 결과,

계대보존 가능성(예상 부화비율)이 전체 6개 시험구 평균 61%로 높게 나타났다. 그러나 실제 부화된 계통은 시험구 A, B는 전무하였고 시험구 C 3계통, 시험구 D 48계통, 시험구 E 1계통, 시험구 F 29계통으로 배자발육이 늦고 배자상태가 안정적이었던 D구와 F구가 가능성 높은 시험구로 나타났다.

A~F 6개 시험구 중 D, F 2개 시험구의 성적이 우수하였는데 시험구 D, F의 -2.5°C 보호기간은 각 235일과 310일로 타 시험구보다 -2.5°C 접촉기간이 길었다.

D, F 2개 시험구의 부화된 계통수는 각 48계통, 29계통으로 전체 조사계통의 15.6%, 9.4%를 차지하였다. D, F 시험구의 평균부화비율은 각 54.5%, 71.6%였으며 평균사란비율은 각 33.0%, 25.0%였다

이상의 시험 결과를 보면 D, F 두 시험구 모두 최청사란비율이 일반계통보다 높게 나타나 월년잠종의 2년간 냉

장보존을 위해서는 최청사란비율에 직접적으로 작용하는 최청 조건의 재검토가 우선적으로 필요함을 알 수 있었다.

인용문헌

- Chikushi, H. (1972) Genes and genetical stocks of the silkworm. Keigakusha, Tokyo.
- 이상몽 (1998) 곤충이용기술개발에 의한 21세기 곤충생물산업화 연구개발 전망. 韓蠶學誌 40(2): 185~190.
- Simizu, M. (1988) The method of labor saving conservation of silkworm eggs by cold preservation. Sansi-Kenkyu 142: 45~51.
- Tamura, T. and Sakate, S. (1985) Preservation of spermatozoa of the silkworm, *Bombyx mori*, by freezing. Sanshi-Kenkyu 134 : 123~128.
- 山下興亞 (1986) 家蠶卵の長期保存に關する研究. 昭和60年度科學研究成果報告書 6~11.