

## 숭어 (*Mugil cephalus*)의 정액 성상과 정자 운동성

장영진 · 최윤희 · 임한규\* · 고강희\*\*

부경대학교 양식학과, \*국립수산진흥원 울진수산종묘배양장, \*\*동경대학교 이학부

## Milt Property and Sperm Motility of Grey Mullet (*Mugil cephalus*)

Young Jin CHANG, Youn Hee CHOI, Han Kyu LIM\* and Kang Hee KHO\*\*

Department of Aquaculture, Pukyong National University, Pusan 608-737, Korea

\*Uljin Hatchery, National Fisheries Research and Development Institute, Uljin 767-860, Korea

\*\*School of Science, The University of Tokyo, Tokyo 113, Japan

Experiments were performed to find out the physico-chemical properties of milt and the sperm motilities in various conditions using the grey mullet, *Mugil cephalus*. The average concentration of sperm in the milt was  $1.11 \pm 0.36 \times 10^{10}/\text{ml}$ . Spermatocrit was  $96.7 \pm 2.6$ . pH and osmolality of seminal fluid were  $7.8 \pm 0.1$ ,  $370 \pm 6$  mOsm/kg, respectively. Total protein concentration of sperm was higher than that of seminal fluid, but total lipid concentration of seminal fluid was higher than that of sperm.

The sperm motility was high in the diluent of milt : artificial seawater (1:10, by volume) and in 822 mOsm/kg and 983 mOsm/kg similar to seawater osmolality, but it decreased after 20 minutes. But activity of sperm was highly maintained in 482 mOsm/kg which was a little higher than osmolality of seminal fluid, and was high in pH 7~9.

**Key words:** grey mullet, *Mugil cephalus*, milt property, sperm motility

### 서 론

1853년 De Quatrefages에 의해 어류의 정자활성이 연구된 이래, 어류 정자의 운동성과 보존은 수산과학자들의 관심을 끌어들였다. 경골어류 정자의 운동활성은 정액의 질과 정자의 생존능력을 평가하는 데에 활용되고 있으며, 일부 연구자들은 정자의 운동성과 수정능력 사이에 밀접한 상관관계가 있는 것으로 평가하고 있다 (Lahnsteiner et al., 1996). 어류 정자의 운동활성 외에도 정자의 생리·생화학적 기구에 관한 지식은 보다 효과적인 인공수정을 위한 기반정보가 된다. 그러나 정자의 형성, 운동성 및 정액 성상의 변화에 관한 대부분의 연구는 담수어류인 무지개송어를 비롯한 연어과와 잉어과 어류에서 이루어지고 있다 (Wang and Crim, 1997).

본 연구에서는 수온과 염분 등의 환경변화에 대한 적응력이 강하여 세계적인 양식어종으로 부각되고 있으면서도, 최근까지 자연산란이 이루어지지 않아 인공 종묘생산에 어려움을 주고있는 숭어 (*Mugil cephalus*)를 재료로 하여 정액 성상과 정자의 운동활성을 파악하여 인공수정과 정액의 냉장·냉동보존에 관한 기초자료를 얻고자 하였다.

### 재료 및 방법

실험재료로는 목포와 강화도 근해에서 어획한 숭어 어미의 정액을 사용하였으며, 실험어의 전장은  $47.4 \pm 5.5$  cm, 체중은  $1,182 \pm 332$  g이었다. 정액은 복부 압박법으로 채취하여 실험에 사용하기 전까지 얼음을 채운 ice box에 보관하였다. 정자의 농도와

spermatocrit는 각각 혈구계산판과 일반적인 혈액분석 방법인 microhematocrit 변법에 의해 측정 (Bouck and Jacobson, 1976)하였고, 정액을 원심분리 (15,000 rpm, 10분)하여 얻은 정장의 삼투질농도와 pH는 삼투압 측정기 (The Advanced™ Osmometer)와 pH측정기 (pH Ion Meter EP-880)를 사용하여 분석하였다. 정자와 정장의 총 단백질, 총 지질 및 glucose 함량은 각각 분석 kit (Eiken, Japan)로 측정하였다. 그리고  $\text{Na}^+$ 과  $\text{K}^+$  농도는 불꽃분광광도계 (IL-943 Flame Photometer, Italy)를 이용하였고,  $\text{Mg}^{2+}$ 은 kit (Kodak Mg DT slide, U.S.A.)로 측정하였다. 정자의 활성에 대해서는 정액과 인공해수<sup>1</sup>의 희석비율, 인공해수의 삼투질농도와 pH 등을 달리하였을 때 경과시간에 따른 운동성을 측정하여 정자활성지수 (sperm activity index, SAI)로 표시하였다 (Table 1).

