

진도개 동결정액 제조를 위한 정액성상과 동결정액의 운동성에 관한 연구

김홍률 · 이계웅¹ · 공일근^{2†}
농협중앙회 가축개량사업소

Study on the Motility of Frozen Semen and Characteristics for Frozen Semen Processing of Jindo-Dog

Kim, H. R., K. W. Lee¹ and I. K. Kong^{2†}
Livestock Improvement Main Center, NACF

ABSTRACT

This study was carried out to investigate the semen characteristic, motility and viability and sperm motion characteristic by CASA test for establishing the Jindo-dog's semen freezing system. The results obtained are as follow:

1. The semen was collected 63 times. Average volume of semen, concentration of sperm, total number of sperm, progressive motility and viability were 3.8 ml, 145.6×10^6 cells/ml, 396.2×10^8 cells, 79.7% and 89.5%, respectively. Also, Fawn (Yellow) Jindo-dog comparing with White Jindo-dog showed better concentration of sperm, total number of sperm, progressive motility and viability. Among all dogs, the results of No. 2 Fawn Jindo-dog were the best.
2. The average progressive motility and viability of semen from 46 times were 73.5%, 82.3% before freezing and 51.1%, 64.9% after freezing. So, the freezing of semen has affected the progressive motility and viability. The progressive motility and viability of Fawn Jindo-dog's semen, before and after freezing, were better than White Jindo-dog. And No. 2 Fawn Jindo-dog showed the best results and showed significantly different among all dogs ($P < 0.05$).
3. The 44 times-tested results by CASA system were as follow; MOT (motility) 65.6%, PROG (progressive motility) 54.8%, VAP (average path velocity) 75.3 $\mu\text{m}/\text{sec}$, VCL (curve linear velocity) 90.0 $\mu\text{m}/\text{sec}$, VSL (straight-line velocity) 69.4 $\mu\text{m}/\text{sec}$ and ALH (amplitude of lateral head displacement) 4.4 μm . Although the motion characteristic of frozen semen were not significantly different between White and Fawn Jindo-dog, No. 2 Fawn Jindo-dog showed the best results and was significantly different among all dogs ($P < 0.05$).
4. The success rate of frozen semen production between White and Fawn Jindo-dog were 43% (13/28), 94% (33/35), respectively, and the total success rate was 73% (46/63). The freezing-ability

* 본 연구는 2000년 농림기술개발연구과제의 현장애로기술개발사업비 지원에 의해서 수행되었음.

† Corresponding author : Tel: 061-750-3236, E-mail: ikong@sunchon.ac.kr

¹ 진도군 진도개보육관리소(Jindo-dog Breeding Management Center)

² 순천대학교 동물자원과학과(Department of Animal Science, Suncheon National University)

of Fawn Jindo-dog's semen was better than the other.

Conclusively, the present results indicated that the characteristic and motility of Jindo-dog's semen were suitable for processing frozen semen, artificial insemination and mass production system. Also, the selection of suitable dog-breed was so important because the characteristic and freezing-ability of semen were significantly different between White and Fawn Jindo-dogs and among all individual dogs.

(Key words: Jindo-dog, Semen characteristic, CASAs, Frozen semen)

I. 서론

천연기념물 53호이며 국제공인(FCI) 334호(19-95)로 지정 받은 진도개의 혈통보존과 국제적인 명견으로 육성하기 위해서는 유전자원과 정액보존 및 이를 이용한 인공수정기술의 확립이 절실히 요구되고 있다. 동결정액을 이용한 인공수정의 많은 장점들이 대가축에서 이미 증명되어 산업화되었다. 그러나 개 정액의 동결은 가축의 정자와는 생리적으로 큰 차이가 있으며, 동결에 따른 손상으로 낮은 생존성과 수태율 때문에 정액의 단기보존에 관하여 많은 연구가 이루어졌으나 단기보존은 보존기간이 짧아 이용자가 원하는 시기에 편리하게 이용할 수 없는 단점이 있어 생존성이 높은 동결보존법의 개발이 절실히 요구되고 있다. 또한 진도개의 동결정액 제조를 위한 정액성상의 특성 조사 및 동결정액 제조기술은 더욱 미흡한 상태이다. 일반적으로 동결정액의 제조를 위해서는 우선적으로 그 품종의 정액특성과 성상 등에 관하여 조사하여야 하며 이러한 자료를 기초로 동결정액 희석액, 정자의 농도 및 동결방법 등이 결정될 수 있을 것이다.

