

최 종
연구 보고서

GOVP1200136467

636.294

L2931

(19th)

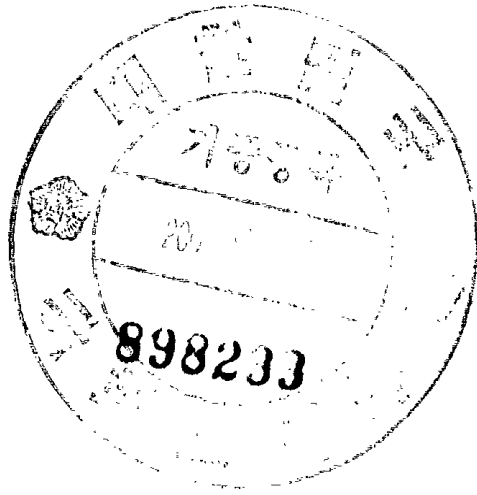
사슴의 동결정액생산, 인공수정 및 임신진단기법 개발

The Development of Technologies for the Freezing
of Semen, Artificial Insemination, and
Pregnancy Diagnosis in Deer

연구 기관

농촌진흥청 축산기술연구소

농 립 부



제 출 문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “사슴의 동결정액생산, 인공수정 및 임신진단기법 개발에 관한 연구” 과제의 최종보고서로 제출합니다.

2001. 10.

주관연구기관명 : 농촌진흥청 축산기술연구소

총괄연구책임자 : 손동수

세부연구책임자 : 이장희

연구원 : 김상우, 김창근, 백순화, 박성재
최선호, 정경용, 서상교, 류재원
지달영

세부연구책임자 : 김인철

연구원 : 김남철, 최진성, 연성흙, 유충현
김상운, 김종대, 이재식, 김현종
박수봉

세부연구책임자 : 손동수

연구원 : 류일선, 김일화, 이동원, 서국현
허태영, 전병민, 진현주, 이충섭

요 약 문

I. 제 목

사슴의 동결정액생산, 인공수정 및 임신진단기법 개발

II. 연구개발의 목적 및 중요성

우리나라에서 사슴사육은 1955년 대만으로부터 꽃사슴을 수입하면서 본격적으로 시작되었다. 그 후 1970년대에 미국, 캐나다, 뉴질랜드, 일본, 대만 등으로부터 레드디어, 엘크 등 1,000여두가 수입됨에 따라 사슴 사육농가와 사육두수가 증가하였다. 처음 사슴사육은 주로 관상용에서 시작되었으나 경제성장과 더불어 사슴의 주요 생산물인 녹용의 이용량이 크게 증대하게 되어 축산농가의 새로운 소득원으로 자리잡게 되었으며, 최근에는 12,137농가에서 150,466두(2000년 12월말 기준, 농림부 기타가축통계)를 사육하고 있다. 그러나 우리나라는 세계최대의 녹용 소비국으로 연간 134,100kg이 수급되어야하나 국내 자급율은 27.4% 수준에 머물고 있어 외국으로부터 수입 의존도 매우 높은 실정이다. 이는 국내 사육사슴의 녹용생산량이 외국의 사슴에 비해 낮은 것도 하나의 원인이 된다. 따라서 양질의 녹용 생산량을 증가시키기 위해서는 무엇보다도 사슴의 능력개량이 요구되나 IMF의 영향에 의해 1997년 이후로는 사슴의 수입이 거의 없는 실정으로 혈통갱신이 어려워지고 있다. 농가에서 우수한 종록을 보유하고 있다하더라도 자연교미로는 연간 수정할 수 있는 암사슴이 10~15두 정도밖에 되지 않으므로 우수한 종록의 활용성을 높이고, 조기에 능력을 개량할 수 있는 인공수정 기술

개발이 무엇보다도 절실한 시점이다. 그러나 사슴은 소나 돼지와 달리 계절번식을 하는 동물로서 외국에서 개발된 기술을 그대로 접목하기는 어렵다. 우리나라의 계절은 다른 나라와 다르므로 사슴의 번식생리를 이용한 우리나라의 실정에 맞는 기술개발이 무엇보다도 필요하다.

따라서 본 연구는 우리나라의 계절에 알맞은 사슴의 발정동기화 기술을 개발하고, 우수한 종족으로부터 정액의 채취 및 동결보존 기술개발로 정액을 생산하여 발정이 동기화된 사슴에 인공수정하고, 조기에 임신진단을 실시하는 기법을 개발하기 위해 실시하였다.

Ⅲ. 연구개발 내용 및 범위

1. 사슴의 동결정액생산기술 개발

인공수정의 성공에 있어서 가장 중요한 부분이 양호한 성상을 보유하고 있는 정액의 확보가 우선되어야 한다. 사슴은 야생성이 그대로 남아 있고, 특히 발정기에는 사람의 접근이 어려우므로 소나 돼지처럼 인공질법에 의한 정액채취가 거의 불가능한 상태이므로 전신마취 후 전기자극법으로 정액채취 하는 것이 일반적으로 많이 시행되고 있다. 본 연구에서는 우수한 종족으로부터 전기자극법으로 다량의 정액을 생산하기 위한 기술확립을 위해 아래의 연구를 수행하였다.

가. 정액채취방법 확립을 위한 연구

- 1) 전기자극의 크기와 회수에 따른 정액성상
- 2) 정액채취시 분획에 따른 정액성상

나. 번식 및 비번식계절의 정액생산 구명연구

- 1) 품종별 번식 및 비번식계절의 정액성상
- 2) 종족의 연령에 따른 정액성상
- 3) 개체별 사슴정액의 동결과정 및 용해 후 정자의 활력 변화

다. 동결보존액 개발 연구

- 1) 포장방법에 따른 동결용해 후 생존율
- 2) 생리활성물질의 첨가가 동결용해 후 정액성상에 미치는 영향
- 3) 동해보호제가 정자의 내동성에 미치는 영향
- 4) 동결보존 후 배양시간에 따른 정자의 생존율

라. 정액채취기(전기자극기) 개발

- 1) 전기자극 정액채취기 시작품제작

2. 사슴의 발정동기화 및 인공수정기술 개발

사슴은 계절번식동물이며, 발정지속 시간이 다른 동물과 비교하여 매우 짧고, 승가·허용하는 행동을 관찰할 수 있는 기회가 드물기 때문에 자연발정 상태를 관찰하기가 어렵다. 따라서 인공수정을 위해서는 발정을 유기하여 적기에 인공수정 하는 것이 중요하다. 사슴의 발정주기 중 번식 생리를 구명하고, 비번식계절에 발정유기 가능성 여부와 수태율을 높이기 위하여 아래와 같은 연구를 수행하였다.

