

[영농활용]

활용제목	염소의 정액생산 및 인공수정					
활용분야	축산					
활용내용요약	<ul style="list-style-type: none"> ○ 염소의 정액 채취방법 ○ 염소의 액상정액보존 방법 ○ 염소의 동결정액보존 방법 ○ 염소의 발정동기화 방법 ○ 염소의 인공수정 방법 ○ 염소의 임신진단 방법 					
연구과제	웅성생식세포의 동결보존 및 이용기술개발 RIMS 코드 : 20071390667000005				사업구분	
세부과제	재래흑염소의 정액동결보존 및 이용에 관한 연구				기관고유	
구 분	분야	축산 I 분야	작 목	염소	색인어	염소, 정액생산, 인공수정
연구개발자	소속기관		성명	전화 및 e-mail주소		
	축산과학원		김현중	063-620-3521, hyunjong@rda.go.kr		
공동개발자	"		손동수	063-620-3518, sonds@rda.go.kr		
	"		최선호	063-620-3520, sunho@rda.go.kr		
	"		최창용	063-620-3523, cychi@rda.go.kr		
	"		조상래	063-620-3522, jinsilro@rda.go.kr		
	"		한만희	031-290-1559 hanmh@rda.go.kr		
	"		상병돈	063-620-3510, bd1126@rda.go.kr		
	"		최순호	063-620-3530, choi7804@rda.go.kr		
	"		류일선	031-290-1565, lriisryu@rda.go.kr		

I. 요약

1. 활용

- 흑염소의 인공수정에 필요한 정액의 생산부터 보존까지의 방법
- 흑염소의 발정동기화에서 인공수정 및 임신진단까지의 방법

2. 유사 영농활용 기술과의 차이점

- 05년 흑염소의 액상정액보관 방법, 06년 흑염소 정액 동결보존액 활용을 포함한 염소 정액채취에서 액상 및 동결보존까지 제시

3. 현황 및 문제점

- 국내의 연구에서 염소 정액의 생산부터 인공수정까지 농가에 활용가능한 수준의 연구보고가 없었음
- 염소 인공수정은 염소의 개량과 근친도 저감, 전염성 질병전파 차단에 필요한 기술

4. 주요연구결과(2005. 1 ~ 2007. 12)

○ 전기자극기를 이용한 염소 정액채취

- 전기자극기에 윤활제를 발라 숫염소의 직장으로 삽입
- 전극이 아랫방향으로 향하게 해서 부생식선 윗부분에 위치
- 우측스위치를 OFF에서 Batt로 이동
- 좌측 전압 다이얼을 수치 50 (AC 4.2V)까지 올려 2-3초 유지했다가 0으로 낮춤
- 2-3회에 걸쳐 서서히 전압을 100 (AC 7.5V)까지 전압을 상승시키며 반복
- 4회 이내에 포피에서 정액이 비치다 사정함
- 흑염소는 10두 중 3두에서 음경이 돌출하고 대부분은 음경의 돌출이 없음
- 흑염소는 예민하여 사람의 접근을 허용하지 않아 인공질법으로 정액채취가 안 됨
추후 효과적인 방법의 개발이 필요

○ 채취한 정액의 이동 및 검사

- 채취된 정액은 37℃ 이동식 온장고에 보관하여 실험실로 이동
- 정자의 활력을 혈구계산판위에 5 μ l 엮어 활력을 관찰
(정상 정액은 채취 직후 +++의 활발한 회오리나 물결형태의 운동을 보임)
- 정액을 30℃로 가온된 난황이 첨가안된 Triladyl(이차증류수 3: Triladyl 원액 1)로 1:1 희석하여 40 μ m 메시를 통과시킨 후 1500rpm 15분 원심분리하여 상층액 제거

○ 정액의 액상보존

- 정장을 제거한 정자펠렛에 난황이 첨가 안된 Triladyl을 1ml로 재부유
- 10 μ l에 증류수 990 μ l를 첨가하여 100배 희석 후 마크러챔버로 정자농도 계산
- 상온에서 20분 간격으로 2배씩 Triladyl액을 첨가하여 최종농도가 1억개/ml 되게 하여 17℃ 온장고에 보관하여 2일 이내에 인공수정에 사용