개의 정액채취방법에 관하여 1954년 Harrop가 보고하였는데 수지법과 인공질법을 비교하였을 때 인공질법이 우수하다고 한 반면 Boucher 등(1958)은 수지법이 우수하다고 하여 보고자간에 차이가 있었다. 또한 Gunzel(1986)은 정액량이 개의 체중에 따라 차이가 있는 것으로 보고한 바 있고, Rota 등(1995)은 4℃ 단기 냉장보존시 희석제에 따른 개체간 차이를 보고하였다.

그리고 개의 동결정액 제조에 관련된 여러 보고가 있는데 Harrop(1962)은 동결 용해후 45~50%의

정자 생존성을 보고하여 동결처리에 의한 장기보존의 가능성을 시사하였으며, Seager와 Fleccher(1975)는 정액의 채취, 보존 및 인공수정에 관하여 보고하였고, 개 동결정액을 이용하여 임신과 분만에 처음으로 성공하였다.

그러나 아직까지 동결보존한 경우는 생존율과 임신율이 낮아서 이의 개선이 필요한 실정이다. Ivanova-Kicheva 등(1995)은 동결정액의 용해방법이 정자의 형태와 기능적 상태에 영향을 대하여, Rota 등(1997)은 개 동결정액 제조시 희석액에 0.5% Equex STM paste를 Tris-citrate-glucose extender에 첨가하여 원형질막, 첨체 등에 매우 효과적이라는 결론과, Strom 등(1997)은 희석액, 희석단계, 평형시간 및 동결용해속도에 대한 연구결과를 보고하였다. 국내에서는 김 등(1994), 김과 김(1995)은 methanol을 이용한 동결보존방법을, 김 등(1999)은 정장제거가 동결정액의 생존율에 미치는 영향, 공 등(1999)은 Tris-buffer에 STM paste를 첨가한 동결정액 제조방법 등을 보도하였다. 이와 같은 연구결과와는 다양한 품종의 개를 이용한 자료이고 진도개를 이용한 보고는 박 등(1997)이 보고한 바 있으나, 미흡한 실정이다.

따라서 본 연구에서는 진도개의 인공수정 기술의 개발을 위하여 기초자료를 얻고자 정액성상과 동결정액 제조시 정액활력과 생존율 및 운동성 등을 조사하였으며 정액채취량, 총정자수 및 정액의 활력과 생존율 등에 개체차이를 고려한 종견의 선발이 활용될 수 있도록 본 연구를 수행하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시동물

정액채취와 동결정액 제조를 위해 공시되는 진

도개는 전남 진도군 진도개보육관리소의 사육장에서 선발된 종견을 농협중앙회 젓소개량부의 사육장에서 물과 사료를 자유급식시키면서 사육하였다. 공시견은 총 4두로 백구, 황구 각 2두씩 생후 12~24개월령의 혈통관리된 종견이었으며 사육장의 견방당 1마리씩 단독사육을 원칙으로 사육 관리하였다. 본 연구 결과를 토대로 진도개의 선발은 진도군에서 사육되고 있는 진도개 순종 중에서 외모심사규정에 의해 우수한 진도개를 선발하여 장차 인공수정 및 유전자원보존 등에 이용할 수 있는 종견으로 활용하기로 하였다.

2. 정액채취 및 관리

정액채취는 Fig. 1과 같이 1~2년생 진도개를 주당 1~2회씩 마사지법과 인공질법을 병행 실시하였다. 정액채취 수개는 정액채취대로 옮기고 10 ml tube를 semen collection cone (AG-TEK, KANE Enterprises, S. Dakota, USA)에 연결시키고 음경을 마사지하여 발기와 돌출을 유도하여 돌출된 음경의 구선부위(bulbus glandis)를 잡고 압력을 가하면서 음경을 인공질에 삽입하여 채취하였다. 이때 음경에 상처를 주지 않고 적당한 압력을 주면서 2차 fraction(sperm-rich fraction)만을 인공질을 이용하여 채취하였고, 정상적인 정액만을 택하여 400×g로 약 5분간 원심분리하여 상층액은 버리고 37°C의 2 ml Ext I으로 희석하여 본 연구에 이용하였다.



Fig. 1. Semen collection and artificial vagina of Jindo-dog.

3. 정액의 희석과 동결처리

희석액은 정자의 생존기간의 연장과 양적 증대 및 적정 삼투압을 유지시키기 위한 물질들을 첨가하여 제조하게 되는데 Rota 등(1997)의 방법에 준하여 Table 1과 같이 Ext I과 II를 제조하여 이용하였다.

