

돼지 액상 정액의 보관일수에 따른 오염 정도가 체외 수정란 생산 효율에 미치는 영향

김연수 · 이현택 · 김인철¹ · 유재원¹ · 김철우 · 정기화[†]
진주산업대학교 동물소재공학과

Effects of Bacterial Contamination of Extended Boar Semen Preservation Periods on Embryo Production In Vitro

Y. S. Kim, H. T. Lee, I. C. Kim¹, J. W. Ryu¹, C. W. Kim and K. H. Chung[†]

Department of Animal Resources Technology, Jinju National University

SUMMARY

The objective of this study was to investigate the effects of preservation period of porcine liquid semen on bacterial contamination and *in vitro* production of embryo. Extended liquid semen was prepared by three mixture of boar's ejaculates from each farm without antibiotics, and were kept in 17°C semen preservation incubator until use. Sperm motility was significantly ($p<0.05$) decreased as semen preservation time goes by (78.7±2.4% for 1 day vs. 71.1±2.4 and 64.8±2.4% for 3 and 5 days of preservation, respectively). Quantitative of bacteria in semen was significantly ($p<0.05$) higher in 5 days (57.8±105.2×10⁴ CfU) compared to 0 and 3 days (32.1 ±76.8×10⁴ and 26.9±46.6×10⁴ CfU, respectively) of preservation. In terms of development of *in vitro* fertilization of porcine embryos inseminated by preserved semen, the rate of normal fertilization (2PN) was significantly ($p<0.05$) decreased in 5 days (56.0±2.6%) compared to 1 and 3 days (66.0±2.7 and 64.0±2.7%, respectively) of preservation. Cleavage rate was also significantly ($p<0.05$) affected by preservation period (75.0±1.4% for 1 day, 70.0±0.3 and 71.0±0.3% for 3 and 5 days, respectively). The *in vitro* developmental rate of blastocyst stage embryo was significantly ($p<0.05$) affected by semen preservation period (15.0±1.0% for 1 day vs. 11.0±0.9 and 8.0±0.9% for 3 and 5 days, respectively). It is concluded that more than 3 days of liquid semen preservation without antibiotics increased the quantity of bacteria resulted in detrimental effect on sperm motility and decreased both normal insemination rate and the developmental rate of blastocyst stage embryo.

(Key words : boar semen, bacterial contamination, semen quality, sperm motility, embryo development)

서 론

돼지 번식에서 인공 수정이 차지하는 비율은 세

계적으로 매년 증가하고 있으며, 거의 전부를 액상 정액에 의존하고 있다. 액상 정액이 세균에 오염되었을 경우 정액의 품질 저하는 물론 희석 정액의

* 본 논문은 (사)경남양돈산업클러스트사업단의 2006년 경남클러스트 연구 개발비로 수행되었음.

[†] 농촌진흥청 축산연구소 양돈과(Swine Science Division, NLRI, RDA)

^{*} Correspondence : E-mail : kchung@jinju.ac.kr

보존성을 저하시키고 감염된 병원성 세균은 질병 전파의 원인이 된다. 현재까지의 보고에 의하면 돼지정액에 오염될 수 있는 세균의 종류는 약 13종 이상으로 장내 세균이 주축을 이루고 있고, 장내 세균은 정자 기능을 저해하는 것으로 보고되었다 (Sone, 1982). 보고된 세균의 종류를 보면, Tamuli 등(1984)은 *E. coli*를 비롯한 9종이라고 하였고, Danowski(1989)는 *Staphylococcus* spp.를 비롯한 7종, Dagnall(1986)은 *Citrobacter* spp.를 비롯한 12종, Sone 등(1982)은 *Pseudomonas* spp.를 비롯한 12종이라고 하였다.

