

제주마 정액의 일반성상에 관한 연구

양보석[†] · 강승률 · 이성수 · 조인철 · 김영훈¹ · 전창익¹ · 정진관
농촌진흥청 제주농업시험장

Study on the Characteristics of Semen in Jeju Horse

B. S. Yang[†], S. Y. Kang, S. S. Lee, I. C. Cho, Y. H. Kim¹,
C. I. Jeon¹ and J. K. Jung

National Jeju Agricultural Experiment Station, RDA

SUMMARY

The Jeju horse has been raised for centuries in Jeju island. Recently, as the number of this indigenous horse has been dropped dramatically, this breed became Natural Monument #347 to conserve and multiply this endangered breed. To provide the basic information for AI, sexual activity and semen characteristics in Jeju horse were investigated. Jeju horse semen was collected using Missouri style artificial vagina from fertile stallion. The number of mount per ejaculation was 2.3 ± 1.8 , and the ejaculation time was 27.0 ± 12.5 seconds. The total volume and gel-free volume of semen was 47.8 ± 26.7 ml and 42.7 ± 27.4 ml, respectively, and the concentration of sperm and the total number of spermatozoa per ejaculation was $200.7 \pm 112.9 \times 10^6$ /ml and $7.6 \pm 3.9 \times 10^9$ /ml, respectively. The percentage of motile sperm and the number of live spermatozoa per ejaculation was $75.0 \pm 18.2\%$ and $6.1 \pm 3.4 \times 10^9$ /ml, respectively, and the pH of gel-free semen was 7.3 ± 0.2 . The total percentage of abnormal sperm was 31.5%, and the percentage of sperm with abnormal head, midpiece and tail was $9.5 \pm 11.7\%$, $7.0 \pm 4.0\%$ and $15.0 \pm 15.0\%$, respectively.

서론

제주에서 말을 사육해온 역사는 제주의 삼성설화에서도 말에 관한 언급이 있는 바와 같이 매우 오래로 선사시대부터 시작되었을 것으로 추정되나 본격적으로 사육되기 시작한 시기는 우리 나라가 원나라의 지배하에 있었던 고려 충렬왕 2년(1276년)에 몽고마 160두가 말 사육 전문가와 함께 제주로 들어왔을 때부터이다. 그 후부터 제주는 말 사육적으로 명성을 얻기 시작하여 1939년에는 20,922두

가 사육되었다는 기록이 있으나, 시대의 변천에 따라 그 이용성이 축소되고 사육가치가 저하되어 1986년에는 불과 1,500여두로 그 수가 감소하였다. 따라서 정부에서는 재래 유전자원의 보존을 위하여 제주마를 천연기념물 제 347호로 지정 보호하기에 이르렀다 (강, 1998). 이후 1990년에는 제주마를 보호·육성하고 제주도의 관광산업 발전을 위하여 제주마 경마장이 한국마사회에서 설립되어 현재 제주마 사육 두수는 5,400여두로 증가하였으며 2000년에 들어서는 제주마 등록사업에 착수하기에 이르러 유전자원의 보존 및 증식의 측면에서 제주마

본 연구는 농촌진흥청 대형과제로 수행되었음.

[†]Correspondence : yangbs@rda.go.kr

¹ 제주도 축산진흥원(Jeju Institute for Livestock Promotion)

인공수정에 대한 필요성이 증가하기에 이르렀다.

말의 인공수정은 1322년 아라비아에서 적의 종마로부터 정액을 훔쳐 자신의 암말에 인공수정하였다는 말이 전해지고 있으나 현재와 같은 인공수정 기술은 러시아 과학자인 Ivanov가 1933년 말을 비롯한 소, 면양 그리고 돼지의 정액채취와 인공수정 기술을 개발한 기록이 시초로 초기의 인공수정에 관한 연구는 대부분 말과 면양을 중심으로 수행되었으나 말의 인공수정에 의한 번식이 대부분의 품종등록협회로부터 금지되어 말 인공수정에 관한 연구가 수행되지 못하였다. 그러나 최근 Thoroughbred, Quarter Horse 등 일부 주요 품종을 제외한 대다수의 품종의 등록협회에서 인공수정을 인정함에 따라 말의 인공수정에 관한 연구도 활발히 진행되어 현재 동결정액에 의한 수태율이 평균 약 50%에 달하고 있으나 한 발정당 수태율은 0~70%로 변이가 크며 아직까지 표준화된 방법은 없는 실정이다 (Squires 등, 1999; Samper, 2000).

