韓國家畜繁殖研究會報 5(2) : 43~48(1981)
Korean J. Anim. Reprod.

Simmental의 精液性狀에 關한 硏究

第1報. 精液의 夏季採取를 中心으로

高 光 斗·韓 文 熙·鄭 吉 生
江原大學校農科大學·畜協江原道事業所·建國大學校畜産大學

Studies on the Properties of Simmental Semen

I. With Special Reference to Collecting Semen During Summer.

G.D. Goh · M.H. Han · K.S. Chung
College of Agriculture, Gangweon National Univ. Gangweon Provincial Branch Office of the NLCF. College of Animal Husbandry, Kon-Kuk Univ.

Summary

This experiment was carried out with the purpose to get some information about the properties of Simmental bull semen during summer season. The results obtained were summarized as follows:

1. Semen volume per ejaculation, sperm concentration and sperm viability were averaged 5.16ml, 6.6 billion and 65%, respectively.
2. Percentage of motile sperm after dilution in skimmilk solution and trisbuffer for 5 days were 34.16% and 35.0%, respectively.
3. Viability of spermatozoa frozen in skimmilk extender and trisbuffer for 5 days were 20.83% and 25.66%, respectively.
4. Percentage of live sperm, MRT and pH value were 71.8~72.1%, 8.40~8.21 minutes and 6.78, respectively.
5. Diluted semen showed strong resistance to the cold shock than that of fresh semen.
6. Rscovery of sperm motility after freezing for 24 hours was relatively weak.

I. 緖 論

江原道는 Canada Alberta주와 姉妹結緣을 맺어 畜産關係 交流가 빈번히 行해지고 있으며, 이 事業의 一環으로 Simmental種牡牛가 導入되었고 이 Simmental은 韓牛와의 交雜牛 生産에 活用케 되었다.

肉牛와 韓牛와의 交雜種에 關한 硏究는 崔등(1977a. b.)과 薛(1981)이 Charolais 숫소를 使用한 交雜試驗에서 韓牛純種에 比하여 發育이 顯著히 빠르고 牛肉도 더많이 生産되었다고 하였고 Warwick(1973)는 Simmental交雜種도 이와 비슷한 傾向을 나타낸다고 하였기에 當局의 承認을 얻어 1978年부터 Simmental 交雜牛事業을 實施하게 되어 畜協中央會江原道事業所에서는 冷凍精液을 製造하여 供給하게 되었다.

처음에는 該當農家에서 Simmental精液의 要請이 많지 않았으나, 해를 거듭할수록 이들 交雜牛의 增體效果가 韓牛純種보다 優秀하다는 것을 認識하게 되자 그 需要는 날로 急增하여 精液供給을 充足시키지 못하게 되어 貯藏할 겨를도 없이 年中 精液을 採取하여 供給하게 되었는데, 夏季에는 精液의 質이 低下되는 傾向이 있어 精液性狀 調査의 必要性을 느끼게 되었다.

精液性狀에 關한 硏究報告는 많지만(Arbright등, 1960 ; Foote와 Salibury, 1960 ; Almquist와Wickersham, 1962 ; Bartlett와 Demark, 1962; Dimitropoulos, 1968; Emeljjanov, 1969; 宮本등, 1979; 任등, 1975; 金등, 1973, 1979 a.b.c.) 우리나라에서 飼育되고 있는 肉牛에 關해서는 高등(1980)의 Charolais의 精液性狀에 關한 硏究報告가 있을 따름이고 Simmental에 關해서는 생소하다.

江原道가 保有하고 있는 Simmental은 1977年에 導入된 이래 1978年부터 冷凍精液 製造用으로 供用되어 왔으나 精液性狀을 仔細히 調査한 적이 없으므로 1981年 7月에 採取하여 精液 性狀에 關한 基礎調査를 하여 Simmental 交雜牛 事業의 効率的인 推進 및 普及 擴大에 임하고자 本 試驗을 實施하였던 바 그 結果를 報告하는 바이다.