가. 사슴의 발정 발현율과 수태율

- 1) 농장별 발정동기화처리 후 발정발현율 및 수태율
- 2) 번식계절의 발정동기화에 따른 발정 발현율 및 수태율

나. 발정주기 중 혈중 P₄ 농도 변화에 따른 번식생리 구명

- 1) 발정주기 중 발육중인 난포의 크기 변화(초음파화상)
- 2) 엘크에 있어서 발정동기화 처리과정에 따른 혈중 P₄농도의 변화
- 3) 발정주기 중 혈중 P₄농도 및 난포크기의 변화
- 4) 초음파 화상 분석에 의한 발정(배란)예측

다. 예정시각 인공수정기술 개발

- 1) 발정동기화 처리 방법에 따른 인공수정 후 수태율
- 2) 정자농도 및 수정회수가 수태율에 미치는 영향
- 3) 정액주입 부위에 따른 수태율

라. 비번식계절의 발정동기화기술 개발

- 1) 비번식계절의 발정동기화처리에 따른 발정 발현율 및 수태율
- 2) 호르몬처리 방법에 따른 비번식계절의 발정 발현율

마. 호르몬처리에 의한 번식성적 조사

- 1) 호르몬처리 방법에 따른 수태율

3. 사슴의 임신진단기법 개발

사슴은 번식계절 내에서만 발정이 발현되므로 이 시기에 수정이 이루어져야만 임신이 가능하다. 따라서 수정 후 임신여부를 진단하여 재수정 실시여부를 조기에 판단하는 것이 자육을 생산하는데 매우 중요하다. 또한 비임신 사슴에 대한 조기 임신진단으로 도태계획 수립에 활용할 수 있다. 이에 사슴의 임신진단 기법 개발을 위해 아래와 같은 연구를 수행하였다.

가. 초음파 임신진단법 확립 연구

- 1) 초음파 진단에 의한 임신진단의 정확도
- 2) Probe 종류에 따른 임신진단의 차이

나. 임신기간중 태아크기 및 P₄ 농도변화 연구

- 1) 임신기간중 태아 크기의 변화
- 2) 혈중 P₄ 농도의 변화

다. 초음파 화상분석에 의한 임신진단 연구

- 1) 초음파 화상분석에 의한 임신일령 예측

라. 임신진단 방법에 따른 진단의 정확도 분석

IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

1. 연구개발 결과

가. 사슴 동결정액생산기술 개발

1) 18개 시험참여 농가로부터 동결정액 3,066straw를 생산하여 인공수정에 이용하였다.

2) 번식 및 비번식계절의 정액성상으로 번식계절의 품종별 정액량은 엘크, 레드디어 및 꽃사슴이 각각 0.4~2.5, 0.8~2.5, 0.3~1.5ml이었으며 정자농도는 각각 1.9~24.6, 5.3~27.5, 0.14~18.2×10⁸ 정자수/ml이었다. 엘크에 있어서 번식계절에 따른 정자활력 및 농도는 각각 88.3% 및 24.6×10⁸ 정자수/ml로 비번식계절의 61.7% 및 8.5×10⁸ 정자수/ml보다 높았다.

3) 비번식계절 정액생산 가능성을 제시하였다.

4) 전기자극 정액채취기를 특허등록하였다(실용신안 등록번호 20-0218606).

나. 사슴의 발정동기화 및 인공수정기술 개발

1) 연구기간 동안 18개 참여농가에서 보유하고 있는 사슴 612두 (엘크 534, 레드 18, 꽃사슴 60두)를 인공수정하였다.

2) 엘크사슴 174두에 대해서 CIDR를 질내 14일 동안 장치하고 PMSG를 주사한 후 KAMAR를 부착하여 인공수정 직전 승가 흔적이나 파열 여부로 발정 발현율을 조사한 결과 165두가 발정으로 확인되어 94.8%의 발정 발현율을 나타내었다.

3) 엘크사슴 145두에 CIDR(progesterone impregnated controlled internal drug release)를 12~14일 동안 질내 삽입하고 제거 시 PMSG 200~250IU를 근육 주사하여 발정을 동기화시켰으며(대조구), 배란을 유도하기 위하여 CIDR 제거 후 18~24시간에 두당 0.0084mg buserelin acetate를 주사하거나 수정직전 100 μ g fertirelin를 각각 주사하고 CIDR제거 후 60, 62 및 64시간째에 인공수정한 결과 84.6, 47.6 및 92.9%의 수태율을 나타내었다.

4) 엘크사슴에 있어서 임신 및 발정주기 중 혈중 P₄ 농도는 황체기와 임신 초기의 농도가 유사한 수준이었고 발정주기의 마지막 부분에 급격히 감소하였다. 발정동기화 처리시 CIDR삽입시의 P₄ 농도는 평균 5.4mg/ml(6.0~20.0mg/ml)였으며 제거시와 인공수정시에는 각각 8.1mg/ml 및 2.5mg/ml이었다.

5) 특허 출원

가) 사슴 정액의 냉동보존액 및 이를 이용하여 냉동 보존하는 방법 및 인공수정방법(출원번호 : 10-2000-0063870)

나) 링식 체내약물 방출장치 및 이를 이용한 동물의 피임 및 발정유도기구(출원중)

다. 사슴의 임신진단기법 개발

1) 사슴의 조기 임신진단 기술확립

P₄ 농도 분석에 사슴의 혈중 농도가 1.98ng/ml 이하이면 불임으로 진단하

여 혈중 P₄ 농도 분석에 의한 조기 임신진단법을 제시하였다.

2) 임신진단을 P₄ 분석, 직장검사 및 초음파진단으로 실시하였을 때 수태율은 각각 71.1%, 60.6% 및 72.1%로 초음파진단이 높게 나타났다.

