

키조개, *Atrina pectinata* 유생의 성장 단계별 동해방지제에 따른 냉동보존 효과

강경호 · 김잔디 · 김병학* · 이승주* · 한석중*

여수대학교 수산생명과학부, *국립수산과학원 패류연구센터

서론

패류의 배우자와 유생의 냉동보존에 있어서 동해방지제 효과는 종에 따라 다를 뿐 아니라 연구자의 실험 조건에 따라서도 서로 다른 결과를 보이고 있어(Renard, 1991; Chao et al., 1997), 생물종별 적정 동해방지제를 결정하는 것은 쉬운일이 아니며 발생 배의 상태와 발생단계에 따라서도 그 효과가 다르게 나타난다(Chao et al., 1994; Gwo, 1995). 따라서 본 연구는 중요 양식 대상 패류인 키조개 유생의 성장 단계별 냉동보존시 적정 동해방지제의 농도를 구명하였다.

재료 및 방법

재료는 유생의 성장단계별로 부화직 후의 담륜자 유생, 부화 후 28시간 된 D상 유생과 부화 후 60시간 된 Umbo형 유생으로 평균 크기는 $70.6 \pm 10.7 \mu\text{m}$, $10.6 \pm 8.9 \mu\text{m}$, $120.4 \pm 13.7 \mu\text{m}$ 였다. 동해방지제는 dimethyl sulfoxide, ethylene glycol, glycerol 및 1,2-propanediol 등 4종류를 사용하였고 121℃에서 20분간 멸균시킨 자연해수를 이용하여 최종 농도를 1.0, 1.5, 2.0 M로 하였다. 각 용액의 삼투질 농도는 삼투압측정기 (VS-15000N, GONOTEC, GERMANY)를 사용하여 측정하였고, 각 실험구별로 10분간의 평형 시간을 거친 유생을 0.5 ml straw (FHK, JAPAN)에 200 개체의 밀도로 넣어 봉입한 후 프로그램 냉동기(KRYOSAVE INTEGRA, ROVERS POLSKA, UK)를 이용하여 실온 20℃에서 -12℃까지 분당 -1℃씩 동결하였고 -12℃에서 -35℃까지는 -2℃/min.의 속도로 동결시켰으며 각각의 평형시간을 5분과 30분을 두어 최종 -196℃에 보존하였다. 해동은 25℃의 담수에서 하였고, 유생의 생존을 조사는 PROFILE PROJECTOR (NICON, V-12B, JAPAN)으로 하였다.

결과 및 요약

키조개 유생의 성장 단계별 보존 효과는 담륜자기의 경우 ethylene glycol, 1.5 M에서 $40.3 \pm 0.4\%$ 로 가장 높은 생존율을 보인 반면 1.2-propanediol 2.0 M에서는 생존개체가 확인 되지 않았다. 또한 부화직 후 28시간 경과한 D상 유생의 경우 4종의 동해방지제를 사용하여 보존한 결과 담륜자 유생과 마찬가지로 ethylene glycol, 1.5 M에서 $78.7 \pm 2.3\%$ 를 보였으며 1.2-propanediol 2.0 M에서는 $3.5 \pm 0.3\%$ 의 생존율을 보였다.

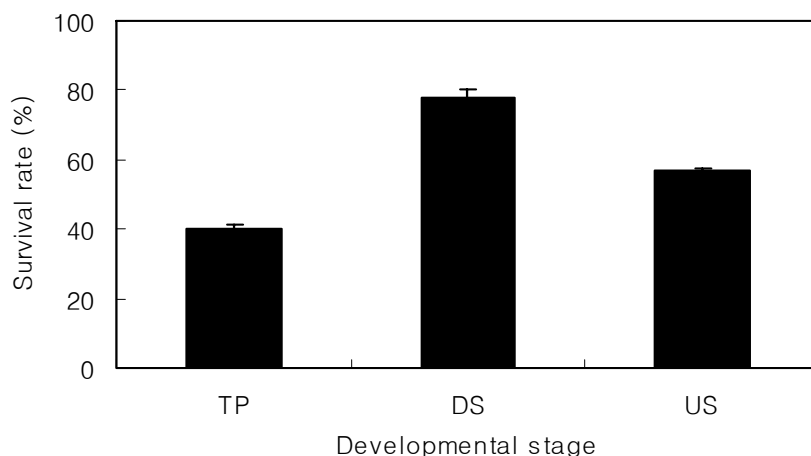


Fig. 1 Survival rates of post-thawed larvae in each developmental stage of *Atrina pectinata* cryopreserved with 1.5 M ethylene glycol. TP : trochophore, DS : D-shape larva, US : Umbo stage larva. Different letters on the bars indicate significant difference ($P < 0.05$).

부화 후 60 시간이 경과한 Umbo형 유생에서도 ethylene glycol, 1.5 M에서 $56.8 \pm 0.4\%$ 로 가장 높은 생존율을 보인 반면 1.2-propanediol 2.0 M에서는 생존 개체를 확인할 수 없었다. 이러한 결과 키조개 부유 유생의 냉동보존을 위하여는 ethylene glycol 1.5 M이 가장 좋은 동해방지제의 농도이고 보존 단계는 D상 유생이 적당하다고 생각된다.

참고문헌

- Chao, N.H., C.P. Chiang, H.W. Hsu, C.T. Tsai and T.T. Lin. 1994. Toxicity tolerance of oyster embryos to selected cryoprotectants. *Aquat. Living Res.* 7, 99-104.
- Chao, N.H., T.T. Lin, Y.J. Shen, H.W. Hsu and I.C. Liao. 1997. Cryopreservation of late embryos and early larvae in the oyster and hard clam. *Aquaculture* 155, 31-44.
- Renard, P. 1991. Cooling and freezing tolerances in embryos of the pacific oyster, *Crassostrea gigas*: methanol and sucrose effects. *Aquaculture* 92, 43-57.
- Gwo, J.C. 1995. Cryopreservation of oyster (*Crassostrea gigas*) embryos. *Theriogenology* 43, 1163-1174.