Ⅱ. 材料 및 試驗方法

1. 材料

1) 供試精液

春川에 位置한 江原道種畜場에서 飼育中인 Simmental種牡牛 2頭로 부터 採取한 精液을 1978年 부터 1980年 까지 使用하든 精液中 7~8月에 採取한 精液의 性狀이 年中 가장 不良하여 受胎率에 미치는 影響이 큰 것을 發見하였기에 1981年 7月中에 採取한 精液을 供試精液으로 使用하였다. (Table 1)

Table 1. Some properties of the Simmental semen

Ejac. times	Semen volume	Sperm conc. (1×10^8)	Sperm viability
1	5.3ml	6.5	70%
2	6.2	7.2	65
3	4.6	5.6	63
4	5.5	7.4	62
5	4.2	6.3	65
Mean	5.16	6.6	65

2) 供試 稀釋液

F—1 稀釋液

10% skimmilk solution 86ml
5% dextrose solution 10ml
4ml of egg yolk
} + penicillin 100,000 I.U. streptomycin 100mg.

pH : 6.8, osmotic pressure : 274mOsm

C-5 稀釋液

Tris (hydroxymethyl) amino methane	6.05g
Citric acid	3.4g
Dextrose	3.0g
E.D.T.A.(Na_4)	0.3g

} +170ml of water.

(C-5 basic diluent)

1st diluent.

90ml of C-5 solution + { Water 5ml / Egg yolk 25ml }

2nd diluent.

90ml of C-5 solution + { Water 5ml / Egg yolk 25ml / Glycerol 8ml }

pH : 7.1, Osmotic pressure : 288mOsm.

2. 試驗方法

Simmental種牡牛에서 採取된 精液은 Table 1과 같이 精液量, 精子數 및 生存率을 檢査하여 F-1 및 C-5 保存液에 ml當 精液數 3.0×10^7되게 稀釋하여 各各 液狀保存日數別 精子의 生存率, 液狀 保存日數別 凍結 融解後의 恢復率 및 融解後 保存 日數別 生存性, 生死染色後의 精子數, MRT 試驗, 稀釋精液의 pH變化, 低溫衝擊 및 高溫 抵抗性 試驗을 爲하여 5日間 保存하면서 保存日數別로 調査하였다.

1) Simmental 精液 液狀 保存性 試驗

Simmental 精液을 F-1 및 C-5液에 稀釋하여 各各 5日間 5°C에 保存하면서 每 24時間 마다 35°C의 加溫顯微鏡下에서 生存率을 比較 檢査하였다.

2) 保存 日數別 冷凍精液 融解後 生存率 試驗

F-1 및 C-5液에 稀釋한 精液을 各各 每 24時間 간격으로 凍結시켜 5日間 保存 日數別 保存性을 上記한 方法으로 顯微鏡下에서 一般的인 方法으로 檢査하였다 稀釋된 精液은 5日間 保存하면서 凍結시켜 회복율을 調査하였고 融解한 精液은 第5日까지 5°C에 保存하면서 生存率(保存率)에 對한 變化를 檢査 記錄하였다.

3) 精子의 生死染色, MRT, 稀釋精液의 pH變化 檢査

F-1 및 C-5液에 稀釋된 Simmental精子를 每 24時間 간격으로 5日間 生死染色하여 400倍의 현미경하에서 1,000個의 精子를 헤아려 百分率로 나타냈으며, MRT 測定은 42.5°C의 恒溫 저수조에서 完全 脫色되는 時間을 測定하였다.

稀釋精液의 pH變化도 每 24時間 간격으로 5日間 記錄식 pH메타로 測定 檢査하였다.

4) 精子의 低溫衝擊 및 高溫抵抗性 試驗

低溫衝擊 試驗은 每 24時間마다 5°C에 保存된 精液을 35°C로 加溫하여 檢査한 후 0°C에 10分間 放置한후 精子의 회복율을 檢査하였고, 高溫에 對한 精子의 抵抗性은 46.5°C에서 10分 간격으로 精子가 死滅할 때까지 生存率을 檢査하였다.

調査方法으로는 各 試驗區는 모두 skimmilk solution(F-1 稀釋液) 및 trisbuffer solution(C-5稀釋液)에 各各 Simmental 種牧牛의 精液을 稀釋하여 5°C의 平面冷藏庫에 5日間 保存하면서 每 24時間 마다 35°C의 현미경 加溫器 위에서 一般的인 方法으로 比較 檢査 記錄하였다(丹羽등, 1975; 鄭등, 1976; 李등, 1979 李, 1980).