3) 임신 일령 추정가능성제시

임신 40 및 60일령에 태아의 크기가 각각 $5.96 \pm 2.6\text{mm}$ 및 $25.50 \pm 7.2\text{mm}$ 이었으며 이에 대한 계산식은 $Y=1.02X+33.9$ 로 태아 크기에 따른 임신일령 추정가능성을 제시하였다. (Y=임신일령, X=태아의 크기 [= (가로+세로크기)÷2])

2. 결과 활용에 대한 건의

가. 사슴 인공수정기술의 농가 및 가축인공수정사 등에 기술 전수

나. 인공수정에 의한 사슴의 능력검정 연구 수행

다. 인공수정산 자육의 친자확인을 위한 연구 수행

여 백

SUMMARY

I . Title

The Development of Technologies for the Freezing of Semen, Artificial Insemination, and the Pregnancy Diagnosis in Deer

II . Objectives and Importance of the Study

In Korea, deer breeding began in 1955 when spotted deers were imported from Thailand. Later, the number of domestic deer breeders increased to 1,000 when species such as red deer and elk were imported from North America(USA, Canada), New Zealand, Australia, Japan, and Thailand. Originally, deer were imported only for the purpose of decoration, but economic development led to an increase in the consumption of deer velvet antlers. As a result, deer farming was promoted as a new source of income for livestock farmers. According to statistics from the Ministry of Agriculture, by December 2000, there were a total of 12,137 domestic breeders raising 150,466 deers.

However, while Korea has the highest consumption of deer velvet antlers (134,100 kilograms per year), only 27.4 percent of that demand is supplied by domestic farmers; so the dependency on imports is very great. This phenomenon is caused by the fact that the output of antlers from domestic deer farmers is lower than the output from foreign breeders. Therefore, it is necessary to modify breeding techniques to increase the domestic output of

high quality antlers. In particular, there is an urgent need to develop the techniques of artificial insemination and to make efficient use of high quality species. But it is still difficult to apply the techniques developed in other countries because the deer, unlike the cow or pig, is a seasonal breeding animal. Thus, in Korea it is necessary to develop a technique that is appropriate to the climate of this country.

This study is undertaken in order to develop an estrus synchronization technique that is suitable to the Korean climate, to collect the semen from a high quality species, and then to use in the artificial insemination of deer controlled reproductively, produced from freezing preservation techniques, and to develop a technique for the early diagnosis of pregnancy.

III. Contents and Scopes of Development

1. The development of technologies for the freezing of semen in deer

For the successful artificial insemination, semen collected from a high quality breed must be insured because the deer, unlike the cow or pig, is a wild animal. It's very difficult to approach them for collection of the semen using an artificial vagina. In general, semen collections were conducted using an electro-ejaculator after general anesthesia. Therefore, to establish a proper technique for the freezing of semen, following studies were conducted.

A. Establishment of semen collection method

- Characteristics of ejaculated semen on the number of stimulation and size of electronic shock
- Characteristics of sperm on the part of ejaculated semen

B. Semen production in breeding and non-breeding season

- Characteristics of semen on the breed in breeding and non-breeding season
- Characteristics of semen on the age of buck in breeding season
- Changes of motility of spermatozoa during the freezing of semen

C. Development of cryodiluents for frozen semen

- The survival rate of spermatozoa after freezing and thawing on package of semen
- Effects of addition of bio-activity ingredients to cryodiluents on the survival of spermatozoa post thawing
- Effect of addition of cryoprotectants to cryodiluents on the survival of spermatozoa post thawing
- The survival rate of spermatozoa on the culture time post thawing

D. Development of electronic ejaculator

- Manufacture of electronic ejaculator model

2. The development of technologies for the estrus synchronization and fixed time artificial insemination in deer

Estrus cycles in female deers vary from 18 to 22 days as a seasonally polyestrous animal. Because of a vary short of estrus period (approximately 8~17h) in contrast to ruminants such as sheep and cattle, it is difficult to detect the natural estrus. For the successful artificial insemination in deer, synchronization of estrus and artificial insemination of frozen semen have to

be applied at the optimized time. For certification of the fixed-time AI and the reproductive physiology of the estrus cycle of deer, following studies were conducted.

A. Investigation of conception rate and standing estrus rate in deer

- Investigation of conception rate and standing estrus rate on deer farms
- Conception rate and standing estrus rate of the breeding and non-breeding season in deer

B. Changes of serum concentration of progesterone and follicle size during estrus cycle

- Changes of follicle size during the estrus cycle (Elk)
- Changes of serum concentration of P₄ during the estrus synchronization treatments (Elk)
- Changes of serum concentration of P₄ and follicle size during the estrus cycle
- Expectation of ovulation time using ultrasonographic image analysis

C. Development of technologies for fixed-time artificial insemination

- Conception rate after artificial insemination on the estrus synchronization treatments
- Effects of concentration of semen and number of insemination on the conception rate in deer
- Effects of insemination site of frozen semen on the conception rates (cervix vs interuterine)

D. The development of technologies for estrus synchronization in the non-breeding season

- Standing estrus rate and conception rate of the estrus synchronization treatments in the non-breeding season
- Standing estrus rate of the non-breeding season on the hormone treatments

E. Investigation of the result of reproduction-by the hormone treatments

- Conception rate of deer on the estrus synchronization treatments

3. Technology development for pregnancy diagnosis in deer

The deer was mated (inseminated) at the breeding season, which only shows appearance of the estrus cycles in deer. Early diagnosis of pregnancy is very useful to select non-pregnant does and also very important to decide re-inseminations or mating for producing of calves. Therefore, for the development of techniques on the diagnosis of pregnancy of deer, following studies were conducted.

A. Establishment of technology for ultrasonography pregnancy diagnosis in deer

- Accuracy of pregnancy diagnosis by means of ultrasonography
- Comparison of the type of probe for pregnancy diagnosis

B. Changes of serum concentration of P₄ and fetus size during early gestation

- Changes of fetus size during gestation
- Changes of serum concentration of P₄ during gestation

C. Establishment of pregnancy diagnosis by ultrasonographic image analysis

- Expectation of age of gestation by ultrasonographic image analysis

D. Comparison of accuracy on the pregnancy diagnosis

- Comparison of accuracy of diagnosis for the pregnancy

IV. Results and Implementation

1. Results

A. The development of technologies the freezing of semen in deer

- From 18 farms, a total of 3,066 straws of frozen semen were produced, were used to artificial insemination
- When semen was collected from three different breeds (Elk, Red deer and Spotted deer; n=3 per group) by means of electro-ejaculation, the volume of ejaculated semen and sperm concentration were varied widely among breeds (Elk : 0.4~2.5 ml, Red deer : 0.8~2.5 ml, and Spotted deer : 0.3~1.5 ml), as did sperm concentration (Elk : 1.9~

24.6×10^8 sperm/ml; Red deer : $5.3 \sim 27.5 \times 10^8$ sperm/ml; Spotted deer : $0.14 \sim 18.2 \times 10^8$ sperm/ml).

