

0.5mL 스트로에 한우 정액 보존시 정자 농도에 따른 동결 용해 후 정자의 활력과 생존율 비교

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

The sperm motility and viability on different sperm concentrations in 0.5mL straw after frozen-thawing in Hanwoo

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

요약

본 연구에서는 한우 정액을 채취하여 각 농도별 (1천만, 1천5백만, 1천8백만, 2천만, 3천만 정자)로 0.5mL 스트로에 주입하여 동결 용해 후 정자의 활력과 생존율을 분석 하였다. 동결 용해 후 정자의 활력 중 Total motile (%) 는 3천만 정자 그룹에서 가장 높았고, Fast progressive (%)는 1천만, 1천5백만 정자 그룹이 2천만, 3천만 정자 그룹에 비해 유의적으로 높은 결과를 보였다. VCL($\mu\text{m/s}$), VSL($\mu\text{m/s}$), VAP($\mu\text{m/s}$), BCF(Hz), Hyperactive (%)는 1천만 정자 그룹에서 가장 높게 나타났다. 생존율은 정자 농도에 따른 유의적인 차이는 없었다 (1천만, 1천5백만, 1천8백만, 2천만, 3천만 정자/0.5mL vs. 63.2 ± 7.4 , 64.6 ± 5.2 , 63.2 ± 6.2 , 60.7 ± 8.2 , $62.8 \pm 5.9\%$). 본 연구에서 한우 정액은 0.5mL에 각 농도별로 보존시 정자의 생존율 차이는 없었지만, 실제 한우 암소에 인공수정 후의 수태율은 추후 연구가 필요할 것으로 사료된다.

1. 서론

소 인공수정을 위해서는 유전적으로 우수한 수소에서 정액을 채취하여 액상 또는 동결 정액을 생산하여 이용하고 있다 [1]. 액상 정액은 번식 주기가 짧은 계절번식을 이용하는 일부 국가에서 이용하고 있고, 대부분의 국가는 동결 정액을 이용하고 있다 [2]. 동결 정액은 0.25 또는 0.5mL 스트로 내에 약 1천만~2천만개의 정자를 주입하여 생산하고, 정자 농도에 따라서 동결 용해 후 생존율과 인공 수정 후 수태율의 차이가 발생하는 것으로 보고되고 있다 [3]. 그러나, 한우 정액 동결시 스트로 내에 주입하는 정자의 농도에 따라서 용해하는 정자의 활력과 생존율을 검증하는 결과는 없었다. 따라서 본 연구에서는 1천만, 1천5백만, 1천8백만, 2천만, 3천만개의 정자를 0.5mL에 주입하여 동결 용해 후 정자의 활력과 생존율을 분석하였다.

2. 재료 및 실험 방법

2.1 한우 정액 채취 및 동결 보존

본 연구에 이용한 한우 정액은 국립축산과학원 한우연구소에서 사육중인 19개월령의 씨수소 5두에서 인공질법을 이용하여 1회씩 채취 하였다. 채취

정액은 동결 보존액 (Opticell, IMV, Franc) 을 이용하여, 1천만, 1천5백만, 1천8백만, 2천만, 3천만 정자/0.5mL가 되도록 정자 농도를 조정 후, 4°C에서 4시간 이상 냉장 보존 하였다. 정액 희석액을 0.5mL 스트로에 주입 후, 액체 질소 표면을 3cm 위에 약 14 분 동안 정치시켜 예비 동결 후, 액체 질소에 침지시켜 액체질소 탱크 내에 보관하였다.

2.1.1 동결 정액 용해 방법

액체 질소내에 보관한 동결정액 0.5mL스트로를 37°C의 온수에 40초간 용해하여 실험에 공시하였다. 1천만, 1천5백만, 1천8백만, 2천만, 3천만 정자 그룹별로 3 개의 스트로를 용해하여 사용하였다.

2.1.1 정자 활력 측정

정액 용해 후 3 μL 의 정액을 정자 활력 측정용 슬라이드 (4 chamber (Art. No. SC 20-01-08-B, Leja, Nieuw-Vennep, Netherlands)에 주입 후 정자 활력 측정 장치 (Sperm Class Analysis, MicroOptic, Spain)를 사용하여 정자 활력을 측정

하였다. 활력 측정 기준: curvilinear velocity (VCL, $\mu\text{m/s}$), straight line velocity (VSL, $\mu\text{m/s}$), average path velocity (VAP, $\mu\text{m/s}$), linearity (LIN = VSL/VCL , %), straightness (STR = VSL/VAP , %), amplitude of lateral head (ALH, $\mu\text{m/s}$), and flagellar beat cross frequency (BCF, Hz), Hyperactive (%)

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 측정 하였다. 생존율 계산식은 다음과 같다. $\text{생존율 (\%)} = [(\text{총 정자수} - \text{사멸 정자수}) / (\text{총 정자수})] \times 100$.