또한 제주마를 이용한 인공수정에 관한 연구는 뮌 등(1994)이 제주 재래마 정액의 일반특성을 조사하였으며,朴 등(1995)이 제주 재래마 정액의 동결 용해 후 정자의 생존성에 관한 연구를 제외하곤 미비한 실정이다. 따라서 본 연구는 제주마 등록사업의 성공적인 수행을 위한 동결정액을 이용한 인공수정 기술 개발의 기초자료를 제공하고 제주마의 사정 특성 및 정액의 일반특성을 조사하였다.

재료 및 방법

1. 공시 동물

본 연구는 제주도 축산진흥원에 사육되고 있는 천연기념물 제 347호로 지정된 제주마 종마 4두를 공시하여 제주도 축산진흥원 야외 정액 채취실과 실험실에서 실시하였다.

2. 정액의 채취

정액의 채취는 종마와 동일한 기관의 방목지에서 사육되고 있는 발정이 확인된 발정중인 제주마 암말을 의빈축으로 이용 Missouri style 인공질을 이용하였다. 정액 채취시 인공질의 온도는 평균

41.1°C로 그 범위는 37~42°C였으며, 인공질내로 음경의 삽입이 용이하도록 정자에 무해한 윤활제 (Agtech, 미국)를 인공질의 비닐 내피(A.V. liner; Agtech, 미국)에 바르고 정액을 채취하였다.

정액 채취시 종마의 사정특성을 조사하고자 종마의 음경이 인공질에 삽입한 시점에서 승가가 끝나는 시기까지의 시간을 조사하여 사정시간으로 판단하였으며, 종마가 사정을 위하여 암말에 승가하는 회수를 조사하여 사정당 승가회수로 판정하였다.

3. 정액의 검사

채취한 정액은 먼저 매스실린더를 이용하여 총 정액량을 측정 후 멸균 거즈를 이용하여 gel을 여과하여 gel-free량을 측정하였으며 pH는 pH meter를 이용하여 측정하였다. 정자농도는 혈구계산판(Hemocytometer)을 이용하여 계산하였으며 운동 정자의 비율은 38°C로 가온된 정액상검사판(FHK, 일본)을 이용 200×의 배율로 현미경하에서 조사하였다.

정자의 생존율은 5% eosin과 10% nigrosin을 이용하여 정액 1, eosin 용액 2 그리고 nigrosin 용액 4의 비율로 혼합한 후 즉시 슬라이드에 도말·건조하여 현미경하에서 염색상태를 검사하여 생사를 판정하였다. 또한 정자의 기형율은 gel-free 정액을 슬라이드에 도말한 후 carbo-fuchsin 법으로 염색하여 정자 부위별 기형율을 조사하였다.

결과 및 고찰

1. 제주마의 사정 특성

제주마의 사정 특성을 조사한 결과는 Table 1에 나타내었다.

Table 1에서 보는 바와 같이 제주마의 인공질에 사정하는 시간은 평균 27.0±12.5초로 그 범위는 5

Table 1. Sexual activity of Jeju horse

| Measure | Range | Mean±SD |
|------------------------|-------|-----------|
| Ejaculation time (sec) | 5~37 | 27.0±12.5 |
| Mount/ejaculation | 1~ 5 | 2.3± 1.8 |

~37초였으며 사정당 승가회수도 평균 2.3 ± 1.8 회로 그 범위는 1~5회였다.

본 연구에서 얻어진 평균 사정시간 27.0초는 McDonnell (1986)이 보고한 종마의 교배시간은 25~30초라는 결과와 일치하였으나 Magistrini 등 (1987)이 보고한 사정시간 6.2분보다는 짧았다. 이러한 차이는 Henry 등(1991)이 보고한 바와 같이 2두의 종마를 이용 승가 후 사정까지의 시간은 같으나 승가로부터 승가를 끝내는 시간은 종마에 따라 다소 차이가 있다는 결과와 본 연구에서도 같은 개체라도 사정시간에 변이가 있었던 것으로 미루어 볼 때 보고자들간의 차이는 시험에 공시한 종마의 품종보다는 개체간 및 채취 반복간의 차이에 기인된 것으로 사료된다.

또한 사정당 승가회수도 본 연구에서는 평균 2.3회였으나 Tyler (1972)는 1.6회 그리고 Bristol (1982)은 1.74회로 본 연구에서 얻어진 사정당 승가회수보다 적었다. 이러한 차이는 본 연구의 수행 중 의빈축으로 사용한 암말이 발정기 후기에는 종마의 승가를 접촉 초기에 거부하였으며 동일한 개체라도 승가회수의 범위가 1~5회로 다소 변이가 커서 나타난 결과로 사료되며 본 연구 이외의 연구자들이 방목 중의 승가행동을 조사하였기 때문에 암말은 승가허용 발정 중이었으므로 승가회수보다 적게 나타난 것으로 사료된다. 따라서 제주마의 특징적인 교배당 사정회수를 조사하기 위하여는 방목 중의 암말이 자유로운 상태 하에서의 성적 특성을 조사할 필요가 있다고 사료된다.