- It is concluded that frozen semen of non-breeding season in Korea can be used successfully for artificial insemination.
- Electronic ejaculator(Electro-stimulating semen collector) was patented for the property in Korea (Registration No. : 20-0218606)

B. Estrus(or ovulation) synchronization and artificial insemination technique of deer

- During project (3 years), a total of 612 herds were inseminated from 18 farms(Elk : 534, Red : 18, and Spotted deer : 60)
- A total of 165 does out of 174 synchronized estrus exhibited estrus (94.8%).
- Results of pregnancy diagnosis from 85 does, the conception rate was higher at CIDR+PMSG+LHRH (67.5%) than that of CIDR+PMSG (50.0%) and CIDR+PMSG+GnRH (52.2%), but fawing rate was higher at CIDR+PMSG+GnRH (43.5%) than that of others. And then 42 does treated with CIDR+PMSG were inseminated after removing CIDR, and the conception rate obtained from kidding data were higher at 64 h (92.2%) than that of 60 h (84.6%) and 62 h (47.6%) after estrus synchronization.
- A concentration of serum progesterone was similar to the lateral phase value during early pregnancy, and then decreased rapidly at the end of estrus cycle. Average of serum progesterone concentration (ng/ml) of the days of CIDR devices insertion, CIDR remove, and AI were 5.4 (range : 0.6~20.2 ng/ml), 8.1 (range : 4.1~12.9 ng/ml) and 2.5 (range : 0.5~7.2 ng/ml), respectively

○ Registration of a patent

- Collection, cryodilution and freezing methods of deer semen, and artificial insemination methods in deer (Application No. : 10-2000-0063870)
- Ring type Internal Drug Release (RIDR- S, M and L size) and a instrument for animal estrus induction and contraception using RIDR.(Application)

C. Pregnancy diagnosis technique

○ Establishment of ultrasonographic diagnosis

- It was indicated that progesterone levels which were higher or lower than 1.9 ng/ml, were supposed to indicate pregnancy or non-pregnancy.

○ Comparison of accuracy of diagnosis for pregnancy

- When pregnancy diagnosis was conducted by progesterone (P4) measurements, rectal palpation and ultrasonography method, conception rate were appeared highly at ultrasonography (72.1%, 44/61 does) than that of P4 measurement (71.1%, 32/45 does) and rectal palpation (60.6%, 37/61 does).

- Expectation of age of gestation was proposed in the early pregnant periods. when fetus size were 5.96 ± 2.6 mm (Day 40) and 25.50 ± 7.2 mm (Day 60), and Y (Age of gestation) was $1.02X + 33.9$.

where $Y = 1.02X + 33.9$. The estimated value of X is written

$$X \text{ (fetus size)} = \frac{Y - 33.9}{1.02}$$

2. Implementation

- A. The technique for the artificial insemination in deer will be applied to farms and breeders.**
- B. Performance testing of the inseminated deer will be conducted.**
- C. A parentage testing for the calves from AI will be performed.**

여 백

CONTENTS

Chapter 1. Introduction	31
1. Objectives	31
2. Importance of the study	32
3. Previous studies and problems	35
Chapter 2. Technology development of frozen semen production in deer	37
1. Introduction	37
2. Contents and scopes of research	38
A. Animals	38
B. Semen collection	39
C. Freezing of semen	39
D. Test of semen	40

3. Results and discussion	41
A. Characteristics of semen in breeding and non-breeding season	41
B. Effect of semen collection method on characteristics of semen	43
C. Effect of adding bio-activity ingredients to cryodiluent on survival after thawing of frozen semen	46
D. Changes of motility during freezing process of semen	48
E. Effect of cryoprotectants on survival after thawing of frozen semen	49
F. Changes of motility on culture time after thawing of frozen semen	50
G. Effect of age of duck on characteristics of semen	50
4. Summary	53
5. References	55

Chapter 3. Technology development for synchronization of estrus and artificial insemination in deer	59
1. Introduction	59

2. Contents and scopes of research	60
A. Animals and farms	60
B. Estrus and ovulation synchronization	61
C. Artificial insemination	62
D. Investigation of conception rate	64
E. Collection of blood sample and hormone analysis	64
3. Results and discussion	65
A. Changes of semen concentration of P_4 and follicle size during estrus cycle in deer	65
B. Changes of serum concentration of P_4 and estrus exhibition after estrus synchronization	66
C. Conception rates after artificial insemination on estrus synchronization treatment	68
D. Conception rates on insemination time of semen after estrus synchronization	70
E. Effect of insemination site of semen and numbers of spermatozoa on the conception rate	70

F. Effect of the ovulation synchronization on conception rate and fawning rate after insemination	72
G. Effect of estrus synchronization treatment on conception rates and fawning rates in non-breeding season	75
4. Summary	77
5. References	79

Chapter 4. Technology development for pregnancy

diagnosis in deer	83
1. Introduction	83
2. Contents and scopes of research	84
A. Animals and farms	84
B. Hormone analysis	84
C. Pregnancy diagnosis	84
D. Image analysis of ultrasonography	85
3. Results of pregnancy diagnosis by two types of probe	86
A. Conception rates on pregnancy diagnosis methods in deer	86

B. Results of pregnancy diagnosis by two type of probe	87
C. Expectation of ovulation time by image analysis of ultrasonography	88
D. Expectation of age of gestation	89
4. Summary	93
5. References	94
Chapter 5. Conclusion	97
1. Development of technologies for the freezing of semen	97
2. Development of technologies for estrus synchronization and artificial insemination	98
3. Development of technologies for pregnancy diagnosis	100
Supplement	101