돼지 액상 정액에 순수 배양된 여러 종류의 세균을 넣었을 때 정자 서로 간에 agglutination이 일어나고 전체적인 운동성이 감소되었다(Althouse 등, 1999)고 하며, 사람의 정액에서 항생제에 오랫동안 노출된 정자는 정자의 운동성과 형태에 영향을 받는다(Dahlberg, 1990)고 하였다.

오염된 정액은 정액 성상의 저하 및 수태율 저하로 나타나 전체적으로 번식에 나쁜 영향을 미친다고 알려져 있다. 돼지 정액의 오염은 생식기 내부보다 외부의 요인이 주된 오염원으로 보고되었다 (Althouse 등, 2000). 세균에 오염된 정액은 정액내의 세균 농도가 많고 적음에 따라 유해성의 정도가 차이가 나며, 정액 채취 후 보관 기간이나 주변의 청결도 및 희석액에 따라서도 많은 차이가 있다고 한다. 정액의 오염 발생원을 그대로 둔 채로 번식을 할 경우, 축군 전체의 번식 효율이 저하된다고 하였다(Althouse 등 1998, 2000).

본 시험에서는 액상 정액의 보관일수에 따른 세균수의 변화를 조사하고 이에 따른 체외 수정란 생산 효율에 미치는 영향을 구명하여 세균수가 번식 효율에 미치는 영향을 간접적으로 구명코자 하였다.

재료 및 방법

1. 정액의 채취 및 운동성 조사

농장 4곳에서 사육중인 종모돈 각 3두씩으로부터 정액을 채취한 후 항생제가 첨가되지 않은 Androhep 희석액으로 액상 정액을 제조하였다. 제조된 액상 정액은 17°C 정액 보관고를 이용하여 실험실로 운반하였다. CASA(computer-assisted sperm ana-

lysis)에 의한 정액의 운동성은, 정액 1 ml를 취하여 30분간 37°C의 항온 수조에서 배양한 다음 37°C로 예열된 가온판 위에 정액을 10 μ l 떨어뜨린 후 CCD카메라(Veltek, Korea)가 부착된 광학현미경(Olympus)에 연결된 SAIS system을 이용하여 정자의 운동성(MOT, %)을 분석하였다.

2. 총 세균 수 측정

0.9% 생리식염수로 시료를 10³~10⁵로 희석한 다음 희석된 시료를 plate counting agar에 접종하여 37°C 호기성 조건으로 18~24시간 배양 후 총 세균 수를 조사하였다.

3. 난소 및 난포란의 채취

도축된 암퇘지로부터 난소를 수집하여 항생제가 첨가된 0.9% 생리식염수에 담아 2~4시간 이내에 실험실로 운반하였다. 운반된 난소는 생리식염수로 2~3회 세척한 후 18 gauge 주사침이 부착된 10 ml 주사기를 이용하여 직경 2~8 mm의 포상 난포로부터 회수하였다. 회수된 난포란은 TL-Hepes-PVA에 washing하여 60×15 mm의 tissue culture dish에 옮긴 후 실체 현미경(20~40×)하에서 난세포질이 균일하고 난구 세포가 잘 발달된 것으로 선별하여 체외 성숙에 이용하였다.

4. 난포란의 체외 성숙

선별된 난포란은 NCSU-23을 기본 배양액으로 하여 10% 돼지 난포액, cysteine(0.1 mg/ml), EGF (10 ng/ml), FSH(0.5 μ g/ml), estradiol-17 β (0.1 μ g /ml)를 첨가하여 만든 체외 성숙용 배지에 세척한 후 700 μ l씩의 배양액이 담긴 Nunc 4-well dish에 각 well마다 약 100~150개의 난자를 넣었다. 39°C 온도와 5% CO₂에서 20~22시간 배양하였고 다음 20~22시간은 호르몬이 첨가되지 않은 배지에서 총 40~44시간동안 배양하였다.