### 결 과

수컷 어미 한 마리의 정액량은 1회 채정시 평균  $0.85 \pm 0.80$  ml였으며, 정자농도는 ml당  $1.11 \pm 0.36 \times 10^{10}$  마리, spermatocrit는  $96.7 \pm 2.6$ 이었다. 정장의 pH는  $7.8 \pm 0.1$ 이었으며, 삼투질농도는

**Table 1.** Numerical index for the evaluation of sperm activity index (SAI)

Index	Score	Motility characteristic
I	3	Sperm display forward movement rapidly
II	2	Sperm display forward movement slowly
III	1	Sperm display vibrating movement moderately
IV	0	Immobile sperm

SAI=score×% motile sperm/100.

이 논문은 1996년도 농림부 농림수산특정연구사업 (현장애로기술개발) 연구결과의 일부임.

<sup>1</sup>NaCl 2.7 g+KCl 0.07 g+NaHCO<sub>3</sub> 0.05 g+CaCl<sub>2</sub> 0.12 g+MgCl<sub>2</sub> 0.46 g+중류수 100 ml

370 ± 6 mOsm/kg이었다 (Table 2). 또한 정자와 정장의 총 단백질 함량은 정자가 1.7 ± 0 g/100 ml, 정장이 0.9 ± 0.4 g/100 ml, 총 지질 함량은 정자가 38 ± 3 mg/100 ml, 정장이 226 ± 95 mg/100 ml 이었다 (Table 3).

희석비율에 따른 정자의 운동성은 희석비율이 낮을수록 높았다. 또한 희석 후 정자의 운동지속시간도 희석비율이 낮을수록 길었으며, 60분이 경과된 후에는 움직이지 않았다 (Fig. 1). 또한 인공해수의 삼투질농도에 따른 정자의 운동성은 정액과 인공해수의 비율을 1 : 10으로 설정했을 때, 해수와 비슷한 822 mOsm/kg과 983 mOsm/kg에서 희석 직후 매우 높았으나 시간 경과와 함께 점차 낮아졌다. 그러나 정장의 삼투질농도 보다 약간 높은 482 mOsm/kg에서는 운동성이 높게 유지되었다 (Fig. 2). 그리고 인공해수의 pH를 5~9로 설정한 후 운동성을 측정된 결과, pH 7, 8, 9에서 보존 10일까지는 SAI가 0.8 이상으로 높게 유지된 반면, 산성인 pH 5와 6에서는 저조하였다. 특히 pH 6에서는 희석 직후 운동성이 높았으나, 보존 1일째 부터 급격히 감소하여 4일째 부터는 거의 0에 가까웠다 (Fig. 3).

고 찰

정자와 정장의 물리·화학적 성장에 관한 지식은 어류의 번식력을 평가하거나 수정기구를 이해하는 기준이 된다 (De Kruger et al., 1984). 본 연구에서 송어 정장의 pH는 7.8 ± 0.1의 약 알칼리로 나타났는데, 이는 해수어류인 자주복, *Takifugu rubripes*의 8.2 ± 0.2 (장, 1997), 감성돔, *Acanthopagrus schlegeli*의 8.3 (Chang et al., 1995; Chang, 1997), 대서양연어, *Salmo salar*의 8.3 (Hwang and Idler, 1969) 보다 낮다. 한편 송어 정장의 삼투질농도는 370 ± 6 mOsm/kg로, 연어과 어류인 무지개송어, *Oncorhynchus mykiss*의 297 mOsm/kg (Ciereszko and Dabrowski, 1993), 잉어과 (금붕어, 잉어, 붕어와 황어)의 300 mOsm/kg (Morisawa et al., 1983), pejerrey, *Odontesthes bonariensis*의

331 mOsm/kg (Strussmann et al., 1994) 보다 높았으며, 해수어류인 능성어, *Epinephelus malabaricus*의 330~350 mOsm/kg (Chao et al., 1992), 복섬의 342 mOsm/kg (Morisawa, 1985), 감성돔의 359 mOsm/kg (Morisawa, 1985)과 382 mOsm/kg (Chang et al., 1995; Chang, 1997)와 비슷하였다. 송어 정자와