여 백

목 차

제 1장 서 론	31
제 1절 연구의 배경	31
제 2절 연구개발의 중요성	32
제 3절 국내·외 관련기술의 현황과 문제점	35
제 2장 사슴의 동결정액 생산기술개발 개발	37
제 1절 서설	37
제 2절 연구개발의 내용과 범위	38
1. 공시축	38
2. 정액채취	39
3. 동결정액 제조	39
4. 정액성상 검사	40
제 3절 연구결과 및 고찰	41
1. 번식 및 비번식계절에 있어서 정액성상	41

2. 정액채취 방법이 정액성상에 미치는 영향	43
3. 생리활성 물질의 첨가 종류 및 수준의 정액의 용해 후 정액성상에 미치는 영향	46
4. 정액의 동결과정 중 정자활력 변화	48
5. 동해보호제가 동결·용해 후 정자의 생존성에 미치는 영향	49
6. 동결·용해 후 정자의 배양시간에 따른 생존성의 변화	50
7. 종류의 연령이 정액성상에 미치는 영향	50
제 4절 결과요약	53
제 5절 참고문헌	55
제 3장 사슴의 발정동기화 및 인공수정기술 개발	59
제 1절 서설	59
제 2절 연구개발의 내용과 범위	60
1. 공시축 및 시험대상 농가	60
2. 발정 및 배란 동기화	61

3. 인공수정	62
4. 수태율 조사	64
5. 호르몬 분석	64
제 3절 연구결과 및 고찰	65
1. 발정주기 중 혈중호르몬 농도 및 난포의 크기 변화	65
2. 발정동기화처리 후 발정 발현율 및 혈중 P ₄ 농도의 변화	66
3. 발정동기화방법에 따른 수태율	68
4. 정액주입 시간에 따른 수태율	70
5. 정액의 주입 부위 및 수정회수와 정자농도에 따른 수태율	70
6. 발정 및 배란동기화가 수태율 및 분만율에 미치는 영향	72
7. 비번식계절의 발정동기화처리가 수태율 및 분만율에 미치는 영향	75
제 4절 결과요약	77
제 5절 참고문헌	79

제 4장 사슴의 임신진단기법 개발	83
제 1절 서설	83
제 2절 연구개발의 내용과 범위	84
1. 공시축 및 시험대상 농가	84
2. 호르몬 분석	84
3. 임신진단	84
4. 초음파 화상 분석	85
제 3절 연구결과 및 고찰	86
1. 임신진단 방법에 따른 수태율	86
2. 초음파임신진단기 probe 종류에 따른 임신진	87
3. 초음파 화상분석에 의한 배란예측	88
4. 임신일령 추정	89
제 4절 결과요약	93
제 5절 참고문헌	94

제 5장 종합 결론	97
제 1절 사슴의 동결정액 생산기술 개발	97
제 2절 사슴의 발정동기화 및 인공수정기술 개발	98
제 3절 사슴의 임신진단기법 개발	100
부 록	101

여 백

제 1장 서 론

제 1절 연구의 배경

우리 나라의 사슴사육 현황은 12,137농가에서 150,466두(2000년 12말 현재)를 사육하고 있으며, 이들로부터 생산되는 녹용 생산량은 건녹용 기준 약 134.1천kg으로 국내 전체 소비량의 약 27.4%정도를 차지하고 있다. 품종별 사육두수의 비율은 꽃사슴 63.0%, 레드디어 7.0%, 엘크 28.5% 및 기타 1.5%이며, 녹용 생산량에 대한 비율은 꽃사슴 1, 레드디어 3, 엘크 7로 엘크가 가장 많다. 국내에서 사육하고 있는 사슴 중 가임 암사슴은 54,274두로 추정되고 있으며, 대부분은 자연교미에 의해서 번식이 이루어지고 있는 실정이었다. 특히 사슴은 계절번식동물로서 야생성이 남아있어 발정정후의 관찰과 임신 확인이 어려우므로 계획적인 번식이 잘 이루어지지 않고 있어 번식효율이 낮다. 또한 농가에서 우수한 종특을 보유하고 있다하더라도 자연교배로는 연간 수정할 수 있는 암사슴이 10~15두 정도 밖에 되지 않으므로 우수한 종특의 활용성이 낮고, 근친교배로 능력의 퇴화도 우려된다. 이에 국내 일부 사슴사육 농가에서 캐나다 등으로부터 사슴정액을 수입하여 외국의 기술자로부터 고가의 시술료를 부담하면서 인공수정을 실시하게 되어 국내 기술개발의 지연 및 막대한 외화가 낭비되는 실정이었다.

따라서 사슴의 능력을 조기에 개량할 수 있는 인공수정 기술개발이 무엇보다도 절실한 시점이며, 우리 나라의 실정에 맞게 사슴의 번식생리를 이용하여 동결정액 생산, 인공수정 및 임신진단 기술개발이 필요하였다.

제 2절 연구개발의 중요성

1. 기술적인 측면

국내 사슴 인공수정은 일부 단체나 조합에서 외국의 기술을 초빙하여 극히 제한적으로 이용되어지고 있었으며 일반농가에서는 사슴의 번식생리에 대한 이해 부족으로 인공수정은 엄두도 못 내고 있는 실정이었다. 사슴의 인공수정은 정액 채취와 정액의 동결보존, 암사슴의 발정유도, 정액주입, 임신진단 등 일련의 과정이 체계적으로 이루어져야 번식효율을 높일 수 있고 사슴의 생리적 특성상 계절 번식 때문에 수태에 성공하기가 다른 동물에 비해 어렵다. 특히 동결정액 제조기술은 시설 및 장비에 따른 투자비용 부담으로 사슴의 정액생산 및 인공수정이 초보단계에 있었으며, 1996년 축산기술연구소에서 레드디어와 꽃사슴에서 정액을 채취하여 동결융해 후 성상을 보고한 바가 있을 정도로 연구수준이 미흡하였다.