5. 체외 수정

체외 수정용 배양액은 modified Tris-Buffered Medium(mTBM)을 기본 배양액으로 하여 1 mM caffeine과 0.4% BSA가 함유된 mTBM 용액을 사용하였다. 본 실험에 공시된 정액은 정확한 오염도

파악을 위해 항생제가 첨가되지 않은 정액을 사용하였다. 정액은 4곳의 농장으로부터 각각 3개체 이상이 혼합된 정액을 사용하였고 정액은 만들어진지 1일, 3일, 5일된 정액으로 나누어 실험에 공시하였다. 정자의 준비는 액상 정액 보관고에서 꺼낸 정액을 부드럽게 섞어준 다음 15 ml tube에 담아 830 ×g에서 5분간 원심분리 하였다. Pellet 부분의 정자를 제외한 상층은 버리고 체외 수정용 용액을 넣어 회석한 후 배양시켰다. 난자는 44시간동안 성숙시킨 후 vortexing하여 난구 세포를 완전히 제거하고 체외 수정용 용액에 3회 세척한 후 50 μl의 체외 수정용 배양액 소적에 난자를 넣어 보관하였다. 체외 수정은 정자의 최종 농도가 0.5~1×10⁶/ml가 되도록 조정한 후 6시간동안 수정시켰다. 수정 완료 후 난포란 중 일부는 수정율 조사를 위하여 염색을 실시하였고, 나머지는 모두 체외 배양하였다.

6. 체외 배양

체외 배양은 NCSU-23에 0.4% BSA를 첨가한 배양액을 사용하였다. 각 처리구마다 배양액 50 μl에 20개씩의 체외 수정란을 넣어 39°C 온도와 5% CO₂에서 배양하였다.

7. 수정란의 관찰

체외 수정 후 12시간 후에 성숙 난포란의 정자 침입율, 다정자 침투율, 응성전핵 형성율을 관찰하기 위하여 acetic-orcein 염색을 실시하였다. 난구 세포를 깨끗이 제거한 후 72시간 정도 고정액(glacial acetic acid : ethanol=1:3)에 넣어두었다. Cover glass의 네 모서리를 wax로 찍은 다음 난자를 네 모서리의 중간에 놓고 살며시 눌러주었다. 1% acetic-orcein을 cover glass 가장자리에 한 두 방울 떨어뜨리고 반대편에 여과지를 대어서 모세관 현상에 의해서 염색액이 이동하도록 하면서 약 5분 동안 염색하였다. 염색 후 D.W 및 45% acetic acid로 세척하여 위상차 현미경(200~400×)에서 관찰하였다.

8. 통계 처리

SAS@8.2 Package/PC를 이용하여 분석하였으며(SAS Institute, 2001), SAS/GLM Procedure를 이용하였으며, 최소 제곱 평균치간의 유의 수준 5%

로 각각 검정하였다.

결과

1. 정액 보관일수에 따른 정자의 운동성 변화

실험실에 운반된 회석 정액은 각 농장별 3개체의 혼합 정액을 제조하였다. 17°C 정액 보관고에 보관하면서 채취일로부터 1일, 3일 및 5일 이후의 정자 운동성을 조사하였다. Table 1에서 나타난 바