稀釋된 精液은 모두 2時間30分에 걸쳐 5°C로 冷却시켜 保存性을 試驗하였으며 精液 稀釋倍率은 1ml에 3.0×10⁷精子로 하여, 1.0ml ampoul 및 straw에 包裝하여 試驗하였다

Ⅲ. 結果 및 考察

1. Simmental 精液의 液狀 保存性

Simmental 精液을 F-1 및 C-5液에 各各 稀釋하여 5°C에 5日間 保存하면서 每 24時間마다 精子의 保存性을 檢査한 成績은 Table 2에서 보는 바와 같다.

Table 2. Percentage of motile sperm during storage at 5°C for 5 days

Duration of storage	Diluents	
	F—1*	C—5**
0 day	++60%	++60%
1	++50	++50
2	35	40
3	30	35
4	15	20
5	10	10
Mean	34.16	35

Remark *F—1 ; Skimmilk solution,
**C—5 ; Trisbuffer extender

이 表에서 보는 바와 같이 Simmental 精液은 稀釋直後는 F-1 및 C-5液에서 모두 60%의 生存率, 5日間 保存했을 때의 平均은 F-1液에서 34.16% 및 C-5液에서 35%의 生存率을 나타내 保存性에 있어서 稀釋液間의 差異는 없었으나 2日째 부터는 生存率이 急激히 低下되었다.

Riverose와 Fransen(1967) 및 金등(1979a)은 牛 精子는 性狀에 있어서 個體別 差異가 없다고 하였으며, Salisbury(1967)는 個體에 따라 性狀이 다르게 나타난다고 하였다.

Dimitropoulos(1968)는 季節의 變化가 繁殖力에 特別한 영향을 미치지 않는다고 하였으며, 金등(1979a)도 季節에 따른 精液 性狀의 差는 없다고 하였는데 本試驗에서는 夏季에 採取한 精液의 性狀이 매우 不良하였다. 季節과 精液과의 關係에 對해서는 다른 見解도 있다. Swanson과 Herman (1944), Johnston과 Branton(1953) 및 Salisubry(1967)는 外氣溫이 增加함에따라 精液의 性狀이 不良해 진다고 하였는데 本試驗에서의 Simmental 種牡牛는 外氣溫의 變化에 따른 影響이 컸었다.

精子의 活力은 Krinitsyn과 Khamitov(1978)는 77~79%, Louda와 Smerha(1978)는 68.5~76.4%라 하였고 金등(1979a)은 韓牛 63%, 乳牛 63% 및 肉牛 58%라 하였다. 또 高등(1980)은 Chalolais 種牡牛에 있어서는 採取 當日에 65%, 液狀精液 6日間 平均 生存率이 57~58%라 하였다.

本 試驗에서는 精液의 稀釋 直後가 60%, 24時間에 50%, 48時間에 35~40%, 3日째에 30~35%, 4日째에 15~20% 및 5日째에 10%로 生存率이 떨어져, 液狀精液 保存性은 5日間 平均 skimmilk solution으로 34.16% 및 trisbuffer solution으로는 35%로서 金등(1979a)이나 高등(1980)의 成績보다 훨씬 떨어지고 있는데 이는 季節에 따른 影響만이 아니고 營養關係에도 關聯性이 있는듯 하다.

2. 保存日數別 冷凍 融解後 生存率

Simmental 精液을 F-2 및 C-5液에 稀釋하여 150分에 걸쳐 5°C로 冷却시킨 후 第1日에 凍結 融解한 精液은 5日間, 第2日에 凍結한 것은 4日間, 第3日째는 3日間, 第4日째는 2日間 및 第5日째는 1日間 5°C의 냉장고에 保存하면서 恢復率 및 保存日數別 生存率을 檢査한 成績은 Table 3과 같다.