가. 사슴 인공수정의 기술개발

사슴의 인공수정을 위한 정액의 동결보존 기술은 1996년 축산기술연구소에서 동결정액 생산에 성공하였으며, 생산된 정액의 질은 외국도입 정액에 비해 전혀 손색이 없으나 다량의 체계적인 생산을 위해서는 추가적인 기술개발 연구가 필요하였다. 한편 축산기술연구소에서는 1994년부터 축산관련 공무원을 대상으로 가축의 수정란이식과 인공수정에 대한 이론과 실습교육을 실시하였고, 1995년부터 현재까지 양돈농가, 가축인공수정사, 지도직 공무원 등에 대하여 매년 100여 명씩 돼지의 능력개량과 번식효율 개선을 위한 돼지 인공수정 교육을 전수하여 우리나라 돼지 인공수정 보급률 향상에 기여하였으며, 이를 바탕으로 한 축적된 기술로 사슴의 인공수정기술 개발의 잠재력이 매우 높은 수준이었다.

나. 사슴 인공수정의 연차적 기술이전 방향

사슴의 능력개량을 위해 우수한 능력을 보유하고 종족으로부터 정액을 생산하여 농가의 사슴에 인공수정 함으로서 사슴 및 정액의 수입비용을 절감할 수 있도록 사슴사육 농가 및 가축인공수정사 등에 기술을 이전할 계획이다.

다. 번식 및 개량관련 신기술 개발

사슴은 품종에 따라 번식계절, 발정주기, 임신기간 등이 차이가 있어 번식생리에 대한 구체적인 연구가 필요하다. 즉, 적기 및 일괄 수정을 위하여 발정동기화 기술과 초음파 화상분석을 통하여 발정 및 임신태아의 일령을 진단함으로써 번식효율을 극대화할 수 있을 것이다. 이러한 기술의 바탕 위에 향후 능력개량을 한층 더 촉진할 수 있는 수정란이식기술의 기반조성이 가능해 진다.

라. 양육산업의 국제경쟁력 강화

국내에 사슴의 인공수정기반이 조성되었을 경우에는 능력개량 뿐만 아니라 다른 국가에 대한 인공수정기술 이전 및 녹용수출 등이 가능해 질 것이다. 캐나다 및 뉴질랜드 등 일부 극소수 국가를 제외하고는 국제적으로 사슴의 동결정액을 생산하여 공급하는 산업체가 거의 없는 실정으로 수출전략 및 벤처 사업으로도 가능성이 매우 높다.

특히 사슴은 야생사슴이 가축화되어 체계적인 사양기술이 적용된 것은 10~20년 전에서부터 비롯되었으며, 인공수정과 같은 번식기술은 불과 몇 년 전부터 시작되어 호주, 캐나다 및 뉴질랜드 등의 선진 양육국가에서 전략적으로 개발되어 녹용 최대 소비국인 우리 나라를 비롯한 동남아시아지역에 수출전략상품으로 연구 개발되어 오고 있다. 이러한 국제적 추세에 녹용수급의 자급률을 높이기

위해서는 국가적인 기술개발로 경쟁력을 강화해야 할 것이다.

2. 경제·산업적 측면

가. 사슴 및 녹용 수입 억제효과

1) 1997년에 수입한 미국 등에서 수입한 사슴은 2,819두로 4,232,486\$의 외화가 지출되었으며, 1992년부터 1997년까지 14,692두의 사슴이 수입되었고, 수입금액은 16,648,472\$이었으며,

2) 1998년 수입 건녹용각 및 생녹용각은 각각 38톤 및 20톤이었으나 그 중 불량품이 각각 5톤 및 1.7톤으로 외국산 녹용의 질이 우리 나라 기준에 미흡한 사례가 있었다고 보고된 바 있고,

3) 1997년에서 1999년까지 국내 녹용 생산량은 소비량의 20.9~32.8% 수준에 해당하므로 사슴 인공수정이 실용화되면 능력개량이 촉진되어 사슴 및 녹용 수입을 억제하는데 기여할 것이다.

나. 국내 양육농가 보호 및 소득기반 안정에 기여

인공수정으로 조기에 능력이 개량되어 사슴의 녹용 생산성과 품질이 향상되어 국제경쟁력을 높이고, 농가의 소득을 증가할 수 있다.

다. 경제성

사슴의 인공수정기술이 보급·확대되면 농가에서는 저렴한 비용으로 인공수정에 의해 사슴을 조기에 개량할 수 있고, 가축인공수정사의 활동영역이 넓어져 소득이 보장됨으로서 양육산업의 발전이 빠르게 이루어질 것이다.

외국인 시술자에 의해 인공수정시 시술료를 800천원~2,500천원을 지금까지 농가에서 부담하였다. 국내 가임 암사슴을 54,274두를 외국인 시술자에게 의뢰하여 인공수정시 43,419백만~135,685백만원이 지출되어야하나 국내에서 기술이 개발되면 16,282백만원(두당 최대 300천원)으로 외국시술자의 37.5% 수준의 비용으

로 우수한 사슴을 확보할 수 있다. 인공수정에 의해 능력개량으로 녹용의 생산량을 5kg 증가시킨다면 연간 두당 1,500천원의 수익을 추가로 보장할 수 있을 것이다.

3. 사회·문화적 측면

사슴의 인공수정기술이 실용화되면 능력개량 효과가 조기에 이루어져 국제경쟁력이 높아짐으로서 양록산업이 안정화 추세로 지속되고, 농가소득은 증대되며, 자연종부에서 비롯될 수 있는 사슴의 만성질병 발생율을 줄일 수 있다. 우리나라는 세계 최대 녹용 소비국이면서도 기술개발의 미진으로 녹용소비의 80% 이상을 수입에 의존하고 있으며, 수입량은 매년 증가추세에 있어 인공수정기술의 농가보급은 외화지출을 크게 줄일 수 있을 뿐만 아니라 오히려 중국 및 일본으로의 수출전략산업으로 발전할 수 있고, 소비자는 고품질의 녹용을 저렴한 가격으로 구입할 수 있을 것이다.

제 3절 국내·외 관련기술의 현황과 문제점

1. 국내의 기술현황

가. 축산기술연구소 본 연구팀에 의해 1996년 꽃사슴과 레드디어로 정액을 채취하여 성상과 동결·융해 후 활력을 조사한 바 있으나 녹용의 생산량이 가장 많은 엘크에 대한 연구보고는 없었다.

나. 사슴의 능력개량을 위해 인공수정을 희망하고 있으나 국내에는 전문가가 없고, 정액을 생산·보급하는 기관이 없기 때문에 외국의 기술자에 의해 두당 800천원~2,500천원의 고가의 시술료를 부담하면서 인공수정을 실시하고 있다.

