

참고막, *Anadara granosa bisenensis* D상 유생의 냉동보존을 위한 동해방지제의 효과

김잔디 · 김영훈 · 선승천 · 김재민 · 강경호

여수대학교 양식학과

서 론

해양생물 유생의 냉동보존에서 동해방지제 사용은 세포내 삼투질 농도 상승과 세포내외의 빙결정 형성 등을 완화·조절하기 위해 필수적인 요소이며(Kang et al., 2004) 세포나 배의 냉동보존 효과를 좌우하는 중요한 요인 중의 하나이다(Farrant, 1965). 기존의 연구들이 어류 정자와 패류의 난과 정자를 대상으로 냉동보존 기법을 확립하였다면 최근에 와서는 해양 무척추동물 유생의 냉동보존에 관하여 연구되고 있으나 아직까지 참고막 유생을 사용한 경우는 없는 실정이다. 따라서 전라남도의 득량만과 순천만에 주로 서식하며 어민들에게 많은 소득을 올려 주고 있는 유용 패류인 참고막 유생을 이용한 냉동보존은 우량종 보존과 유생사육 기술 향상의 대안을 마련할 수 있을 것으로 기대된다.

재료 및 방법

재료는 수정 후 24시간 경과한 평균 각장 $80.6 \pm 12.5 \mu\text{m}$ 인 D상 유생으로 dimethyl sulfoxide, ethylene glycol, glycerol 및 1,2-propanediol 등 4종류의 동해방지제를 사용하였고, 121℃에서 20분간 멸균시킨 자연해수를 이용하여 최종 농도가 1.0, 1.5, 2.0, 2.5, 3.0 M이 되도록 하여 제조하였다. 각 용액의 삼투질 농도는 삼투압측정기(VS-15000N, GONOTEC, GERMANY)를 사용하여 측정 하였고 실험구별로 20분간의 평형시간을 거친 유생을 0.5 ml straw (FHK, JAPAN)에 200 마리씩의 밀도로 넣어 봉입한 후, 프로그램 냉동기(KRYOSAVE INTEGRA, ROVERS POLSKA, UK)를 이용하여 냉동프로그램에 따라 실온 20℃에서 -12℃까지 분당 -1℃/min., -12℃에서 -35℃까지 -2℃/min.의 속도로 1차 냉동하였으며 -196℃ 액체질소에서 2차 보존하였다. 냉동보존된 유생의 해동은 straw를 25℃의 담수에 20초동안 급속 해동하였고 멸균 해수를 이용하여 5분씩 3회 유생을 세척한 후, Profile projector (NIKON V-12B, JAPAN)를 사용하여 생존율을 조사하였다.

결과 및 요약

D상 유생의 해동후, 각 농도별 생존율을 보면 dimethyl sulfoxide의 경우 1.5 M에서 $76.2 \pm 1.2\%$ 의 생존율을 보였으며, 2.0 M에서는 $50.2 \pm 1.8\%$ 2.5 M에서는 $20.5 \pm 2.3\%$, 3.0 M은 $5.8 \pm 0.3\%$ 의 생존율을 나타냈다. 또한 ethylene glycol의 경우 1.0 M에서 $5.3 \pm 0.6\%$, 1.5 M에서 $20.5 \pm 0.4\%$, 2.0 M에서 $35.3 \pm 1.1\%$, 2.5 M에서 $10.2 \pm 0.7\%$, 3.0 M에서는 $5.7 \pm 0.8\%$ 의 생존율을 보였다.

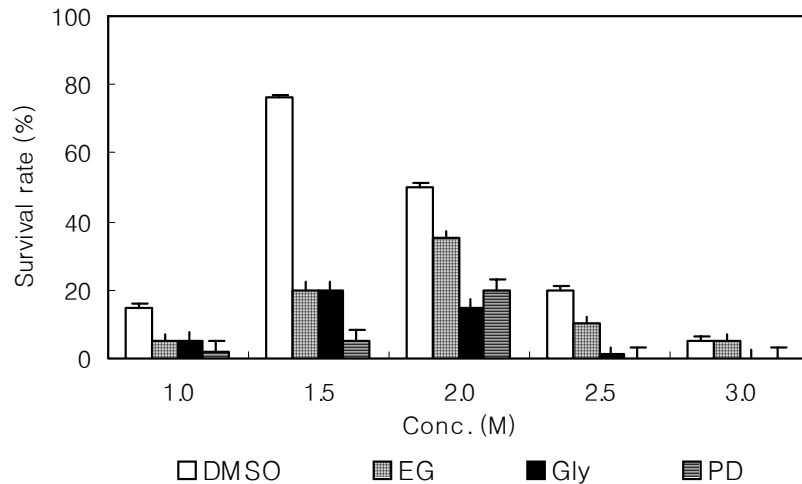


Fig.1 Survival rates of *Anadara granosa bisenensis* D-shape larvae after frozen-thawed (-196°C , 1 day). DMSO : dimethyl sulfoxide, EG : ethylene glycol, Gly : glycerol, PD : 1,2-propanediol

Glycerol은 1.0 M $5.2 \pm 0.7\%$, 1.5 M에서 $20.7 \pm 2.2\%$, 2.0 M에서 $15.1 \pm 0.9\%$, 2.5 M에서 $1 \pm 0.6\%$, 3.0 M에서는 폐사하였다. 1,2-propanediol은 1.0에서 $2.3 \pm 0.5\%$ 를 1.5 M에서 $5.4 \pm 1.7\%$, 2.0 M에서 $20.9 \pm 1.5\%$ 를 보였으나 2.5 M과 3.0 M에서는 폐사하였다. 이러한 결과 참고막 D상 유생의 냉동보존에 가장 효과가 있었던 동해방지제와 농도는 dimethyl sulfoxide 1.5 M이었다.

참고문헌

- Kang K. H., et al., 2004. Short-term storage and cryopreservation of *Urechis unicinctus* (Echiura: Urechidae) sperm. *Aquaculture Research*. 35(13), 1195-1201.
- Farrant, J. 1965. Mechanism of cell damage during freezing and thawing and its prevention. *Nature (Lond.)*, 205, 1284-1287