Table 3. Percentage of survival sperm during storage at 5°C for 5 days after freezing

Diluents	F-1 diluent						C-5 diluent					
	0	1	2	3	4	5	0	1	2	3	4	5
soon after thawing	40	50					43	50				
1	32	34	35				37	35	40			
2	23	20	10	30			28	25	20	35		
3	15	10	5	10	15		21	15	10	15	20	
4	10	5	0	0	5	10	15	5	5	5	5	10
5	5	5	0	0	0	0	10	5	5	5	0	5

이 表에서 보는 바와 같이 稀釋後 60%卅의 精液을 凍結시켰을 때 融解후 恢復率은 融解 直後가 40~43% 24時間 經過시 32~37%의 恢復率을 나타냈으며 48時

Table 4. Percentage of survival sperm, MRT and pH value

Treatment / Diluent / Duration of Storage	% of live sperm (%)		MRT (Min.)		pH.	
	F—1*	C—5**	F—1	C—5	F—1	C—5
0 day	71.8	72.1	8.40	8.21	6.78	6.78
1	57.6	59.2	∞	∞	6.76	6.72
2	38.4	38.2	∞	∞	6.75	6.70
3	20.1	20.4	∞	∞	6.75	6.70
4	10.9	13.5	∞	∞	6.73	6.71
5	8.8	9.9	∞	∞	6.73	6.71
Mean	34.6	35.5	∞	∞	6.75	6.72

Remark : *Skimmilk solution.
**Trisbuffer solution.

間 經過시의 恢復率이 23~28로 이 精液은 人工授精에 供用할 수 없음을 알수 있었다. skimmilk solution (F-1液)과 trisbuffer solution (C-5液)間의 恢復率의 差異는 없었다.

牛 精液의 冷凍 融解後의 生存率의 減少는 尹(1976)은 44%, 金등(1979b)은 20~30% 및 高등(1980)은 20% 내외라 하였다. Wittenberg(1967)는 採取時 精子의 活力이 80% 程度라도 凍結過程과 融解過程에서 40~60% 程度의 活力 減少를 招來한다고 하였고, Varnavckii 및 Turbin(1968)은 牛 精子의 活力은 新鮮精液에서 70%, 冷凍精液에서 50%라 하였다. 本 試驗에서는 新鮮精液에서 精子의 生存率이 60%로 活力도 좋지 않았을 뿐더러 凍結 融解 후에도 매우 不良하였다.

3. 精子의 生存率, MRT 및 pH値 變化

採取한 精液을 F-1 및 C-5 液에 稀釋하여 生死염색을 한 後 실제 生存 精子數를 보면 Table 4에서 보는 바와 같이 採取 즉시 原精液은 實 生存 精子 75%였으나, 1次稀釋後는 71.8~72.1%, 24時間 經過後 57.6~59.2%, 48時間後 38.4~38.2%, 72時間後 20.1~20.4%, 96時間後 10.9~13.5% 및 120時間後에 8.8~9.9%로 高등(1980)의 成績 보다는 生存率이 매우 낮은 便이었다.

Methylene blue 還元時間 測定試驗에서는 採取 즉시 稀釋한 精液이 8分40秒~8分21秒로 中程度였던 것이 24時間 經過되었을 때는 無限大를 나타내어 精液性狀이 지극히 不良하다는 것을 示唆하고 있었다. 金등(1979b)과 高등(1980)은 新鮮精液에서 3~5分以內, 48時間 經過時 8分內外라고 하였는데 本 試驗成績과는 對照的이었다.

保存日數別 稀釋精液의 pH 變化를 測定한 試驗 結果에서는 pH의 變化는 거의 나타나지 않았다. 金등(1979b)과 高등(1980)의 成績에서는 1日 0.2程度로 pH가 서서히 低下되어 稀釋精液을 5°C의 低溫에 保存하였을때 精液의 代謝作用으로 완충액의 有機的 分解가 서서히 進行된 흔적을 나타냈었는데 本 試驗에서는 稀釋當時가 6.78, 120時間 經過時가 6.73~6.71이었며, 5日平均이 6.75~6.72로서 稀釋當時의 pH를 그대로 維持하고 있어 精子가 많이 損傷된 것을 示唆하고 있었다.

4. 低溫 衝擊

Simmental 精液을 F-1 및 C-5 液에 稀釋하여 5°C에 保存한 것과 原精液에 對해 冷衝擊에 關한 抵抗 試驗을 한 成績은 Table 5와 같다.