Table 1. Sperm motility alteration with the passage of day of semen preservation

Farm	Repeat	Motility (%)		
		1 day	3 day	5 day
A	1	66.6±4.5	67.4±4.7	62.0± 7.2
	2	89.6±4.5	77.3±4.7	72.8± 7.2
	3	62.6±4.5 ^a	55.8±4.7 ^a	38.8± 7.2 ^b
	4	77.2±4.5	79.1±4.7	75.6± 7.2
Mean±SD		74.0±4.0	69.9±4.3	62.3± 5.7
B	1	85.2±5.8	81.5±8.6	83.3± 7.4
	2	61.6±5.8	62.6±8.6	52.6± 7.4
	3	83.4±5.8	81.3±8.6	80.8± 7.4
	Mean±SD	76.7±4.6	75.1±4.9	72.2± 6.6
C	1	94.8±3.5	89.9±5.2	89.6± 6.5
	2	94.5±3.5 ^a	74.3±5.2 ^b	67.8± 6.5 ^b
	3	72.0±3.5	57.9±5.2	55.0± 6.5
	4	54.2±3.5 ^a	42.9±5.2 ^b	33.4± 6.5 ^b
Mean±SD		78.9±4.0 ^a	66.2±4.3 ^{ab}	61.5± 5.7 ^b
D	1	89.7±3.7 ^a	68.8±5.9 ^b	51.8±10.2 ^c
	2	87.4±3.7	76.3±5.9	74.0±10.2
	3	82.5±3.7	76.0±5.9	71.4±10.2
	4	79.0±3.7	75.8±5.9	63.0±10.2
Mean±SD		84.6±4.0 ^a	74.2±4.3 ^b	65.1± 5.7 ^b
Total Mean±SD		78.7±2.4 ^a	71.1±2.4 ^b	64.8± 2.4 ^b

^{a~c} Values within rows with different superscripts are significantly different (*p*<0.05).

와 같이 A 농장과 B 농장에서는 유의적인 차이가 없었고, C 농장에서는 1일($78.9\pm4.0\%$)에 비하여 5 일($61.5\pm5.7\%$)이 유의적으로($p<0.05$) 낮은 운동성을 나타내었고, D 농장에서는 3일부터 유의적으로($p<0.05$) 낮은 운동성을 나타내었다. 그리고 4개의 농장을 종합하여 보았을 때 1일($78.7\pm2.4\%$)에 비하여 3일($71.1\pm2.4\%$)과 5일($64.8\pm2.4\%$)째에는 유의적으로($p<0.05$) 운동성이 낮아졌다.

2. 정액 보관 일수에 따른 세균 수 변화

채취한 정액 운반 당일과 보관 3, 5일째 전체의 세균수를 조사한 결과는 Table 2에 나타난 바와 같다. 운반 당일(0일)과 보관 3일의 평균 세균수는 $32.1\pm76.8\times10^4$ 과 $26.9\pm46.6\times10^4$ Cfу이었던 반면 보관 5 일에는 $57.8\pm105.2\times10^4$ Cfу로 유의적으로($p<0.05$) 세균 증가를 나타내었다.

3. 정액 보관 일수가 체외 수정란 발달에 미치는 영향

채취일로부터 1일, 3일 및 5일 보관한 액상 정액을 이용하여 체외 수정을 시킨 후 수정란의 발달율을 조사하였다. Table 3에서 나타난 바와 같이 수정란의 발달율은 정액의 보관 일수가 증가할수록 유의적($p<0.05$)으로 낮게 나타났다. 상실배로의 발달율에 있어서 1일차 정액은 $32.0\pm1.4\%$ 의 발달율을 보였으나 3일, 5일로 갈수록 $28.0\pm1.3\%$, $24.0\pm1.3\%$ 로 유의적으로($p<0.05$) 낮게 나타났고, 배반포로의 발달율에 있어서도 1일에 $15.0\pm1.0\%$ 에 비

하여 3일과 5일은 $11.0\pm0.9\%$ 와 $8.0\pm0.9\%$ 로 유의적으로($p<0.05$) 낮은 발달율을 나타내었다.

4. 정액 보관 일수가 체외 수정 시 정상 수정에 미치는 영향

항생제가 첨가되지 않은 혼합 정액을 1일, 3일 및 5일 동안 보관 후 체외 수정을 실시하였다. 수정 후 12시간에 orcein staining을 실시하여 형성된 전핵의 숫자를 조사한 결과는 Table 4에 나타난 바와 같다. 2개의 전핵이 형성된 수정란(2PN)을 정상 수정란, 3개 이상의 전핵이 형성된 수정란($\geq 3PN$)을 다정자 침입 수정란으로 판정하였으며, 1 개의 전핵(1PN)은 미수정란으로 판정하였다. 정상 수정율에 있어서 1일($66.0\pm2.7\%$)과 3일($64.0\pm2.7\%$)이 5일($56.0\pm2.6\%$)에 비하여 유의적으로($p<0.05$)