원정액의 정자수(농도), 활력과 생존율 등을 조사하여 동결정액 제조의 가능 여부를 판단하여 동결이 가능한 정액을 Ext I으로 희석하여 5°C cold

Table 1. Composition of tris-buffer extenders for Jindo-dog semen freezing

Compounds	Extender I	Extender II
Tris	3.028 g	3.028 g
Citric acid, monohydrate	1.678 g	1.678 g
Fructose	1.000 g	1.000 g
Na-benzyl penicillin	0.060 g	0.060 g
Streptomycin sulphate	0.100 g	0.100 g
Egg yolk	20.0 ml	20.0 ml
Glycerol	-	8.0 ml
D.W.	to 100 ml	to 100 ml
pH	6.53	6.48
Osmolarity	280 mOsm/Kg	1,370 mOsm/Kg

room에서 2시간 정도 방치하여 5°C까지 냉각시켜 같은 온도의 동량 Ext II를 약 1시간에 걸쳐 희석 평형을 유도하였다. 평형후 최종농도가 50×10^6 cells/ml 되게 조정후 0.5 ml straw에 충전 봉합하여 액체질소 표면 10 cm 위에서 예비동결을 유도하였다. 예비동결된 straw는 액체질소에 침지하여 동결 정액 제조를 완료하였고, goblet에 담아 LN₂ tank에 넣어 보존하였다. 동결정액의 용해는 37°C에서 20초간 실시하고 가온판이 부착된 현미경하에서 정액의 활력과 생존율을 검사하고 CASAs 검사로 정액의 운동성을 평가하여 인공수정에 이용 여부를 판단하였다.

4. 원정액 및 동결전후 정액 검사

정액량은 채취 직후 2차 분획을 인공질에 연결된 정액채취관의 눈금으로 직접 확인하였으며 정자농도는 분광계(Spectrophotometer : Spectronic 20, Milton Roy Co.)를 이용하여 측정하였고, 정액의 총정자수는 정액량과 정자농도를 곱하여 계산하였다. 또한 원정액의 활력과 생존율은 37°C로 조정된 가온판이 부착된 현미경하에서 검사하였다. 동결 전 정액검사는 냉장보존된 정액중 일부를, 동결후 정액검사는 동결된 정액을 용해하여 현미경하에서 활력과 생존율을 검사하였다.

5. 동결정액의 CASAs 검사

동결된 정액의 현미경검사는 주관적인 판단 및 평가가 수반되므로 보다 정확하고 객관적인 평가가 가능한 CASAs(Computer-assisted semen analysis : Hamilton)를 이용한 정액의 운동성을 조사하였다. 검사정액 10 μ l를 취하여 microcell slide에 넣고 현미경검사를 하였으며, 조사항목은 MOT(운동정자 비율, %), PROG(전진운동정자비율, %), VAP(정자의 초당 평균이동속도, μ m/sec), VCL(정자의 초당 평균곡선이동속도, μ m/sec), VSL(정자의 초당 평균직선이동속도, μ m/sec), ALH(측두거리, μ m)로 정액의 운동성을 종합적으로 조사 평가하였다.

6. 통계처리

본 연구는 백구와 황구간, 그리고 각 개체별 채취한 정액성상과 처리를 하면서 동결 전후의 정액 활력과 생존율, CASA 검사로 정액의 운동성을 조사한 평균 결과에 관하여 SAS package를 사용하여 Duncan test를 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 원정액의 성상 조사

진도견 4두중 백구 2두(4, 6호)와 황구 2두(2, 5호)을 이용한 63회 정액 채취를 시도하여 원정액의 성상과 활력(전진운동율) 및 생존율을 현미경검사로 실시한 결과는 Table 2와 같다.