2. 정액의 일반 성상

제주마 정액의 일반 성상은 Table 2에 나타내었다.

제주마 정액의 일반특성은 Table 2에서 보는 바와 같이 총 정액량은 평균 47.8 ± 26.7 ml로 그 범위가 24~97ml로 개체간에 또한 동일한 개체에서도 차이를 보였으며 gel-free 양은 평균 42.7 ± 27.4 ml이었다. 또한 평균 정자농도는 $200.7 \pm 112.9 \times 10^6$ /ml로 사정당 총 정자수는 $7.6 \pm 3.9 \times 10^9$ /ml였으며 생존정자의 비율은 $75.0 \pm 18.2\%$ 로 사정당 총 생존정자수는 $6.1 \pm 3.4 \times 10^9$ /ml, gel-free 정액의 pH는 7.3 ± 0.2 였다. 그리고 정자 부위별 기형율은 두부

Table 2. Characteristics of Jeju horse semen

| Characteristics | Range | Mean \pm SD |
|---|----------|-------------------|
| Total volume (ml) | 24~97 | 47.8 ± 26.7 |
| Gel-free volume (ml) | 20~94 | 42.7 ± 27.4 |
| Sperm concentration ($\times 10^6$ /ml) | 100~400 | 200.7 ± 112.9 |
| Total sperm ($\times 10^9$ /ml) | 2.0~12.8 | 7.6 ± 3.9 |
| Motile spermatozoa (%) | 45~90 | 75.0 ± 18.2 |
| Total live sperm/ejaculation ($\times 10^9$ /ml) | 0.9~10.9 | 6.1 ± 3.4 |
| pH of gel-free semen | 7.1~7.5 | 7.3 ± 0.2 |
| Morphological abnormality (%) | | |
| - Head | 0~30 | 9.5 ± 11.7 |
| - Midpiece | 2~13 | 7.0 ± 4.0 |
| - Tail | 0~35 | 15.0 ± 15.0 |

가 $9.5 \pm 11.7\%$, 경부가 $7.0 \pm 4.0\%$ 그리고 미부가 $15.0 \pm 15.0\%$ 로서 전체적인 기형율은 31.5%였다.

본 연구에서 얻어진 총 정액량 47.8 ± 26.7 ml와 gel-free량 42.7 ± 27.4 ml는 뚝 등(1994)이 보고한 제주 재래마 정액의 특성인 총 정액량 38.0ml와 gel-free량 33.4ml였다는 결과와 Magistrini 등(1987)이 보고한 gel-free량은 29.4ml였다는 결과보다는 많았으나 Dowsett와 Pattie(1982)가 보고한 2~26세의 종마를 이용하여 정액 채취시 총 정액량은 63.9 ± 45.9 ml였으며 gel-free량은 45.3 ± 30.9 ml였다는 결과와 총 정액량은 적었으나 gel-free량은 비슷한 수준이었다. 이러한 연구자들간에 정액량에 차이가 있는 것은 Squires 등(1972)이 Light horse breed를 이용 연령별로 총 정액량을 조사한 결과 2~3세는 16.2ml, 4~6세는 31.4ml, 그리고 9~12세는 43.2ml로 종마의 연령에 따라 차이가 있다고 보고한 결과로 미루어볼 때 시험에 공시된 종마의 연령의 차이에 기인된 것으로 사료된다. 또한 본 연구의 정자 농도 $200.7 \pm 112.7 \times 10^6$ /ml는 뚝 등(1994)이 보고한 정자 농도 3.8×10^8 /ml보다는 적

었으나 Dowsett와 Pattie(1982)이 보고한 $178.0 \pm 168.0 \times 10^6/\text{ml}$, Pattie와 Dowsett(1982)이 보고한 $164.1 \sim 39.4 \times 10^6/\text{ml}$ 그리고 Magistrini 등(1987)이 보고한 $171.6 \times 10^6/\text{ml}$ 보다는 다소 많았지만 비슷한 결과였다. 그러나 본 연구에서 개체간에 또한 채취간에 정자 농도는 변이가 심하므로 제주마 품종의 특성을 구명하기 위하여는 더욱 많은 공시두수를 이용 조사할 필요가 있다고 사료된다.