Table 5. Percentage of survival sperm after cold shock at 0°C for 10 minutes

Diluent / Treatment / Duration of storage	F—1		C—5		Fresh semen	
	C*	T**	C	T	C	T
0day	60	35	60	40	60	25
1	50	25	50	30	35	10
2	35	15	40	20	10	2
3	30	10	35	13	5	0
4	15	0	20	0	0	0
5	10	0	10	0	0	0
Mean	33.3	14.1	35.8	17.1	18.3	6.1

Remark : *, Control ; **, Treatment

이 表에서 보면 保存日數別 稀釋한 精液의 低溫衝擊에 對한 抵抗性은 採取 즉시 稀釋한 精液은 生存率이 25~20%, 原精液은 35%가 損失되었으며, 24時間 保存時에는 稀釋精液이 25~20%, 原精液이 25% 損失되었고 稀釋精液 2日間 保存時는 절반으로, 原精液은 1/5로 生存率이 떨어지고 있어 稀釋精液과 原精液間에 低溫 衝擊에 대한 抵抗性의 差는 현저했다.

高등(1980)의 成績도 稀釋精液 쪽이 原精液보다 冷衝擊에 對한 抵抗性이 强하게 나타나고 있다고 하였는데 本 試驗에서도 이와 비슷한 傾向이었지만 原精液은 3日 經過後에 完全 死滅하였고 稀釋精液은 4日 經過後에 完全 死滅하여 全般的으로 冷衝擊에 對해 弱한 편이었다.

5. 高溫 保存 精子의 抵抗性

稀釋한 精液을 46.5°C에 保存하면서 每 10分마다 生存指數를 檢査한 成績은 Table 6과 같다.

Table 6. Sperm motility during storage at 46.5°C.

Diluents / Duration of storage	F—1	C—5	Fresh-semen
0min	60艸	60艸	60艸
10	5	5	5
20	0	0	0
30	0	0	0

Remark : *, Control ; **, Treatment

이 表에서 보면 46.5°C에 保存한 精子는 運動性이 지나치게 活潑한 탓인지 10分 후에 거의 死滅하였다.

高등(1980)은 20分 후에 거의 死滅하였다고 하였는데 本 試驗에서는 이 보다 더 빨리 死滅하였다.

引 用 文 獻

1. Almquist, J.O. and E.W. Wickersham. 1962. Diluents for bovine semen. XII, Fertility and motility of spermatozoa in skim milk with various levels of glycerol and methods of glyceri zation, J. Dairy Sci., 45 : 782.
2. Arbright, J.L., R.E. Frb and M.H. Ehlers. 196 0. Influence of yolk-citrate, yolk glycine, whole milk and skimmilk extenders containing glycerol on motility of bovine sperm at 37°C and 5°C, J. Dairy, Sci., 43 : 250.
3. Bartlett, J.R. and N.L. Van Demark. 1962. Effect of diluent composition survival and fertility of bovine spermatozoa stored in carbonated diluents, J. Dairy Sci., 45 : 360.
4. Dimitropulos, E. 1968. Seasonal variations in bovine fertility, the degree of responsibility of male and female factors for cyclic development of the process of fertility, VI. Congr, Reprod, Insem, Artif., Paris, 1968, Resumes : 61.
5. Emeljjanov, A.V. 1969. Basic causes of the age at culling of sires, Master, Lab, Razved, Sel-Khoz,Zhivot, Leningrad, p. 43.
6. Foote, R.H. and R.W. Salisbury. 1960. Survival of bovine spermatozoa stored at 5°C and 25°C in extenders containing varying levels of egg yolk, glucose, glycin, glycerol,citrate and other salts, Dairy Sci., 43 : 1324.
7. Johnston, J.E. and C. Branton. 1953. Effects of seasonal climatic changes on certain physiological reactions, semen production and fertility of pairy bulls, J. Dairy Sci. 36 : 934.
8. Krinitsyn, N.I. and S.F. Khamitov. 1978. Semen productien and fertility of Ural Black Pied and Dutch Black Pied Stud Bulls, ABA, 46(1) 152 : 26.
9. Louda, F. and J. Smerha. 1978. Intensive semen collection from bulls and the effect on the increase in semen production whilst maintaining the required sperm motility, ABA, 46(1) 155 : 27.
10. Riverose, G. and J. Fransen. 1967. Relationship with and effect of age and environment on volume and quality of semen, Revta, Inst, Colomb, Agropecu, 2 : 101.
11. Salisbury, G.W. 1967. Aging phenomena in spermatozoa. Ⅲ, Effect of season and storage at-79 to-88°C on fertility and prenatal losses, J. Dairy Sci., 50 : 1683.
12. Swanson, E.W. andH.A. Herman. 1944. Seasonal variation in semen quality of some Missouri bull, J. Dairy Sci, 27 : 4
13. Varnavckii, A.N. and B.F. Turbin. 1968. Presevation of find structure and fertilizing capacity of bull spermatozoa in rapid deep freezing of semen, Zhivotnovodstvo, Mosk., 30(10) : 71 72.
14. Warwick, E.J. 1973. Future role of Simmental and other new breeds in United States beef production, Crossbreeding Beef Cattle Series University of Florida Press 2 : 18.
15. Wittenberg, K. 1967. Experiences at a cattleA.I. Station with a year's use of semen frozen in liquid nitrogen, Zuchthygiene, 2 : 117.

