

## 넙치(*Paralichthys olivaceus*) 정액의 냉동보존과 보존정자를 이용한 치어 생산

장윤정·장영진·이정용\*

부경대학교 양식학과

\*국립수산진흥원 강릉수산종묘시험장

### 서 론

넙치(*Paralichthys olivaceus*)는 1986년부터 본격적으로 양식되기 시작한 어종으로 현재 국내 어류 양식에서 차지하는 비율이 가장 높다. 그러나, 한정된 친어에서 생산된 수정란의 사용으로 유전적 다양성이 감소하고 있어, 우량한 형질의 유전자를 가진 친어를 이용하여 유전적 다양성을 유지하는 일이 필요하다. 또한, 일본에서 수입된 수정란으로 생산된 치어가 우리나라 연안에 방류됨으로써, 자연 상태에서 국산 넙치와의 잡종이 발생하고 있어 국산 넙치의 종보존이 시급한 실정이다. 이러한 어려움을 극복하기 위한 한 방법으로 정액의 냉동보존을 들 수 있다.

어류 정자의 냉동보존은 Blexter (1953)가 청어의 정액을 반년간 보존해 수정에 성공한 이래로, 많은 연구자들에 의해 진행되어 왔다. 어류 정액을 냉동함으로써 선택적인 교배가 가능하고, 우량종의 유전자를 보존할 수 있으며, 연중 정액의 이용이 가능하고, 수컷 어미의 수술 비용이 절감되며, 질병에 감염된 수컷 어미 정자의 이용을 피할 수 있거나, 멸종위기에 처한 종의 gene pool을 조성할 수 있는 등의 여러 가지 장점을 가진다.

따라서 이 연구에서는 넙치 정액의 냉동보존을 위한 적정조건을 구명하였으며, 냉동 정액을 이용하여 알과 인공수정시켜 생산된 치어의 성장과 형태를 비냉동 정액으로 생산된 치어의 것과 비교하였다.

### 재료 및 방법

정자를 냉동시키기 위하여, 희석정액이 주입된 0.5 ml 용량의 straw를 액체질소 증기(-76℃)에 의해 천천히 1차 냉동한 다음, 신속히 액체질소(-196℃)에서 넣어 2차 냉동하였다. 각 실험에서 냉동된 정자는 액체질소 탱크에 1주일간 저장한 후 30±1℃의 항온수조에서 해동시켜 운동성과 생존율을 평가하였다.

정자의 냉동보존에 적합한 희석액을 결정하기 위하여 11가지 희석액을 정액과 5:1의 비율로 섞은 후, 10% ethylene glycol을 첨가하여 냉동시켰다. 냉동보존에 적합한 동해방지제의 종류와 농도를 결정하기 위하여, 동해방지제인 DMSO, ethylene glycol, glycerol, methanol 및 1,2-propanediol을 최종농도가 각각 5, 10, 15, 20% 되도록 첨가하여 냉동하였다. 그리고 보존효과가 가장 좋았던 희석액을 이용하여 정액을 1, 3, 5, 10, 20 및 40배로 희석하여 냉동보존한 다음 해동시켜 정자의 활성을 분석함으로써, 냉동보존을 위한 적정 희석배율을 구명하였다. 한편 정자를 냉동할 때, 액체질소 표면으로부터 straw까지의 간격을 각각 3, 5, 7, 9 및 11 cm로 설정하여 냉동한 다음 해동시켜 정자활성을 분석함으로써, 1차 냉동온도가 정자보존에 미치는 영향을 구명하였다. 해동온도와 해동시간이 보존에 미치는 영향을 구명하기 위해, 냉동보존된 정자를 10℃, 20℃, 30℃, 40℃ 및 50℃에서 해동시켜 정자의 활성을 분석하였고, 이 후 가장 효과가 좋았던 해동온도에서 해동시간을 5, 10, 20, 30 및 60초로 하여 해동하여 정자의 활성을 조사하였다. 적정 조건으로 냉동된 정액을 이용하여 알과 인공수정시켜 생산된 자·치어의 성장과 형태를 비냉동 정액으로 생산된 자·치어의 것과 비교하였다.

## 결과 및 요약

넙치 정액의 냉동보존에 있어서 보존에 적합한 희석액은 Stain's extender였다. 동해방지제는 정자가 동해를 입는 것을 방지하게 위해 첨가하는 데, 넙치 정액의 냉동보존에 적합한 동해방지제는 ethylene glycol이었으며, 최종농도가 10%로 되도록 첨가하였을 때, 냉동보존 효과가 가장 좋았다. 정자의 냉동보존을 위해 신선한 정액을 적정 희석액으로 1~10배 희석한 후 냉동하였을 때, 정자의 활성이 좋았다. 정자를 냉동할 때, 액체질소 증기에 의한 1차 냉동에서 액체질소 표면과 straw 사이의 적정간격은 7~9 cm인 것으로 판명되었다. 액체질소에서 냉동보관 하였던 정자를 해동시킬 때의 적합한 해동온도는 30℃였으며, 30℃에서 해동시간을 달리하여 해동하였을 때, 20~30초가 적합하였다. 냉동 정액 및 비냉동 정액을 사용하여 생산된 자·치어의 성장과 형태에는 차이가 없는 것으로 나타났다.

## 참고문헌

Suquet, M., C. Dreanno, C. Fauvel, J. Cosson and R. Billard. 2000. Cryopreservation of sperm in marine fish. *Aquaculture Research* 31, 231~243.