Table 3. Effect of the semen preservation day on development of *in vitro* fertilized porcine embryos

Day preser- vation	No. of preser- vatory oocytes	% of developed to		
		2~4 cells	Morula	Blastocyst
1	1,000	75.0 ± 1.4^a	32.0 ± 1.4^a	15.0 ± 1.0^a
3	1,120	70.0 ± 1.3^b	28.0 ± 1.3^b	11.0 ± 0.9^b
5	1,160	71.0 ± 1.3^b	24.0 ± 1.3^c	8.0 ± 0.9^c

^{a~c} Values within columns with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

Table 2. The quantitative change of bacteria in semen by the passage of days preservation

Farm	No. of samples	Preservation ($\times10^4$ Cfу*)		
		0 day	3 day	5 day
A	9	38.0 ± 117.2	12.2 ± 18.3	33.9 ± 26.4
B	12	27.9 ± 36.1	36.9 ± 62.1	53.7 ± 90.1
C	12	26.3 ± 70.2	21.4 ± 30.0	43.2 ± 95.0
D	12	37.7 ± 75.3	28.7 ± 47.1	100.7 ± 156.0
Mean±SD		32.1 ± 76.8^a	26.9 ± 46.6^a	57.8 ± 105.2^b

* Cfу : colony forming unit.

^{a,b} Values of mean within rows with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

Table 4. Effect of the semen preservation days on abnormal fertilization of *in vitro* fertilized porcine embryos

Day preser- vation	No. of oocytes	Formation of %		
		1PN	2PN	≥3PN
1	312	19.0±2.3	66.0±2.7 ^a	15.0±2.2
3	332	19.0±2.2	64.0±2.7 ^a	17.0±2.1
5	339	23.0±2.2	56.0±2.6 ^b	21.0±2.1

^{a,b} Values within columns with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

높은 비율을 나타내었다. 다정자 침입에 있어서는 각 처리구 간에 유의차는 나타나지 않았다.

고 칠

돼지의 번식에 있어서 정자의 수정 능력은 생산성에 영향을 미치는 중요한 요인 중에 하나이다. 현미경적 검사에 의한 정자 농도, 활력 및 기형율 등의 평가는 정자의 수정 능력을 정확히 반영하지 못한다고 알려져 있다(Hammitt 등, 1989). 유(2005)도 인공 수정 시험에서 정자의 운동성은 분만율과는 차이가 없다고 하였다. 정액 보존일수가 정자의 운동성에 미치는 영향에서 채취 당일과 3일 및 6일 보존할 경우, 운동성은 81.7%에서 73.0% 및 58.9%로 유의적으로($p<0.05$) 감소하였다고 하였는데 본 시험과 유사한 결과를 나타내었다.

정액 내 세균수는 평균 $10^4\sim10^5$ /ml Cfу라고 하였는데(Sone, 1990; Danowski, 1989), 본 시험에서도 평균 $26.9\pm46.6\sim57.8\pm105.2\times10^4$ Cfу로 유사한 경과를 나타내었으나 채취일과 채취 농장에 따라 많은 차이를 나타내었다.

정자의 수정 능력 평가 방법 중에 정자의 난자 침투 능력 검사(IPV test, Gadea 등, 1998)가 이용되어지고 있는데, 수정 능력 예측도가 높은 검사법으로 알려지고 있다. 유(2005)는 보존일수가 경과함에 따라 운동성이 감소함은 물론 IPV test에서 난자당 침투 개수도 11.3, 6.5 및 3.8개로 유의적으로($p<0.05$) 감소하였다고 하였다. 또 수정 능력에

따라 종모돈의 개체를 비교하였을 경우 수태율이 낮은 개체는 유의적($p<0.05$)으로 IVP 비율이 낮다고 하였다.