Table 2. Characteristics of fresh semen in Jindo-dog

Color of dog	No. (treat)	Vol. of semen (ml)	Con. of semen ($\times 10^6$ /ml)	No. of total sperm ($\times 10^6$)	Progressive motility (%)	Viability of semen (%)
White	4(16)	4.9 \pm 3.1 ^a	73.0 \pm 60.9 ^b	216.0 \pm 140.5 ^c	78.8 \pm 7.4 ^{ab}	88.1 \pm 7.5 ^{ab}
	6(12)	4.9 \pm 3.3 ^a	38.6 \pm 27.3 ^b	177.7 \pm 142.0 ^c	75.4 \pm 6.9 ^b	85.8 \pm 4.2 ^b
	(28)	4.9 \pm 3.2 ^A	58.3 \pm 51.7 ^B	199.6 \pm 139.8 ^B	77.3 \pm 7.3 ^B	87.1 \pm 6.3 ^B
Fawn ¹⁾ (Yellow)	2(22)	3.4 \pm 1.3 ^{ab}	206.9 \pm 107.6 ^a	619.6 \pm 268.4 ^a	82.0 \pm 3.0 ^a	91.8 \pm 2.5 ^a
	5(13)	2.1 \pm 0.5 ^b	229.9 \pm 109.0 ^a	441.6 \pm 157.7 ^b	80.8 \pm 4.5 ^a	90.8 \pm 4.5 ^a
	(35)	2.9 \pm 1.2 ^B	215.4 \pm 107.1 ^A	553.5 \pm 246.7 ^A	81.6 \pm 3.6 ^B	91.4 \pm 3.3 ^A
Total (63)		3.8 \pm 2.5	145.6 \pm 116.8	396.2 \pm 270.8	79.7 \pm 5.9	89.5 \pm 5.3

¹⁾ Fawn Jindo-dog: Yellow color coat of Jindo-dog.

^{a,b,c,A,B} Different superscripts in the same column were significantly different (P<0.05).

정액성상을 조사한 결과 평균 정액량은 3.8 ml, 정자농도는 ml당 145.6백만, 총정자수는 392.2백만 정도였으며, 원정액의 활력과 생존율은 현미경 검사결과 79.7%와 89.5% 수준이었다. 그중 백구와 황구간 정액성상 비교 결과 백구는 4.9 ml, 58.3백만/ml, 총정자수 199.6백만이었고, 황구는 2.9 ml, 215.4백만/ml, 총정자수 553.5백만으로서 정액량은 백구가 많았으나 정자농도는 황구가 상당히 높아 총정자수 역시 황구가 유의적으로 높은 경향을 보였다($P < 0.05$). 또한 현미경 검사에 의한 원정액의 활력과 생존율을 검사한 비교 결과에서도 백구는 77.3%와 87.1%, 황구는 81.6%와 91.4%를 보여 황구가 보다 우수한 것으로 나타났다($P < 0.05$). 한편 진도전 개체별 정액성상을 살펴 본 결과에서는 정액량의 경우 백구인 4호와 6호가 우수하였으나 정자농도는 황구의 5호와 2호 순으로 좋았고, 종합한 총정자수는 황구인 2호가 가장 많았고, 5호, 백구 4호, 6호순으로 정액성상에 있어서 개체간의 유의적인 차이가 인정되었다($P < 0.05$). 그리고 개체간의 원정액 활력과 생존율 역시도 총정자수의 순과 일치하는 경향을 보여 2호, 5호, 4호, 6호순 이었고 2호의 활력과 생존율은 82.0%와 91.8%를 나타냈으며 개체간의 유의적인 차이가 인정되었다($P < 0.05$).

이와 같은 결과는 정액량의 경우 김 등(1999)의 2차 분획량 2.14 ml 보다는 훨씬 많았고, Roychoudhury와 Dubay(1974)가 보고한 3.74 ml와 거의 일치하는 경향을 보였으며 진도전의 정액성상에 관하여 박 등(1997)이 보고한 3.29 ml 보다는 다소 높은 경향을 나타냈다. 또한 정자농도는 Roychoudhury와 Dubay(1974)는 제 2분획 중심의 정자농도가 0.7×10^8 cells/ml, 김 등(1999)은 5.07×10^6 cells/ml라고 보고하여 본 연구결과가 훨씬 높았고, Harrop(1954)는 1.25×10^8 cells/ml라고 하였으며, 박 등(1997)이 보고한 1.64×10^8 cells/ml와는 유사한 경향이였다. 총정자수는 Rota 등(1995)이 916×10^6 cells을 보고하여 본 연구결과 보다 높았다. 그리고 원정액 활력의 경우 박 등(1997)은 96.7%, 김 등(1999)은 95.42%라 하였고, Gunzel(1986)은 60~100%이며 70~90%정도면 양호한 정액으로 보고한 바 있다. Rota 등(1997)은 원정액의 활력이

82.1%, Yildiz 등(2000)은 82.1~85.0%라고 보고하였고, Rota 등(1995)은 활력이 78.6%였다고 보고하여 본 연구결과와 활력과 유사한 경향을 보였으며, 생존율 또한 양호한 것으로 판단되었다. 한편 Gunzel(1986)은 체중에 따른 정액량과 성상이 개체간 차이가 있다고 보고하였고, 본 연구에서는 황구와 백구간에, 개체간에 정액성상에 차이가 있는 것을 확인할 수 있었다. 채취 정액량과 정자수에 관해서는 보고자간에 다소의 차이를 보였는데 이는 보고자간에 공시 개의 품종이 다르고, 채취 정액의 분획별 명확한 회수의 구분이 어렵기 때문에 발생한 결과라 사려되었으며, 보고자간에 활력의 경우 평가방법이 다소 상이하여 동일 비교가 어렵다고 판단되었다.

