

## O-8 황복(*Takifugu obscurus*)의 정액특성과 정자보존

장영진, 임한규, 장윤정\*, 김형선<sup>1</sup>  
부경대학교 양식학과, 한국해양연구소<sup>1</sup>

### 서 론

우리나라의 수산자원 감소에 따른 양식대상 어종의 다양화와 특산어종의 양식 개발이 요구되고 있는 시점에서, 황복은 고소득 양식대상 어종으로 대두되고 있다. 황복의 양식개발을 위해서는 우선적으로 종묘가 확보되어야 하며, 이러한 종묘는 양질의 알과 정자로부터 생산된다. 그러나 황복은 하천에 소상하여 산란하는 습성 때문에 자연 자원량이 남획에 의해 급격히 감소하고 있을 뿐만 아니라, 아직까지 인위적인 어미사육이 이루어지지 않고 있는 실정이므로, 양질의 배우자를 얻는데는 어려움이 많다. 이러한 어려움을 극복하기 위한 한가지 방법으로 한쪽 성의 배우자인 정자를 보존할 필요가 있다.

이 연구에서는 황복(*Takifugu obscurus*) 정액의 특성을 파악하고, 정자의 보존조건에 관한 연구를 통해 황복 정자의 냉장·냉동보존 기술개발을 위한 기초자료를 얻고자 하였다.

### 재료 및 방법

실험어는 황복의 산란기인 5월중에 임진강에서 어획한 것을 사용하였다.

정액의 특성을 파악하기 위하여, 정자의 농도, spermatocrit, 정장(seminal plasma)의 삼투질농도, 정자와 정장의 총 단백질, 총 지질, glucose 함량과 Na, K, Ca 및 Mg의 농도를 조사하였다.

정자의 냉장보존에 적합한 희석액을 결정하기 위하여, egg-tris, 0.1 M, 0.3 M, 0.5 M glucose 및 해수어류 생리식염수(marine fish Ringer's solution, MFRS) 등의 5가지 희석액을 사용하여 정자를 냉장보존 하면서 정자활성지수(sperm activity index, SAI)와 수정률을 파악하였다.

희석액에 따른 정자의 냉동보존 효과를 조사하기 위한 실험에서는 Alsever's solution, egg-tris, 5% glucose 및 MFRS를 희석액으로 하여 정액과 혼합한 후 냉동하였다.

냉동보존에 적합한 동해방지제의 종류와 농도를 결정하기 위하여, 희석정액에 dimethyl sulfoxide (DMSO)와 glycerol을 각각 최종농도가 5, 10, 15, 20%가 되도록 첨가한 후 냉동하였다.

적합한 보존조건을 결정하기 위하여 여러 가지 희석액 중 보존효과가 좋았던 MFRS를 희석액으로 하고, 동해방지제인 DMSO의 최종농도를 5, 10, 15, 20%가 되도록 첨가한 후 냉동하였다.

정자를 냉동하기 위해서, 희석정액이 주입된 소 정자보존용 straw를 액체질소 증기(-76°C)에 의해 천천히 1차 냉동한 다음, 신속히 액체질소(-196°C)에 넣어 2차 냉동하는 방법을 사용하였다 (奥村·廣瀬, 1991).

### 결과 및 논의 정액의 특성

정액의 ml당 정자수는  $1.13 \pm 0.34 \times 10^{10}$ 이었고 spermatocrit는  $64.8 \pm 1.4$ 였으며, 정장의 삼투질농도는  $266 \pm 2$  mOsm/kg이었다. 일반적으로 정장의 삼투질농도는 해수어류가 담수어류에 비해 높은 것으로 알려져 있다. 그러나 황복의 경우에는 하천의 하류부근 및 근해에 서식한다 할지라도 번식기에는 하천의 중상류까지 거슬러 올라가므로, 번식기의 정장 삼투질농도가 환경수의 영향에 의해 담수어류와 비슷한 수준으로 낮아진 것으로 보인다. 총 단백질 함량과 총 지질 함량은 정장에 비해 정자에서 많았고, glucose는 검출되지 않았다. Ca와 Na 농도는 정자에 비해 정장에서 높은 값을 보였고, Mg와 K 농도는 정장에 비해 정자에서 높은 값을 보였다. Ca, Mg, K 및 Na 등의 이온들은 정자 세포막을 중심으로 막 내외의 농도경사가 포유류의 세포 내외의 이온 농도경사와 동일한 경향을 보였는데, 이것은 정자의 원형질막도 생체막과 동일한 선택적 투과성을 가진다는 것을 의미한다.