○ 정액의 동결보존

- 정장을 제거한 정자펠렛에 난황이 첨가된 Triladyl(이차증류수 3: Triladyl 원액 1: 난황 1)을 1ml로 재부유
- 10 μ l에 증류수 990 μ l를 첨가하여 100배 희석 후 마크러챔버로 정자농도 계산
- Triladyl과 정액을 4℃ 챔버에 넣고 20분 간격으로 2ml씩 Triladyl액을 첨가하여 최종농도가 1억개/ml 되게 희석.
- 최종 희석 후 2시간 평형시킨 후, 0.5cc 스트로에 정액을 포장하고 말단을 밀봉
- 정액이 든 스트로를 액체질소 상단 5cm에 5분간 증기로 동결한 후 액체질소에 침지
- 임의로 한개의 스트로를 37℃에서 30초 동안 용해 후 정자활력을 검사하고, 생존율 50%, 운동성 +이하는 폐기하고 정상 동결된 정액을 액체질소통에 보관
- 생산된 정액의 개체번호, 생산일자, 생산개수, 정자활력 등을 생산대장에 기록

○ 염소의 발정동기화

- CIDR-G를 12-15일간 염소의 질 내에 삽입
- CIDR-G 제거 48시간전에 PMSG(Folligon 300IU)와 PGF2α(Lutelyase 7.5mg) 주사
- CIDR-G 제거 후 30~34시간에 자궁 내에 정액 주입
 - CIDR-G 제거 후 30시간째부터 38시간째까지 난포성장
 - 42시간에 배란과 형성 및 44시간에 황체형성

○ 염소의 인공수정

- 동결정액스트로를 37℃ 온수에 30초간 용해하여 깨끗한 종이타올로 닦은 후 준비
- 염소를 보정틀을 이용하여 고정하고 외음부를 알콜솜으로 세척
- 염소용 자가인공수정기를 질내에 삽입하여 자궁경관입구를 확인
- 인공수정주입기에 정액스트로를 장착하여 자궁경관 입구에 위치시킨 후 주입기를 조심해서 돌려가며 서서히 안쪽으로 밀어서 경관을 통과 후 정액을 주입 (미경산 염소 중 일부는 경과 통과가 어려우며, 경관통과를 못한 개체는 임신율이 낮음)

○ 염소의 초음파진단기를 이용한 임신진단

- 염소 인공수정 후 20일에서 30일까지 임신확인을 위해 직장내 렉탈 프로브를 삽입하여 양수로 인해 검게 보이는 부분을 확인하여 임신진단
- 염소 인공수정 후 30일에서 40일 이후 임신확인을 위해 복부에 프로브를 대어 원형의 자궁소구들을 확인하여 임신진단

5. 기대효과

- 염소인공수정의 농가실용화 (근친도 저감, 염소 개량, 전염병 전파 차단)
- 염소 정액의 보존 (유전자원 확보)

6. 개발기술의 활용방법

- 지역 클러스터에서 우수 수컷들을 선발하여 민간 인공수정센터에 위탁하여 교배 계획에 따라 정액 생산 및 농가 자가 인공수정
- 염소의 자가인공수정기술 교육을 실시하여 기술전수 필요

II. 세부연구결과성적

○ 희석액별 액상정액의 보존기간 검사

보존액	개체 번호	보존온도 (℃)	보존일별 활력(%)								
			D0	D1	D2	D3	D4	D5	D6	D7	D8
BTS	060	4	85	0	0	0	0	0	0	0	0
		17	85	70	45	30	20	10	10	5	0
	328	4	85	0	0	0	0	0	0	0	0
		17	85	70	30	25	10	5	0	0	0
Modena	060	4	85	35	40	40	30	25	25	20	20
		17	85	80	75	75	65	55	50	20	20
	328	4	85	45	45	45	35	35	35	35	35
		17	85	80	75	45	35	25	20	5	5
Trilady1	060	4	85	75	70	70	60	50	40	40	40
		17	85	80	70	75	70	65	60	55	50
	328	4	85	65	65	65	65	55	50	50	45
		17	85	75	60	65	65	60	60	55	50

○ LEYG와 Andromed와 Trilady1을 이용한 동결융해 후 생존율

동결보존액	원정액 생존율 (%)	동결 전 정자활력(%)	동결융해 후 정자활력(%)
LEYG	85+++	60++	30+
Andromed	85+++	80++	50++
Trilady1	85+++	80++	70++

○ 염소 외과적 인공수정 후 분만을

CIDR 제거 후 시간	인공수정 두수	대난포 보유두수	배란두수	분만두수
30	2	2	0	2
34	2	2	0	2
38	2	2	0	1
42	2	2	1	1
44	2	2	2	1

○ 염소 외과적 · 비외과적 인공수정 후 분만을

인공수정 방법	인공수정 두수	분만두수 (%)
외과적	10	7 (70.0)
비외과적	6	4 (66.7)