2.1.3 통계분석

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

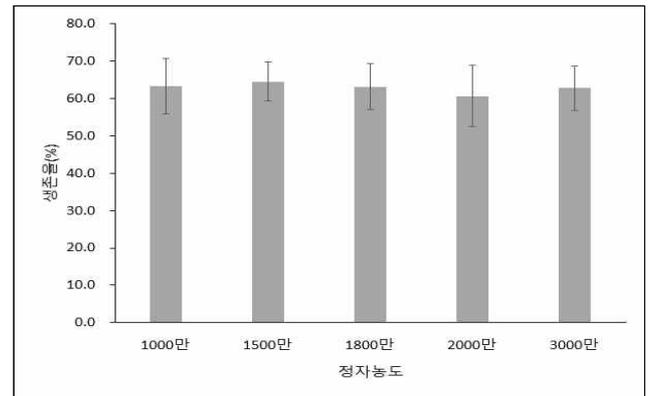
3. 결과

[표 1] 0.5mL에 1천만, 1천5백만, 1천8백만, 2천만, 3천만 정자를 주입하여 동결 용해한 정자의 활력

Group	1000만	1500만	1800만	2000만	3000만
Total motile (%)	78.3 \pm 5.3c	82.2 \pm 4.4b	83.3 \pm 5.3b	85.0 \pm 6.8b	93.3 \pm 3.1a
Fast progressive (%)	36.1 \pm 5.5a	35.0 \pm 2.9ab	31.9 \pm 5.1bc	28.3 \pm 5.7c	30.0 \pm 4.5c
Slow progressive (%)	20.2 \pm 3.9c	23.0 \pm 3.0bc	23.6 \pm 3.7bc	25.4 \pm 8.7b	30.0 \pm 7.3a
Non-progressive (%)	22.0 \pm 2.9c	24.2 \pm 2.0c	27.7 \pm 2.7b	31.3 \pm 3.9a	33.4 \pm 5.2a
Immotile (%)	21.7 \pm 5.3a	17.8 \pm 4.4b	16.7 \pm 5.3b	15.0 \pm 6.8b	6.7 \pm 3.1c
VCL ($\mu\text{m/s}$)	90.7 \pm 8.7a	81.8 \pm 4.4b	77.8 \pm 6.1bc	77.6 \pm 8.9bc	74.3 \pm 9.4c
VSL ($\mu\text{m/s}$)	39.1 \pm 3.1a	34.0 \pm 3.2b	31.7 \pm 4.1bc	30.4 \pm 3.8c	29.7 \pm 2.9c
VAP ($\mu\text{m/s}$)	53.3 \pm 4.4a	47.6 \pm 3.6b	45.4 \pm 4.3b	44.9 \pm 3.8b	44.7 \pm 4.3b
LIN (%)	43.4 \pm 4.2a	41.5 \pm 2.2ab	40.7 \pm 3.2ab	39.4 \pm 5.6b	40.2 \pm 4.2a
STR (%)	73.5 \pm 4.0a	71.3 \pm 2.1ab	69.6 \pm 3.3bc	67.6 \pm 5.7cd	66.5 \pm 3.8d
WOB (%)	58.9 \pm 2.8ab	58.2 \pm 1.7ab	58.4 \pm 2.2ab	58.1 \pm 3.5b	60.4 \pm 3.2a
ALH (μm)	3.3 \pm 0.4a	3.2 \pm 0.2a	3.1 \pm 0.2a	3.1 \pm 0.4a	2.8 \pm 0.4b
BCF (Hz)	17.0 \pm 1.1a	15.4 \pm 1.4b	15.3 \pm 1.4b	15.4 \pm 1.6b	15.3 \pm 0.9b
Hyperactive (%)	16.0 \pm 3.1a	14.7 \pm 1.9a	12.0 \pm 2.8b	10.4 \pm 3.2bc	9.2 \pm 2.2c

Total motile(%)은 3천만 정자 그룹이 가장 높게 나타났다. Fast progressive (%)는 1천만, 1천 5백만 정자 그룹이 2천만, 3천만 정자 그룹에 비해 유의적으로 높은 결과를

보였다. VCL ($\mu\text{m/s}$), VSL ($\mu\text{m/s}$), VAP ($\mu\text{m/s}$), BCF(Hz), Hyperactive (%)는 1천만 정자 그룹에서 가장 높게 나타났다.



[그림 1] 0.5 mL에 1천만, 1천5백만, 1천8백만, 2천만, 3천만 정자를 주입하여 동결 용해한 정자의 생존율

1천만, 1천5백만, 1천8백만, 2천만, 3천만정자를 0.5mL 스트로에 주입하여 동결 용해한 정자의 생존율 차이는 없었다 (1천만, 1천5백만, 1천8백만, 2천만, 3천만 정자/0.5mL vs. 63.2 \pm 7.4%, 64.6 \pm 5.2%, 63.2 \pm 6.2%, 60.7 \pm 8.2%, 62.8 \pm 5.9%).

4. 결론

한우 정액 채취 후 0.5mL에 동결 보존시 1천만, 1천5백만, 1천 8백만, 2천만, 3천만 정자를 주입시 하여 동결 용해후 생존율의 차이는 없었다. 그러나, 정자 농도에 따른 정자의 생존율이 인공수정 후 수태율을 나타내는 것은 아니므로, 추후 연구에서 각 정자 농도에 따른 인공수정 후 수태율 검증이 필요할 것이다.

참고문헌

- [1] Moore SG, Hasler JF., 2017. J. Dairy. Sci., 100:10314-10331.
- [2] Diskin MG. 2018. Animal., 12(s1):s75-s84.
- [3] Tushar KM, Shabir AL, Kumaresan A, Bhaka M, Kumar E, Rubina KB, Ranjana S, Adil RP, Hanuman PY, Sangram KS, Ashok KM., 2016. Asian Pac. J. Reprod. 7:1-5.