

# 0.25mL 스트로에 동결한 한우 정액의 용해 온도와 용해 후 보관 온도에 따른 정자의 활력과 생존율

강성식, 김의형, 조상래  
농촌진흥청 국립축산과학원 한우연구소  
e-mail:sskang84@korea.kr  
corresponding:chosr@korea.kr

## The motility and viability of sperm in 0.25mL straw after frozen-thawing according to thawing temperature and preservation time

Sung-Sik Kang, Ui-Hyung Kim, Sang-Rae Cho  
Hanwoo Research Institute, National Institute of Animal Science,  
Rural Development Administration, Korea

### 요약

본 논문에서는 한우 정액을 0.25mL 스트로에 주입하여 동결하고, 용해 온도와 용해 후 15분간 보존 온도에 따른 동결 용해 정자의 활력과 생존율을 분석 하였다. 스트로내에 주입하여 액체질소에 동결 보존한 정액을 용해시, 용해 온도와 용해 후 보존 온도에 따라서 정자의 활력과 생존성이 변화한다. 따라서, 적절하지 않은 온도에서 용해 및 보관한 정액을 인공수정에 사용할 경우 수태율에 영향을 미칠수 있는 가능성이 있다. 본 연구에서는 동결 정액을 4, 23, 37°C의 물에 약 40초간 용해 직후 또는 용해 후 15분간 4, 23, 37°C에 보관 후 정자의 활력과 생존율을 측정하였다. 그 결과, 용해 직후에는 4°C에 용해한 정액내 정자의 활력이 유의적으로 낮게 나타났고, 생존율에서는 차이가 없었다. 그러나, 4°C에서 용해하고 4, 23, 37°C에 보관한 정자의 경우는 다른 그룹에 비해 유의적으로 낮은 활력과 생존율을 보였다. 0.25mL에 동결 보존한 한우 정액을 용해시, 23°C 또는 37°C의 물에 용해하고 인공 수정전에 보관 또는 운반시에는 23~37°C의 온도에 보존하는 것이 정자의 활력과 생존율이 저하 되지 않는 조건임을 확인하였다. 따라서, 본 연구 결과는 한우 동결정액을 용해하여 인공수정을 실시하는 한우 농가에서 동결 용해 온도 및 용해 후 정액의 보존 방법에 중요한 기준이 될 것으로 사료된다.

### 1. 서론

스트로내에 동결 보존한 정액을 용해시, 용해 온도와 용해후 보존 온도에 따라서 정자의 활력과 생존성이 변화한다. 따라서, 적절하지 않은 온도에서 용해 및 보관한 정액을 사용하여 인공수정에 사용할 경우 수태율에 영향을 미칠 수 있는 가능성이 있다. 국내에서 생산되는 한우 동결 정액은 대부분 0.5mL 스트로를 사용하여 보급되고 있다. 그러나, 국외에서는 0.25mL 스트로를 이용하는 경우가 증가하고 있고, 동결 정액을 0.25mL에 주입하여 보관시 0.5mL 스트로에 비해 보관할 수 있는 동결 정액 스트로 수는 2 배 이상으로 증가한다. 또한, 0.25mL 스트로가 0.5mL 스트로에 비해 냉각 속도와 용해 속도가 빠르기 때문에 동결 용해 후 정자의 활력과 생존성이 향상되는 것으로 알려져 있다[1]. 따라서, 0.25mL 스트로를 이

용하여 한우 정액을 동결 용해시, 용해 온도 및 보관 온도가 정자의 활력과 생존율에 미치는 영향을 확인하기 위해 본 연구를 실시 하였다.

### 2. 재료 및 실험 방법

#### 2.1 한우 정액 채취 및 동결 보존

본 연구에 이용한 한우 정액은 국립축산과학원 한우 연구소에서 사육중인 18개월령의 씨수소 1 두에서 인공질법을 이용하여 채취 하였다. 채취한 정액은 소 정액 동결 보존액 (Optixcell, IMV, France) 을 이용하여 1천만 정자 / mL의 농도가 되도록 희석 후 4°C에서 4 시간 이상 냉장 보존 하였다. 냉장 보존한 정액 희석액을 0.25mL 스트로에 주입 후, 액체 질소 표면 3cm 위에 약 14분간 정치시켜 예비 동결 후 액체질소에 침지 시킨 후 액체질소 탱크 내에 보관하였

다.

### 3. 결과

#### 2.1.1 동결 정액 용해 방법

액체 질소내에 보관한 동결정액 스트로를 4, 23, 37°C의 물에 40초간 용해하여 실험에 공시하였다. 4, 23, 37°C의 물에 용해 직후 또는 용해 후 4, 23, 37°C에 15분간 보관 후 스트로내의 정자의 활력과 생존율을 측정 하였다. 각 그룹별로 5회 반복 실험을 수행하였다.