또한 본 연구에서 얻어진 정자의 기형을 31.5%는 Bielanski 등(1982)이 보고한 정상정자의 비율이 84~88%로 기형율은 22~26%라는 결과와 오등(1994)이 보고한 기형율 20.8%보다 높았으나 Dowsett와 Pattie(1982)가 보고한 41.3%보다는 다소 낮았다. 그리고 정자의 부위별 기형율은 두부가 9.5%, 경부가 7.0% 그리고 머부가 15.0%로서 머부가 가장 높았으며 머부 기형의 대부분은 머부가 감겨진 coiled tail의 비율이 많았으며 이와 같은 결과는 Bielanski 등(1982)이 정상 수정능을 갖은 종마의 정자 부위별 기형율을 조사한 결과 coiled tail의 비율이 가장 많았다는 보고와 일치하는 결과였다. 그러나 말 정자의 기형율은 번식계절의 단계에 따라 변화하므로 금후 계절별 종마별 정액성상 검사를 하여 수태율과의 관계도 연구할 필요가 있다고 사료된다.

적 요

본 연구는 천연기념물로 지정되어 있는 제주마의 유전자원 보존과 증식을 위한 인공수정 기술의 실용화를 위한 기초자료를 제공하고자 제주도 축산진흥원에서 사육되고 있는 제주마 종마 4두를 공시하여 Missouri style 인공질을 이용 정액을 채취하여 사정 특성 및 정액의 일반 성상을 조사하였다.

제주마는 교미를 위하여 발정 중인 암말에 사정당 2.3 ± 1.8 회 승가를 하며 사정시간은 27.0 ± 12.5 초였다. 정액의 일반성상을 조사한 결과 총 정액량은 $47.8 \pm 26.7\text{ml}$, gel-free 양은 $42.7 \pm 27.4\text{ml}$, 정자 농도는 $200.7 \pm 112.9 \times 10^6/\text{ml}$ 로 사정당 총 정자수는 $7.6 \pm 3.9 \times 10^9/\text{ml}$ 였다. 또한 원정액중 생존 정자의 비율은 $75.0 \pm 18.2\%$ 로 사정당 생존 정자수는

$6.1 \pm 3.4 \times 10^9/\text{ml}$ 였으며 gel-free 정액의 pH는 7.3 ± 0.2 이었다. 정자의 기형율은 평균 31.5%로서 부위별로는 머부가 $15.0 \pm 15.0\%$, 두부가 $9.5 \pm 11.7\%$ 그리고 경부가 $7.0 \pm 4.0\%$ 였다.

참고문헌

- Bielanski W, Dudek E, Bittmar A and Kosiniak K. 1982. Some characteristics of common abnormal forms of spermatozoa in highly fertile stallions. J. Reprod. Fert. suppl., 32:21-26.
- Bristol F. 1982. Breeding behavior of a stallion at pasture with 20 mare in synchronized oestrus. J. Reprod. Fert. suppl., 32:71-77.
- Dowsett KF and Pattie WA. 1982. Characteristics and fertility of stallion semen. J. Reprod. Fert. suppl., 32:1-8.
- Henry M, McDonnell SM, Lodi LD and Gastal EL. 1991. Pasture mating behavior of donkeys (*Equus asinus*) at natural and induced estrus. J. Reprod. Fert. suppl., 44:77-86.
- Magistrini M, Chantaloube Ph and Palmer E. 1987. Influence of season and frequency of ejaculation on production of stallion semen for freezing. J. Reprod. Fert. suppl., 35:127-133.
- McDonnell SM. 1986. Reproductive behavior of the stallion. Vet. Clin. N. Am.: Equine Pract., 3:535-555.
- Pattie WA and Dowsett KF. 1982. The repeatability of seminal characteristics of stallion. J. Reprod. Fert. suppl., 32:9-13.
- Samper JC. 2000. Equine breeding management and artificial insemination. W.R. Saunders Company.
- Squires EL, Pickett BW and Amann RP. 1972. Effect of successive ejaculation on stallion seminal characteristics. J. Reprod. Fert. suppl., 27:7-12.
- Squires EL, Pickett BW, Graham JK, Vanderwall DK, McCue PM and Bruemmer JE. 1999. Cooled and frozen stallion semen. Anim.

- Reprod. Biotech. Lab. Colorado State Univ. Bulletin No. 09.
- Tyler S. 1972. The behaviour and social organization of the New Forest ponies. Anim. Behav. Monogr., 5:87-196.
- 강민수. 1998. 제주 말(馬) 연구. 도서출판 열림문화.
- 康珉秀, 金熙錫. 1995. 濟州在來馬 精液의 凍結保存에 關한 研究. 農業論文集. 37(1):459-463.
- 吳雲龍, 朴南建, 金埜勳, 李晟守, 金熙錫, 金重柱, 申源執. 1994. 濟州在來馬 精液의 一般性狀에 關한 調査研究. 農業論文集. 36(2):552-557.
-
- (접수일: 2001. 4. 25 / 채택일: 2001. 8. 1)
- 朴南建, 吳雲龍, 李晟守, 吳昌彥, 姜守遠, 高瑞逢,