다. 외국의 기술자의 농가 시술시 기술전수가 없어 국내의 인공수정에 대한

기술발전이 없고 외국에 지속적으로 의존해야할 실정이었다.

라. 소나 돼지의 인공수정과 관련된 기술은 외국의 수준과 차이가 없을 정도로 기술과 시설을 본 연구팀은 보유하고 있다.

2. 외국의 기술현황

가. 사슴에서 인공수정기술은 Jaczewski 등(1976)이 레드디어로부터 최초로 동결정액을 생산하였고, 그 이후 Asher 등(1988)등과 다른 연구자들에 의해 동결정액 인공수정으로 50~75%의 수태율을 나타내고 있다.

나. 사슴은 다두사육 및 방사로 발정관찰이 어렵기 때문에 인공수정을 위해 각종 호르몬에 의해 발정을 동기화 하는 기술이 다양하게 연구되어 산업화되고 있다.

다. 배란과 황체호르몬(P_4)의 분비, 발정지속 시간 등의 사슴의 번식생리에 대한 연구가 많이 이루어지고 있다.

라. 뉴질랜드에서는 4월 중순에서 5월 초순에 꽃사슴의 첫 발정이 나타나며, 대부분의 사슴은 한 축군 내에서 발정개시 계절의 12~14일 이내에 자연적인 발정이 동기화 된다고 하였다.

마. 북미에서는 종록 Contest에 입상한 사슴에 대하여 정액 생산용 종록으로 인정함으로써 혈통을 높이 평가하고 있으며, 우리 나라에 정액판매를 목표로 종록을 개량하고 있다.

제 2장 사슴의 동결정액 생산기술 개발

제 1절 서설

인공수정의 실용화를 위해서는 우수한 종족으로부터 생산된 정액을 손상 없이 보존하였다가 주입해야 수태율이 높아지므로 정액의 동결보존 기술은 매우 중요하다. 사슴은 계절번식동물로서 수사슴도 번식계절이 아니면 정액의 성상이 불량하여 생산이 어려운 것으로 알려져 있으나 이에 관한 연구보고는 많지 않다. 사슴은 야생성이 그대로 남아 있고, 특히 번식계절에는 사람의 접근이 어려우므로 소나 돼지처럼 인공질법에 의한 정액채취가 거의 불가능한 상태이므로 전신마취 후 전기자극법으로 정액채취를 실시해야 한다. 또한 종족의 연령에 따라 정액의 성상이 변화될 수 있으며, 항동해제의 종류와 첨가되는 생리활성물질에 따라 동결·융해 후 생존성이 다를 수가 있다.

중국 특산연구소에서는 매화록의 정액 채취를 위해서 전기자극 전압을 4~8V, 전류를 200~500MA하였을 때의 사정량은 $2.35 \pm 1.14\text{ml}$ 였으며, 활력은 40~70%이었고, 동결 전에 활력이 $64 \pm 17\%$ 인 정액을 동결 후 융해하였을 때 $33 \pm 0.04\%$ 수준이었으며, 또한 정액의 기형율이 동결전에는 $19.73 \pm 2.15\%$ 였으나 동결후 융해시에 $46.27 \pm 2.52\%$ 로 동결에 따른 기형율과 활력의 변화가 심한 것으로 나타났다고 보고했다.

따라서 사슴의 동결보존에 미치는 다양한 요인에 대한 연구로 우수한 종족으로부터 동결정액 생산기술을 확립하고자 수행하였다.

제 2절 연구개발의 내용과 범위

1. 공시축

인공수정용 정액채취를 위한 종록은 농가에서 보유하고 있는 능력이 우수한 수사슴 중에서 표 1의 기준에 부합되는 종록을 선정하였으며, 그 외 시험용은 기준과 관계없이 농가에서 제공하는 수사슴을 정액생산용 종록으로 공시하였다.

표 1. 종록의 선정기준

품 종	녹용 생산량	나 이	외모 및 혈통
엘 크	17kg 이상	3세 이상	○ 품종 특유의 특징 보유
레드디어	6kg 이상	2세 이상	○ 혈통을 보유하고 있는 개체
꽃 사슴	2kg 이상	2세 이상	○ 녹용의 품질이 우수한 개체

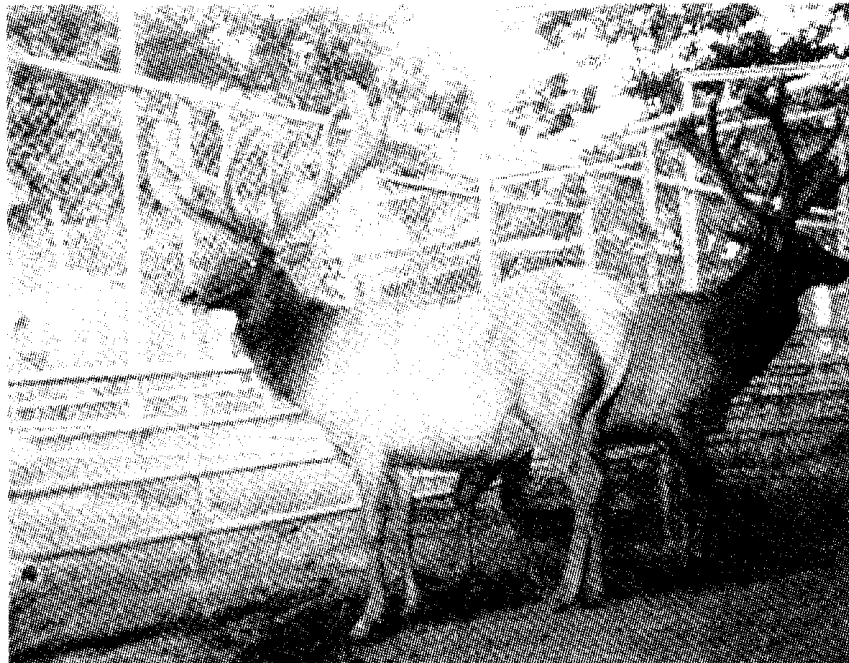


그림 1. 인공수정용 정액채취에 공시된 엘크 수사슴

2. 정액채취

가. 마취

정액채취를 위한 마취는 엘크의 경우 Fentazin-10(동방주식회사, 한국)을 체중 100kg당 0.5ml를 주사하고, 레드디어 및 꽃사슴은 Ketamine HCL(Ketaset, USA)을 체중 kg당 2mg과 Xylazine.HCL(Rompun, USA)을 체중 kg당 0.25mg을 Blow gun으로 주사하여 전신 마취하였다.