2. 동결전후 정액의 활력과 생존율 검사

63회 채취된 정액중 정자수가 부족하지 않고, 원정액의 활력과 생존율이 양호한 46회만을 동결정액 제조를 위하여 시도되었는데 glycerol 평형이 완료된 동결전 냉장정액의 활력과 생존율을 그리고 동결된 정액을 용해하여 활력과 생존율을 현미경 검사로 조사한 결과는 Table 3과 같다.

Glycerol 평형이 완료된 동결전 냉장정액의 활력과 생존율은 원정액보다 다소 감소한 73.5%와 82.3%였으며, 동결정액의 용해후 활력과 생존율은 51.1%와 64.9%로 기준이상의 양호한 결과를 보였다. 그리고 백구와 황구간의 비교 결과 동결전 냉장정액의 활력과 생존율, 동결 용해후 활력과 생존율은 백구가 70.8%, 78.8%와 48.5%, 62.3%이고 황구가 74.5%, 83.6%와 51.1%, 65.9%로 보다 우수한 것으로 나타났으며, 동결 용해후 생존율을 제외하고 유의적인 차이가 있었다($P < 0.05$). 그리고 백구와 황구간의 비교 결과 동결전 냉장정액의 활력과 생존율, 동결 용해후 활력과 생존율은 백구가 70.8%, 78.8%와 48.5%, 62.3%이고 황구가 74.5%, 83.6%와 51.1%, 65.9%로 보다 우수한 것으로 나타났으며, 동결 용해후 생존율을 제외하고 유의적인 차이가 있었다($P < 0.05$). 또한 개체간의 활력과 생존율을 비교한 결과 동결전 냉장보존 정액의 활력과 생존율은 2호가 75.0%와 84.0%로 가장 좋았으며

Table 3. Progressive motility and viability of semen before and after freezing

Color of dog	No. (treat)	Before freezing ¹⁾		After freezing ²⁾	
		Motility (%)	Viability (%)	Motility (%)	Viability (%)
White	4(8)	73.1±8.0 ^a	80.6±9.0 ^{ab}	47.5±6.5 ^b	60.6±5.6 ^b
	6(5)	67.0±4.5 ^b	76.0±4.2 ^b	50.0±6.1 ^{ab}	65.0±6.1 ^{ab}
	(13)	70.8±7.3 ^B	78.8±7.7 ^B	48.5±6.3 ^B	62.3±6.0
Fawn (Yellow)	2(21)	75.0±5.0 ^a	84.0±4.1 ^a	54.5±5.9 ^a	68.3±7.0 ^a
	5(12)	73.8±3.1 ^a	82.9±3.3 ^a	47.9±3.3 ^b	61.7±4.4 ^b
	(33)	74.5±4.4 ^A	83.6±3.8 ^A	52.1±6.0 ^A	65.9±6.9
Total	(46)	73.5±5.6	82.3±5.5	51.1±6.2	64.9±6.8

¹⁾ Before freezing: after equilibration for freezing of semen.

²⁾ After freezing: after thawing of frozen semen.

^{ab} A,B Different superscripts in the same column were significantly different (P<0.05).

5호, 4호, 6호 순이었고, 동결 용해후 활력과 생존율도 역시 2호가 54.5%와 68.3%로 가장 좋았으며 6호, 5호, 4호순으로 차이가 인정되었다(P<0.05).