본 시험에서는 IVP 대신 체외 수정을 실시하였는데, 항생제가 첨가되지 않은 혼합 정액을 1일, 3일 및 5일간 보존한 후 체외 수정을 실시하여 배발달율을 조사하였다. 그 결과 난활율, 상실배 및 배반포로의 발달율 등, 모든 처리구에서 정액의 보관일수가 증가할수록 유의적으로($p<0.05$) 낮은 성적을 보였다. 정액의 보관일수가 증가함에 따라 운동성은 감소하고 세균수는 증가하였는데, 세균 증가가 정자의 기능적 및 구조적 이상을 가져왔는지는 확인하지 않았으나, 정자의 기능적, 구조적 이상은 체외 수정 시 수정율뿐만 아니라 배발달율에도 나쁜 영향을 미쳤다는 보고(Larson 등, 2000; Zhang 등, 1997)와 유사한 결과였다. 병리학적으로 정액 속에 박테리아가 존재할 경우, 이것은 정자 세포에 직접적으로 작용하여 정자의 운동성 저하의 원인이 되고(Monga and Roberts, 1994) 첨체 반응을 일으키는 능력을 감소시키며 세포 형태의 변형을 가져오는 원인이 된다고 알려져 있다(Kohm 등, 1998). 수정 상태에 있어서도 정액 보관일수가 증가할수록 정상적인 수정(2PN)의 비율이 적게 나타나 본 시험 결과를 뒷받침하는 것으로 사료된다.

본 연구에서 항생제의 첨가 없이 정액의 보관일수가 증가하면 3일째부터 정자의 운동성이 저하하고, 세균의 숫자는 증가한다. 동일한 정액을 이용하여 체외 수정을 실시할 경우 정상 수정율이 낮아지고 체외 수정란의 발달효율도 낮아진다는 결과를 얻었다.

적 요

본 연구는 항생제가 첨가되지 않은 돼지 혼합액상 정액을 17°C 정액 보관고에 보관하면서 보관일수의 증가가 따라 정자의 운동성, 정액 내 세균의 증식 여부 및 체외 수정란 생산 효율에 미치는 영향을 조사하고자 하였다. 정자의 운동성은 1일 ($78.7\pm2.4\%$)에 비하여 3일($71.1\pm2.4\%$)과 5일째($64.8\pm2.4\%$)는 유의적으로($p<0.05$) 낮은 운동성을 나타내었다. 보관일수에 따른 정액 내 세균수의 변화는

보관 5일이 $57.8 \pm 105.2 \times 10^4$ Cfу로 0일과 3일의 $32.1 \pm 76.8 \times 10^4$ Cfу와 $26.9 \pm 46.6 \times 10^4$ Cfу에 비하여 유의적인($p < 0.05$) 증가를 나타내었다. 보관된 정액을 이용하여 체외 수정한 결과, 정상적인 수정(2PN)은 1일과 3일째의 $66.0 \pm 2.7\%$ 와 $64.0 \pm 2.7\%$ 에 비하여 5일째에는 $56.0 \pm 2.6\%$ 로 유의적인($p < 0.05$) 차이를 나타내었다. 체외 수정란의 발달율에서 난할율은 1일째의 $75.0 \pm 1.4\%$ 에 비하여 3일과 5일째는 $70.0 \pm 0.3\%$ 와 $71.0 \pm 0.3\%$ 로 유의적으로($p < 0.05$) 낮게 나타났으며, 상실배로의 발달율에 있어서 1일째는 $32.0 \pm 1.4\%$ 의 발달율을 보였으나 3일과 5일째에는 $28.0 \pm 1.3\%$ 와 $24.0 \pm 1.3\%$ 로 유의적인($p < 0.05$) 감소치를 나타내었고, 배반포로의 발달율에 있어서도 1일에 $15.0 \pm 1.0\%$ 에 비하여 3일과 5일은 $11.0 \pm 0.9\%$ 와 $8.0 \pm 0.9\%$ 로 유의적으로($p < 0.05$) 낮은 발달율을 나타내었다. 이상의 결과를 종합할 때 항생제가 첨가되지 않은 돼지 혼합 정액은 보관일수 3일째부터 정자의 운동성이 감소하고 세균수는 증가하였다. 또한 보존된 정액을 이용하여 체외 수정을 실시할 경우, 보관일수가 증가할수록 정상 수정율과 체외 발달율이 감소함으로 항생제를 첨가하지 않는 경우 3일 이상 정액을 보관하여 사용하지 않는 것이 바람직하다고 사료된다.