### 냉장보존

냉장보존에 적합한 희석액을 결정하기 위한 실험에서, 희석직후의 희석액별 SAI는 egg-tris에서 0.5로 가장 낮았고, 그 외 4가지 희석액에서는 0.9였다. 보존 5일째 0.3 M glucose의 SAI는 0.65로 다른 희석액에 비해 높은 값을 보였다. 정자의 냉장보존에 적합한 희석액의 종류는 어종에 따라 차이가 있는데, 각 어종에 적합한 희석액, 특히 삼투질농도나 이온조성이 보존하고자 하는 종의 정장조성과 비슷한 것을 선택함으로써 냉장보존의 효과를 높일 수 있을 것이다. 이 연구에서 보존 16일째에는 모든 희석에서 정자가 운동성을 보이지 않았다. 신선한 정액을 알과의 수정에 이용한 대조구에서는 수정률이  $72.4 \pm 3.3\%$ 였으나, 여러 가지 희석액에서 냉장보존한 정자를 알과의 수정에 이용하였을 때는 그 수정률이 0~0.7%로

매우 낮았다. Saad et al. (1988)은 잉어 정자의 냉장보존에서 항생제 첨가시 보존 16일후에 80%의 수정률을 보였다고 하여, 정자의 냉장보존시 항생제 첨가의 중요성을 강조하였다.

#### 냉동보존

정액을 여러 가지 희석액과 혼합하고 동해방지제를 첨가하여 냉동보존한 후 알과 수정시킨 결과, 희석액으로 MFRS를 사용하였을 때, 수정률이  $24.6 \pm 4.1\%$ 로 나타나, 다른 희석액에 비해서는 유의하게 높았으나( $P < 0.05$ ), 대조구의  $61.7 \pm 3.3\%$ 에 비해서는 낮은 값이었다. 나머지 희석액의 수정률은  $0 \sim 5.1\%$ 로 매우 낮았다.

정자의 냉동보존에 적합한 동해방지제의 종류와 농도 결정을 위한 실험에서 동해방지제인 DMSO를 최종농도가 5%가 되도록 첨가하였을 때, 수정률은  $28.3 \pm 3.3\%$ 로 대조구의  $61.7 \pm 3.3\%$  보다는 낮았지만, 다른 농도 보다는 유의하게 높았다( $P < 0.05$ ). 동해방지제로서 glycerol을 사용하였을 때는 DMSO에 비해 낮은 효과를 보였다. 그러므로, 정자의 냉동보존에는 어중에 따라 적합한 동해방지제의 종류와 농도를 밝혀져야 하므로, 어느 어종의 정자를 냉동보존하고자 할 때는 동해방지제에 관한 연구가 반드시 필요하다.

여러가지 희석액 중 보존효과가 가장 좋았던 MFRS를 희석액으로 하고, 동해방지제로 DMSO를 농도별로 첨가하여 냉동보존하였을 때, 동해방지제의 농도가 높을수록 해동정자의 수정능력은 낮아지는 경향을 보였다.

DMSO를 최종농도가 5%가 되도록 혼합하여 냉동하였을 때, 해동정자의 수정률은  $79.3 \pm 7.5\%$ 로 다른 농도에 비해 보존효과가 가장 좋았으며, 대조구의  $82.5 \pm 2.5\%$ 와도 유의한 차이를 보이지 않았다( $P > 0.05$ ).

#### 요약

정액의 ml당 정자수는  $1.13 \pm 0.34 \times 10^{10}$ 이었고 spermatocrit는  $64.8 \pm 1.4$ 였으며, 정장의 삼투질농도는  $266 \pm 2$  mOsm/kg이었다. 총 단백질 함량과 총 지질 함량은 정장에 비해 정자에서 높은 값을 보였고, glucose는 검출되지 않았다. 황복 정자를 16일간  $0 \pm 0.5^\circ\text{C}$ 에서 냉장보존 하였을 때, 수정률은  $0 \sim 0.7\%$ 로 보존효과가 저조한 것으로 나타났다. 황복 정자의 냉동보존을 위한 희석액으로는 marine fish Ringer's solution, 동해방지제로는 5% DMSO가 적합하였으며, 이때의 수정률은  $79.3 \pm 7.5\%$ 였다.

#### 참고문헌

- Saad A, Billard R, Theron MC, and Hollebecq MG (1988) Short-term preservation of carp (*Cyprinus carpio*) semen. *Aquaculture* 71: 133-150.
- 奥村重信, 廣瀬慶二 (1991) 凍結保存精子によるアカアマダイの人工受精. *水産増殖* 39: 441-445.