#### 2.1.1 정자 활력 측정

동결 용해 정액은 1.5mL 튜브에 옮겨 잘 섞어준 후 3 µL의 정액을 정자 활력 측정용 슬라이드 (4chamber (Art. No. SC 20-01-08-B, Leja, Nieuw-Venep, Netherlands)에 주입 후 정자 활력 측정 장치 (Sperm Class Analysis, MicroOptic, Spain)를 사용하여 정자 활력을 측정하였다.

#### 2.1.2 정자 생존율 측정

정자 생존율은 총 정자 세포수와 생존 정자 세포수를 측정할 수 있는 장비 (Nucleocounter, SP-100, Chemometec, Denmark)를 사용하여 측정하였다. 전체 정자수를 측정하고, 사멸한 정자의 수를 측정하였다. 생존율 계산식은 다음과 같다. 생존율 (%)=[(총 정자수-사멸 정자수)/(총 정자수)]×100.

#### 2.1.3 통계분석

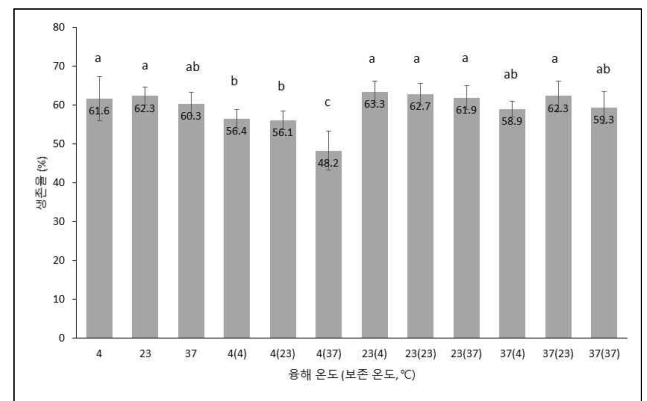
정자의 활력과 생존율 분석은 일원 분산 (Ver 9.2, SAS Institute, Cary, NC, USA)을 이용하였다. 수치는 평균±표준편차로 제시하였다.

[표 1] 0.25mL 스트로에 동결 보존한 한우 정액의 용해 온도와 용해 후 보존 온도에 따른 정자의 활력

용해온도 (°C)	보존온도 (°C)	활력 (%)
4	-	87.3±1.5 <sup>cde</sup>
23	-	94±2.2 <sup>a</sup>
37	-	91.8±0.9 <sup>ab</sup>
4	4	84.6±7.6 <sup>e</sup>
4	23	83.2±3.6 <sup>e</sup>
4	37	77.3±3.7 <sup>f</sup>
23	4	90.8±1.6 <sup>abc</sup>
23	23	90.5±1.9 <sup>abc</sup>
23	37	89.3±3.2 <sup>bcd</sup>
37	4	91.3±11.0 <sup>abc</sup>
37	23	91.3±1.0 <sup>abc</sup>
37	37	85.2±2.2 <sup>de</sup>

평균±표준편차, p (<0.0001).

4°C에 용해 또는 용해 후 15분간 4°C에 보관한 그룹의 정자 활력은 23°C, 37°C에 용해하고 23°C 또는 37°C에 15분간 보관한 그룹에 비해 유의적으로 낮은 결과를 보였다.



[그림 1] 0.25mL 스트로에 동결 보존한 한우 정액의 용해 온도와 용해 후 보존 온도에 따른 정자의 생존율

용해 직후의 생존율은 용해 온도에 따른 차이는 없었다. 4°C에 용해 후 4°C에 15분간 보관한 그룹의 생존율은 다른 그룹에 비해 유의적으로 낮은 결과를 나타냈다.

#### 4. 결론

0.25mL 스트로에 동결 보존한 소 정액을 4℃에 용해 또는 4℃에 보관시 정자의 활력과 생존율이 저하된다. 따라서, 0.25mL에 동결 보존한 정자의 활력과 생존율을 저하 시키지 않기 위해서는 23℃ 또는 37℃의 물에 용해하고, 인공수정 전까지 보관시, 실온(23℃) 또는 온수(37℃)에 보관하는 방법을 추천한다.

#### 참고문헌

- [1] Sung-Sik Kang, Ui-Hyung Kim, Myung-Suk Lee, Seok-Dong Lee, Sang-Rae Cho, 2020. 35(4) : 307-314, J. Anim. Repord. Bitech.