참고문헌

- Althouse GC, Kuster CE and Clark SG. 1998. Contaminant growth of spermicidal bacteria in extended porcine semen. In: Proceedings of the 15th International Pig Veterinary Society Congress, 2:37 (abstr.).
- Althouse GC. 1999. Origines y efectos de la contaminación microbiológica en el semen porcino conservado. In: Proceedings of the VI symposium on Int de Reprod E I.A. Porcina, pp. 7-13.
- Althouse GC, Kuster CE, Clark SG and Weisiger RM. 2000. Field investigations of bacterial contaminants and their effects on extended porcine semen. Theriogenology, 53:1167-1176.
- Dagnall GJR. 1986. An investigation of the bacterial flora of the preputial diverticulum and of the semen of boars. M.Ph. thesis, Royal Veterinary College, Hertfordshire.
- Dahlberg B. 1990. Asthenozoospermia/teratozoospermia and infertility. Arch. Androl., 25:85-87.
- Danowski KM. 1989. Qualitative and quantitative investigation of the germ content in boar semen and the antibiotic sensitivity of the prevailing germ spectrum. Dr Med Vet Inaugural Dissertation, Tierärztliche Hochschule, Hannover.
- Gadea J, Matas C and Lucas X. 1998. Prediction of porcine semen fertility by homologous *in vitro* penetration (hIVP) assay. Anim. Reprod. Sci., 54:95-108.
- Hammitt DG, Martin PA and Callanan T. 1989. Correlations between heterospermic fertility and assays of porcine seminal quality before and after cryopreservation. Theriogenology, 32:385-399.
- Kohn FM, Erdmann I, Oeda T, Mulla KF, Schiefer HG and Schill WB. 1998. Influence of urogenital infections on sperm functions. Andrologia, 30: 73-80.
- Larson KL, DeJonge CJ, Barnes AM, Jost LK and Evenson DP. 2000. Sperm chromatin structure assay parameters as predictors of failed pregnancy following assisted reproductive techniques. Hum. Reprod., 15:1717-1722.
- Monga M and Roberts JA. 1994. Spermagglutination by bacteria: receptor-specific interactions. J. Androl., 15:151-156.
- Sone M 1982. Effects of various antibiotics on the control of bacteria in boar semen. Vet. Rec., 111 :11-14.
- Sone M. 1990. Investigation on the control of bacteria in boar semen. Jpn. J. Anim. Reprod., 36: 23-29.
- Tamuli MK, Sharma DK and Rajkonwar CK. 1984. Studies on the microbial flora of boar semen. Indian Vet. J., 61:858-861.
- Zhang BR, Larsson B, Lundeheim N and Rodriguez-Martinez H. 1997. Relationship between embryo development *in vitro* and 56-day non-

return rates of cows inseminated with frozen-thawed semen from dairy bulls. Theriogenology, 48:221-231.

유재원. 2005. 종모돈에 있어서 수태율과 정자 기

능 및 염색질 구조 분석법 간의 상관관계에 관한 연구. 중앙대학교 대학원 박사학위 논문.

(접수일: 2006. 12. 19 / 채택일: 2006. 12. 24)