동결전 냉장보존된 정액의 활력과 생존율의 경우 Yildiz 등(2000)은 냉장보존시 평형이 완료된 후 활력이 62.1~75.7%라고 하여 유사한 경향을 보였고, 박 등(1997)은 5°C와 17°C 보존시 18시간 까지 보존이 가능하다고 하였으며 68% 수준이었다고 보고하였다. Rota 등(1997)은 냉장 평형후 활력은 82.9%라고 보고하여 본 결과보다는 우수하였고, 정 등(2001a)은 4°C 냉장보존에 의한 12시간 보존시의 활력과 생존율이 각각 69.1%와 71.8%라고 보고하여 본 연구결과가 다소 좋았다. 그리고 동결정액의 용해후 활력과 생존율은 김 등(1999)이 정장제거후 동결정액을 제조하고 활력을 보고한 54.7%, Rota 등(1997)은 본 연구의 동일조건으로 동결용해후 활력이 56.4%, 정 등(2001b)이 37°C 용해시 활력 34.4~68.3%, 생존율 43.7~69.8%였다는 보고와 Yildiz 등(2000)은 38.6~65.7%라고 하여 유사한 결과를 나타냈다. 반면 Harrop(1962)는 45~50%의 생존성을, Dobrinsky 등(1993)는 37°C 용해조건에서 24~34%의 운동성(활력)을, Ivanova-Kicheva 등(1995)이 29%라고 보고한 것 보다는 높은 결과를 나타냈다. 공 등(2001)의 실험에

서는 동결정액의 생존율이 67.5~80.0%라고 하였으며, Strom 등(1997)의 보고에서는 본 실험결과보다 높은 69.7~75.3%를 나타냈는데 동결방법에서의 차이에서 기인된 것으로 사려되었다. Rota 등(1995)은 희석제별 4°C 냉장 단기보존시 개체간에 차이가 있는 것으로 보고한 결과와 유사한 결과로서 동결전 냉장정액은 물론 동결 용해 정액에서도 황구와 백구간에 개체간에 차이가 인정되었다.

한편 앞서 정액채취 및 원정액 성분검사후 동결 처리가 가능한 경우는 백구와 황구간, 개체간에 비교한 결과에서도 백구는 28회 채취후 13회 동결정액이 제조되어 46%였고, 황구는 35회 채취하여 33회가 동결정액 제조가 94% 가능하여 동결정액 제조를 위한 내동성에서도 백구보다는 황구가 우수한 것으로 판단되었다. 전체적으로는 63회 채취하여 46회 동결정액을 제조하여 73%정도가 가능하였고, 제조된 동결정액은 활력과 생존율이 상당히 양호하므로 동결정액 제조기술이 정립되었다고 사려되었다.

3. CASAs 검사에 의한 동결정액의 운동성 조사

동결정액의 운동성을 보다 객관적인 평가를 하기 위하여 CASAs 장비를 이용한 생존율, 전진운동율과 운동속도를 측정하는 방법을 이용하여 동결

Table 4. CASAs data of post-thaw Jindo-dog semen

Color of dog	No. (treat)	MOT ¹⁾ (%)	PROG ²⁾ (%)	VAP ³⁾ ($\mu\text{m}/\text{sec}$)	VCL ⁴⁾ ($\mu\text{m}/\text{sec}$)	VSL ⁵⁾ ($\mu\text{m}/\text{sec}$)	ALH ⁶⁾ (μm)
White	4 (7)	62.6 \pm 6.2 ^b	52.6 \pm 4.8 ^b	68.6 \pm 11.2 ^b	85.1 \pm 13.1 ^{ab}	63.1 \pm 10.3	4.5 \pm 0.7 ^a
	6 (5)	63.0 \pm 4.9 ^b	51.4 \pm 2.9 ^b	76.8 \pm 9.0 ^a	93.2 \pm 8.9 ^{ab}	70.6 \pm 8.5	4.8 \pm 0.6 ^a
	(12)	62.8 \pm 5.5	52.1 \pm 4.0	72.0 \pm 10.8	88.5 \pm 11.8	66.3 \pm 10.0	4.6 \pm 0.7
Fawn (Yellow)	2(20)	70.6 \pm 7.2 ^a	59.2 \pm 6.7 ^a	80.1 \pm 9.6 ^a	95.0 \pm 10.3 ^a	73.3 \pm 9.7	4.6 \pm 0.3 ^a
	5(12)	60.3 \pm 5.5 ^b	50.3 \pm 6.1 ^b	70.4 \pm 9.5 ^{ab}	83.1 \pm 10.4 ^b	66.0 \pm 9.6	3.9 \pm 0.6 ^b
	(32)	66.7 \pm 8.3	55.9 \pm 7.7	76.5 \pm 10.5	90.5 \pm 11.7	70.5 \pm 10.1	4.4 \pm 0.6
Total	(44)	65.6 \pm 7.8	54.8 \pm 7.1	75.3 \pm 10.7	90.0 \pm 11.6	69.4 \pm 10.2	4.4 \pm 0.7

¹⁾ MOT: motility, ²⁾ PROG: progressive motility, ³⁾ VAP: average path velocity, ⁴⁾ VCL: curve linear velocity, ⁵⁾ VSL: straight-line velocity, ⁶⁾ ALH: amplitude of lateral head displacement.