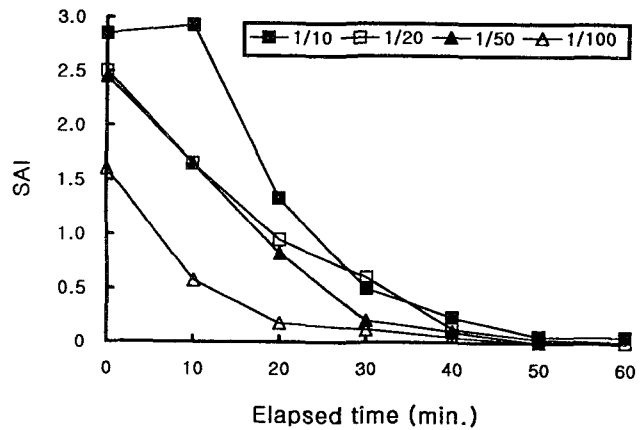


Fig. 1. Changes in sperm activity index (SAI) of *Mugil cephalus* according to different dilution rates of diluent.

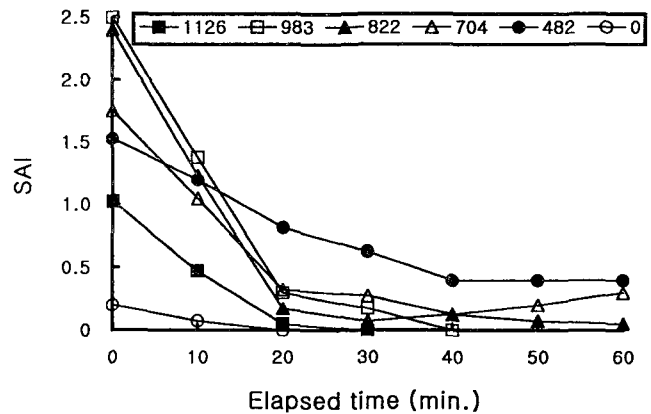


Fig. 2. Changes in sperm activity index (SAI) of *Mugil cephalus* according to different osmolalities of diluent.

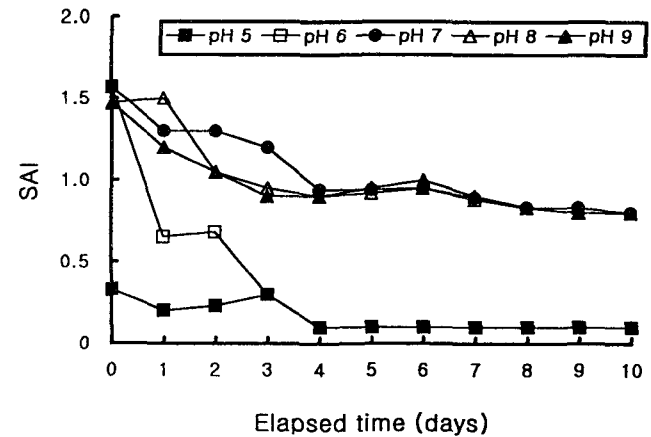


Fig. 3. Changes in sperm activity index (SAI) of *Mugil cephalus* according to different pH of diluent.

Table 2. Properties of milt and seminal fluid in *Mugil cephalus*

Property	Milt	Seminal fluid
Spermatocrit	96.7 ± 2.6	-
Sperm concentration (×10 <sup>10</sup> /ml)	1.11 ± 0.36	-
Osmolality (mOsm/kg)	-	370 ± 6
pH	-	7.8 ± 0.1

Table 3. Chemical properties of sperm and seminal fluid in *Mugil cephalus*

Properties	Sperm	Seminal fluid
Total protein (g/100 ml)	1.7 (1.7)	0.5~1.5 (0.9)
Total lipid (mg/100 ml)	35~41 (38.0)	123~352 (225.7)
Glucose (mg/100 ml)	1 (1.0)	0~5 (2)
Na <sup>+</sup> (mEq/l)	71.4~90.4 (82.8)	93.5~114.6 (103.3)
K <sup>+</sup> (mEq/l)	-	38.5~76.7 (58.3)
Ca <sup>2+</sup> (mEq/l)	4.1 (4.1)	2.2~3.1 (2.7)
Mg <sup>2+</sup> (mEq/l)	12.4~22.0 (17.2)	8.5~16.5 (13.5)

( ) : average

정장의 단백질 함량과 지질 함량은 차이를 보였는데, 정자에서는 단백질 함량이, 정장에서는 지질 함량이 높았다. 이러한 차이는 자주복(장 등, 1997)의 연구결과와 유사하였으나, 황복이나 감성돔(장 등, 1997)에서는 단백질과 지질 함량 모두 정자에서 높은 값을 보여 승어와는 다른 경향을 보였다.