16. 丹羽 太左衛門, 柳田 精一, 西川 義正, 吉岡 善三郎. 1975. 最新家畜の 人工授精, 日本 明文書房, 改訂版 p. 51.
17. 宮本 元, 石橋 武彦. 1979. テオフイリンによる牛および山羊精子の生存性延長, 日本家畜人工授精研究會誌 2 : 1.
18. 高光斗, 孫鳳煥, 邊明大, 金善煥. 1980. Charolais의 精液 性狀에 關한 硏究, 家畜繁殖硏究會報, 4 (1) : 20.
19. 金善煥. 1973. 牛 精子의 形態學的 考察, 家畜繁殖硏究報告誌, 8(5) : 39.
20. 金善煥, 朴喜圭, 金敬珠. 1979a. 韓牛 精液性狀에 관한 硏究 Ⅰ. 季節別 精液性狀에 關한 硏究, 韓國酪農學會誌, 1(1) : 27.
21. 金善煥, 高錫倦, 金敬珠. 1979b. 牛 精液性狀에 關한 硏究, Ⅱ, 牛 精子의 强度檢査와 acrosome의 形態變化에 관한 試驗, 韓國酪農學會誌, 1(2) : 13
22. 金善煥, 高錫倦, 金敬珠. 1979c. 紫外線照射에 의한 牛 精液 保存性 試驗, 韓國酪農學會誌, 1(2) : 21.
23. 薛東撮, 1981, 韓牛와 샤로레 交雜에 依한 體重및 體型變化에 關한 硏究, 韓國畜産學會誌, 23(2) : 162.
24. 尹昌鉉. 1976. 韓牛 精子의 耐凍性에 關한 硏究, 畜産振興硏究所報, 4 : 1.
25. 李用斌, 李在根, 金善煥, 朴喜圭, 任京淳, 鄭吉生. 1979. 家畜人工授精, 鄕文社, p. 125.
26. 李用斌. 1980. 家畜人工授精要論, 先進文化社 p. 98.
27. 任京淳, 金重佳, 徐國聖. 1975. 韓牛 精子의 一般性狀, 保存性 및 耐凍性에 關한 硏究, 韓國畜産學會誌, 17 : 271.
28. 鄭吉生, 任京淳. 1976. 最新家畜繁殖學, 先進文化社, p. 223.
29. 崔光洙, 申彦益, 薛東攝. 1977a. 韓牛와 肉牛 交雜試驗, Ⅱ, 韓牛와 샤로레 交雜種의 育成期 發育比較, 농촌진흥청 농사시험 연구보고, 19(축산편) : 13.
30. 崔光洙, 薛東攝. 1977b. 韓牛와 肉牛 交雜試驗Ⅲ, 韓牛와 샤로레 交雜種의 育成期體型變化 比較, 농촌진흥청, 농사시험연구보고, 19(축산편) : 19.