^{ab} Different superscripts in the same column were significantly different(P<0.05).

정액 제조후 44회 조사한 결과는 Table 4와 같다.

현미경검사시 동결 용해후 활력과 생존율은 51.1%와 64.9%였고 CASAs검사에 의한 움직임은 생존정자의 비율(MOT)은 65.6%였으며, 왕성한 전진 운동정자의 비율(PROG, 활력)은 54.8%로 현미경 검사의 생존율, 활력검사 성적과 비교하였을 때 유사한 경향을 보였으나 CASAs검사의 결과가 다소 높게 나타났다. 또한 동결정액의 운동성을 평가한 초당 평균이동속도(VAP)는 75.3 $\mu\text{m}/\text{sec}$, 곡선이동속도(VCL)은 90.0 $\mu\text{m}/\text{sec}$, 직선이동속도(VSL)은 69.4 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 및 측두거리(두부 이동폭: ALH)는 4.4 μm 로서 동결 용해후 운동성이 양호한 결과를 나타냈다. 반면 백구와 황구간의 운동성은 유의적인 차이는 없었으나 황구가 다소 좋은 결과를 보였다. 개체간에는 황구의 2호가 가장 운동성이 좋은 것으로 나타났으며, MOT, PROG, VAP은 백구 4호가 가장 낮았고, VCL, ALH는 황구 5호가 가장 운동성이 떨어지는 것으로 나타났으며, VSL(직선이동속도)은 전 개체간 유의적인 차이가 인정되지 않았다.

IV. 요약

본 연구는 진도개 동결정액 제조기술을 정립하기 위하여 진도개 정액성상과 동결 전후 정액의 활

력과 생존율 및 CASAs를 이용한 운동성 등에 대하여 조사하였고, 백구와 황구간, 개체간의 정액성상과 내동성을 비교, 조사하였다.

이상의 연구결과는 다음과 같다.

1. 총 63회 정액채취 후 신선정액의 평균 정액량 3.8 ml, 농도 145.6 \times 10⁶/ml, 총정자수 396.2 \times 08/ml, 전진운동율 79.7% 및 생존율 89.5% 였다. 황구와 백구간에는 황구가, 개체간에는 황구 2호가 정자농도, 총정자수, 전진운동정자율 및 생존율 등의 정액성상에서 유의적으로 우수하였다(P<0.05).
2. 동결전·후 정자의 전진운동율과 생존율을 46회 조사한 결과 동결전 73.5%와 82.3%를, 동결후 51.1%와 64.9%를 나타내 동결과정에서 전진운동율과 생존율에 영향이 있었으며, 역시 황구와 백구간에는 황구가, 개체간에는 황구 2호가 동결전후 전진운동율과 생존율에서 유의적인 차이가 인정되었다 (P<0.05).
3. 동결·용해정자의 보다 객관적인 평가를 위하여 CASA system을 이용한 총 44회 평가한 결과, 생존율 65.6%, 전진운동율 54.8%, VAP 75.3 $\mu\text{m}/\text{sec}$, VCL 90.0 $\mu\text{m}/\text{sec}$, VSL 69.4 $\mu\text{m}/\text{sec}$ 및 ALH 4.4 μm 로 동결 용해 정액의 운동성은 양호하였고, 황구와 백구간의 운동성에는 유의적인 차이가 없었으나, 개체간에는

역시 황구 2호가 운동성이 우수하여 유의적인 차이가 인정되었다 ($P < 0.05$).

4. 채취된 정액중 백구는 46%(13/28), 황구는 94%(33/35)가 동결정액 제조가 가능해 황구가 내동성이 좋았으며, 전체적으로 73%(46/63) 동결정액 제조가 가능하였다.

결론적으로 진도개의 동결정액을 제조하기 위하여 정액성상 및 동결 전후 운동성을 조사한 결과 동결정액 제조와 생산체계의 구축이 가능하였으며, 황구와 백구간, 개체간의 정액성상과 동결 전후의 운동성에 차이가 인정되므로 정액성상과 내동성을 고려한 종견선발 체계가 필요하다고 사려되었다.