일반적으로 해수어의 정자는 삼투질농도가 높은 용액에, 담수어는 삼투질농도가 낮은 용액에 회석되었을 때 움직이기 시작한다(Morisawa and Suzuki, 1980). 승어의 경우, 회석액인 인공해수의 삼투질농도가 해수와 비슷한 822 mOsm/kg과 983 mOsm/kg에 회석되었을 때 정자의 운동성이 높게 나타났으며, 정장의 삼투질농도보다 약간 높은 482 mOsm/kg에서는 정자의 운동성이 높게 유지되었다. 그리고 삼투질농도가 0 mOsm/kg일 경우 정자는 운동하지 않았는데, 이는 저장액에서는 도리어 정자의 운동성이 저하됨으로써, 외부의 삼투질농도가 정자의 운동성을 조절하는 요인임을 알 수 있었다. 이는 저장액이 정자의 구조나 운동성에 해를 입히기 때문이다(Morisawa and Suzuki, 1980).

승어 정자의 운동성은 인공해수의 pH와도 밀접한 관련이 있었다. 즉 pH 7, 8, 9에서 승어 정자는 보존 10일까지 높게 유지되었는데, 이는 승어 정장의 pH 값과 비슷하여 정자가 운동하기에 적합한 조건임을 알 수 있었다. Perch, *Perca fluviatilis*에서도 정자 운동성을 위한 적정 pH는 7.0~8.5로 정장의 pH 8.25 ± 0.09와 유사하였고(Lahnsteiner et al., 1995), ocean pout, *Macrozoarces americanus*의 정자 운동성을 위한 적정 pH는 8.1~9.0으로 정장의 pH 7.78 ± 0.03과 비슷하였다(Wang and Crim, 1997). 또한 연어과와 잉어과 어류에서 정자 운동성의 적정 pH는 9로 나타났다. 이는 환경수의 pH가 알칼리화됨으로써 정자의 운동성이 개시되기 때문이다(Billard and Cosson, 1992). 특히 무지개송어 정자의 운동성과 수정률은 pH 9에서 최대가 되었으며(Billard, 1986), 인공수정을 위해서는 pH 9 전후의 알칼리 용액이 효과적인 것으로 기대된다. Halibut, *Hippoglossus hippoglossus*(Billard et al., 1993)와 sea bass, *Dicentrarchus labrax*(Stoss, 1983)는 pH 7.5~8.5, pH 9에서 정자 운동성이 최고로 나타났다. 그리고 elkhorn sculpin, *Alcichthys alcicornis*는 pH 7.5에서 높은 운동성을 보이며, 이 값은 난소액에서 나타나는 pH 값과 유사하였다(Koya et al., 1993).

일반적으로 정자는 회석되지 않은 정액이나 정소내에서는 움직이지 않으나 물, saline solution, 난소액과 같은 활성용액에 회석시키면 운동성이 개시되며(Levanduski and Cloud, 1988), 정장과 같은 환경수의 삼투질농도, pH, 이온조성은 어류 정자의 운동성에 큰 영향을 미치므로, 이러한 요인들에 대한 깊이있는 연구가 필요하다.

## 요 약

승어 정액의 종묘생산시 인공수정과 정액의 냉장 및 냉동보존에 대한 적합한 회석액을 찾고자 정액의 성상과 정자의 운동활성을 조사하였다.

승어 정자의 농도는  $1.11 \pm 0.36 \times 10^{10}/\text{ml}$ , spermatocrit는 96.7 ±

2.6이었고, 정장의 삼투질농도는  $370 \pm 6$  mOsm/kg, pH는  $7.8 \pm 0.1$  이었다. 정액과 인공해수의 회석비율이 1:10일 때 정자의 운동성이 높았으나 20분 후에는 낮아졌으며, 정장의 삼투질농도보다 약간 높은 인공해수(482 mOsm/kg)에서 정자의 운동성이 오랫동안 높게 지속되었다. 또한 정장의 pH 값과 비슷한 pH 7~9에서 정자는 활발하게 움직였다.

## 참 고 문 헌

- Billard, R. 1986. Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod. Nutr. Develop.*, 26, 877~920.
- Billard, R. and M.P. Cosson. 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in fresh water fish. *J. Exp. Zool.*, 26, 122~131.
- Billard, R., J. Cosson and L.W. Crim. 1993. Motility of fresh and aged halibut sperm. *Aquat. Living Resour.*, 6, 67~75.
- Chang, Y.J. 1997. Present and future studies on the cryopreservation of fish gametes. *Suisanzoshoku*, 45, 557~564.
- Chang, Y.J., H.K. Lim and K.H. Kho. 1995. Properties of semen and sperm motility in black seabream, *Acanthopagrus schlegelii*. *J. Aquaculture*, 8, 149~157. (in Korean)
- Chao, N.H., H.P. Tsai and I.C. Liao. 1992. Short- and long-term cryopreservation of sperm and sperm suspension of the grouper, *Epinephelus malabaricus*(Bloch and Schneider). *Asian Fish. Sci.*, 5, 103~116.
- Ciereszko, A. and K. Dabrowski. 1993. Estimation of sperm concentration of rainbow trout, whitefish and yellow perch using a spectrophotometric technique. *Aquaculture*, 109, 367~373.
- De Kruger, J.C., G.L. Smit, J.H.J. Van Vuren and J.T. Ferreira. 1984. Some chemical and physical characteristics of the semen of *Cyprinus carpio* L. and *Oreochromis mossambicus*(Peters). *J. Fish Biol.*, 24, 263~272.
- De Quatrafages, M.A. 1853. Recherches sur la vitalite des spermatozoides de quelques poissons d'eau douce. *Annales des sciences naturelles : Troisieme serie*, 19, 341~369.
- Hwang, P.C. and D.R. Idler. 1969. A study of major cations, osmotic pressure and pH in seminal components of Atlantic salmon. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 26, 413~419.
- Koya, Y., H. Munehara, K. Takano and H. Takahashi. 1993. Effects of extracellular environments on the motility of spermatozoa in several marine scupins with internal gametic association. *Comp. Biochem. Physiol.*, 106 A, 25~29.
- Lahnsteiner, F., B. Berger, T. Weismann and R.A. Patzner. 1995. Fine structure and motility of spermatozoa and composition of the seminal plasma in the perch. *J. Fish Biol.*, 47, 492~508.
- Lahnsteiner, F., B. Berger, T. Weismann and R.A. Patzner. 1996. Motility of spermatozoa of *Alburnus alburnus*(Cyprinidae) and its relationship to seminal plasma composition and sperm metabolism. *Fish Physiol. Biochem.*, 15, 167~179.
- Levanduski, M.K. and J.G. Cloud. 1988. Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) semen : Effect of non-motile sperm on fertility. *Aquaculture*, 75, 171~179.
- Morisawa, M. and K. Suzuki. 1980. Osmolality and potassium ion : Their roles in initiation of sperm motility in teleosts. *Science*, 210, 1145~1146.
- Morisawa, M., K. Suzuki, H. Shimizu, S. Morisawa and K. Yasuda.

1983. Effects of osmolality and potassium on motility of spermatozoa from freshwater cyprinid fishes. *J. Exp. Biol.*, 107, 95~103.
- Morisawa, M. 1985. Initiation mechanism of sperm motility at spawning in teleosts. *Zool. Sci.*, 2, 605~615.
- Strussmann, C.A., P. Renard, H. Ling, and F. Takashima. 1994. Motility of pejerrey *Odontesthes bonariensis* spermatozoa. *Fish. Sci.*, 60, 9~13.
- Stoss, J. 1983. Fish gamete preservation and spermatozoan physiology. *Fish Physiology*. IX B, 305~350.
- Wang, Z. and L.W. Crim. 1997. Seasonal changes in the biochemistry of seminal plasma and sperm motility in the ocean pout, *Macrozoarces americanus*. *Fish Physiol. Biochem.*, 16, 77~83.
- 장영진·강용진·김승현·임한규·이정용·강덕영·고강희·장운정·최윤희. 1997. 해산어류 정자의 생리활성과 장·단기 보존. 농림수산특정연구사업 최종연구보고서, 농림부, pp. 178.
- 장영진. 1997. 해산어류 5종의 정액의 특성과 장·단기 보존. 1997년도 한국양식학회 학술발표대회 요지집, pp. 41~42.
- 森澤正昭·星元紀. 1994. 精子學. 東京大學出版會, 東京, 238~246 pp.

---

1999년 1월 22일 접수

1999년 3월 16일 수리