V. 인용문헌

1. Boucher, J. H., Foote, R. H. and Kirk, R. W. 1958. The evaluation of semen quality in the dog and the effects of frequency of ejaculation upon semen quality libido and depletion of sperm reserves. *Cornell Vet.*, 48:67-86.
2. Dobrinsky, I., Lulai, C., Barth, A. D. and Post, K. 1993. Effects of four different extenders and three different freezing rates on post thaw viability of dog semen. *J. Reprod. Fertil.*, 47 (Suppl.):291-296.
3. Gunzel, A. R. 1986. Sperm collection, evaluation, preservation and artificial insemination in the dog. *Tierarztl Prax.*, 14(2):275-282.
4. Harrop, A. E. 1954. A new type of canine artificial vagina. *Br. Vet. J.*, 110:194-196.
5. Harrop, A. E. 1962. Artificial insemination in the dog. In the semen of animals and artificial insemination. J. P. Maule, ed. *Commonwealth Agri. Bureaux, Farnham Royal, England.* p. 186-189.
6. Ivanova-Kicheva, M. G., Subev, M. S., Bobadov, N. D., Dacheva, D. P. and Rouseva, L. A. 1995. Effect of thawing regimens on the morphofunctional state of canine spermatozoa. *Theriogenology*, 44:563-569.
7. Rota, A., Strom, B. and Linde-Forsberg, C. 1995. Effects of seminal plasma and three extenders on canine semen stored at 4°C. *Theriogenology*, 44:885-900.
8. Rota, A., Strom, B., Linde-Forsberg, C. and Rodriguez-Martinez, H. 1997. Effects of equex STM paste on viability of frozen-thawed dog spermatozoa during *in vitro* incubation at 38°C. *Theriogenology*, 47:1093-1101.
9. Rota, A., Iguer-Ouada, M., Verstegen, J. and Linde-Forsberg, C. 1999. Fertility after vaginal or uterine deposition of dog semen frozen in a tris extender with or without equex STM paste. *Theriogenology*, 51:1045-1058.
10. Roychoudhury, P. N. and Dubay, M. L. 1974. *Zootecnica Veterinaria*, N. 5-6:117-121.
11. Seager, S. W. J. and Flecher, W. S. 1975. Collection, storage and insemination of canine semen. *Lab. Anim. Sci.*, 22:177-182.
12. Strom, B., Rota, A. and Linde-Forsberg, C. 1997. *In vitro* characteristics of canine spermatozoa subjected to two methods of cryopreservation. *Theriogenology*, 48:247-256.
13. Yildiz, C., Kaya, A., Akoy, M. and Tekeli, T. 2000. Influence of sugar supplementation of the extender on motility, viability and acrosomal integrity of spermatozoa during freezing. *Theriogenology*, 54:579-585.
14. 공일근, 조성균. 2001. Royal Jelly 첨가가 동결 용해후 개 정자의 활력도 및 생존성에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지*. 16:53-60.
15. 공일근, 조성균, 임용택, 이상인, 위성하. 1999. 개 자궁내 인공수정기에 의한 인공수정 후 산자생산. *한국임상수의학회지*. 16(2):375-380.
16. 김병진, 김용준. 1995. Methanol 이용 동결후 액체질소내 보존된 견 정액의 인공수정에 관한 연구. *한국임상수의학회지*. 12:207-214.
17. 김용섭, 김상근, 유상식, 정진호. 1999. 소형 개 정액의 단기보존과 동결보존후의 생존성에 관한 연구. *한국가축번식학회지*. 23:127-132.

18. 김용준, 박영재, 김병진, 유일정. 1994. 개에서 동결정액을 이용한 인공수정. Methanol을 이용한 간이 동결방법. 대한수의학회지. 34:851-855.
 19. 박병권, 박창식, 이성호, 박영석. 1997. 한국 진도견 정액의 성상 및 보존성에 관한 연구. 한국가축번식학회지. 21:405-409.
 20. 정정란, 유재구, 양성열, 여현진, 박종식, 예은하, 노규진, 최상용. 2001a. 개 정자의 보존방법에 따른 침체 및 생존성의 변화. I. 저온보존에 따른 효과. 한국수정란이식학회지. 16:35-40.
 21. 정정란, 유재구, 양성열, 여현진, 박종식, 예은하, 노규진, 최상용. 2001b. 개 정자의 보존방법에 따른 침체 및 생존성의 변화. II. 동결보존에 따른 효과. 한국수정란이식학회지. 16:133-138.
- (접수일자: 2002. 5. 20. / 채택일자: 2002. 7. 29.)