나 정액채취

마취후 외부생식기를 세척, 소독하고 음경을 외부로 돌출시켜 멸균거즈로 살며시 감싸권 후 그림 2의 전기자극기를 직장 내에 삽입하고 천추부위를 3~5초간 통전, 3~5초간 절전으로 수회 반복 자극하여 정액을 채취하였다.

인공수정용 정액생산을 위해 채취하는 종록은 차기년도 녹용 생산성에 영향을 미치지 않도록 최소한의 회수로 채취하였다.

3. 동결정액 제조

본 연구에 사용된 동결보존액은 기본적으로 이 등(1996)이 개발한 희석액을 1차 희석액으로 사용하였으며, 성분은 20% 난황, 1.6% Glucose(Sigma, USA), 1.6% Fructose(Sigma, USA), 1.2% Tes-N-tris(Sigma, USA), Penicillin 1,000IU/ml(Sigma, USA), Stretomycine sulfate(Sigma, USA) 1mg/ml, 0.5% Orvus Es Paste(NOVA chemical sales, USA)가 함유되었다. 2차 희석액은 1차 희석액에 16% glycerol, 1.8M ethylene glycol(Sigma, usa) 또는 0.5% polyethylene glycol(Sigma, usa)이 함유되도록 하여 동해방지제의 종류가 동결융해 후 사슴 정액에 미치는 영향을 조사하였으며, 동결융해 후 생존성과 활력을 개선하기 위하여 2차 희석액에 BSA(0.1%, Sigma, USA), herparin(10 μ g/ml, Sigma, USA)과 녹용액기스 및 수사슴 혈청을 각각 0.1, 0.5 및 1.0%의 첨가수

준별로 첨가하여 동결 용해 후 활력을 조사하였다.

2차 희석액에 첨가되는 혈청은 절각 시기의 수사슴 경정맥으로부터 채혈하여 4℃의 냉장고에 12시간 이상 보관하였다가 혈청을 1500rpm으로 20분간 원심분리하여 -20℃의 냉동고에 보관하였으며, 정액에 첨가하기 전에 56℃ 항온수조에서 30분간 비동화시켜 사용하였다. 녹용엑기스는 절각된 생녹용을 -80℃의 냉동건조기(Freezer dryer, 일신랩, 한국)에서 1주일 이상 건조시켜 추출된 농축액을 혈청과 같은 방법으로 보관하였으며, 정액 첨가시에는 비동화시켜 사용하였다.

동결처리방법은 Monfort 등(1993)의 방법에 준하되 채취 직후 상온(20℃~25℃)에서 1차 희석액으로 정액과 1:1로 희석한 후 정액성상 검사를 실시하고 정자농도가 1.6×10^8 sperm/ml 및 3.2×10^8 sperm/ml 되게 추가 희석한 다음 5℃까지 1~2시간에 걸쳐 냉장하였다. 냉장된 정액은 항동해제가 포함된 2차 희석액(5℃)으로 최종 1차 희석된 정액과 1:1로 서서히 희석하였다. 최종 2차 희석된 정액을 0.25ml 또는 0.5ml straw 에 분주, 봉합한 다음 Ø 2cm, 30cm 길이의 수직 파이프에 정치시켜 액체질소내에서 10분간 예비동결 후 액체질소에 침적시켜 동결하였다.

4. 정액성상 검사

채취된 정액은 정자농도, 활력 및 생존율 등의 일반검사를 실시하였으며, 정상 두모율은 Pursel 등(1975)의 방법으로 조사하였고 침체반응율은 Didion 등(1989)의 방법에 따라 2중 염색법으로 실시하였다.

제 3절 연구결과 및 고찰

1. 번식 및 비번식계절에 있어서 정액성상

엘크, 레드디어 및 꽃사슴 각각 3두에 대하여 번식계절(9~1월)과 비번식계절(2~8월)에 전기자극법으로 정액을 채취하여 정액성상을 조사한 결과는 표 2와 같다. 번식계절의 정액량은 각각 8.24, 2.50 및 1.50ml로 엘크가 다른 품종보다 정액량이 많았으며, 비번식계절의 정액량은 각각 0.43, 0.75 및 0.33ml로 레드디어가 다른 품종보다 다소 많이 채취되었다.

번식계절에 채취된 꽃사슴의 정액량은 Trothan 등(1994)은 farrow deer에서 전기자극방법으로 번식계절에 0.5~1.5ml의 정액을 채취하였다고 한 보고와 유사한 결과를 나타내었다. 엘크의 경우 번식계절의 정액량이 다른 품종에 비하여 많이 나타난 것은 정액 전구물질이 많았거나 오즙이 다소 혼입된 것으로 사료되었다. 레드디어의 경우 비번식계절의 정액량이 0.75ml 수준이었던 것은 다른 품종에 비해 번식계절 도래시기가 다소 빠른 것에 기인된 것으로 사료되며, 비번식계절의 정액도 일부 인공수정에 이용할 수 있음을 알 수 있었다. 한편 품종별 정액량에 대해서 많은 차이가 나타난 것은 전기자극법에 의한 정액채취방법이

표 2. 번식 및 비번식계절이 정액량에 미치는 영향

품 종	채취두수	정 액 량 (ml)	
		번식계절(9~1월)	비번식계절(2~8월)
엘 크	3	8.24	0.43
레드디어	3	2.50	0.75
꽃 사 슴	3	1.50	0.33

채취시마다 변이가 심하여 더욱 개선되어야 할 것으로 사료되었다.

번식 및 비번식계절에 따른 정자농도는 엘크, 레드디어 및 꽃사슴이 각각 24.6, 27.5 및 18.2×10^8 sperm/ml와 8.6, 10.2 및 6.5×10^8 sperm/ml로 번식계절의 정자농도가 비번식계절보다 높게 나타났으며, 레드디어의 정자농도가 다른 품종보다 많았다(표 3).

표 3. 번식 및 비번식계절이 정자농도에 미치는 영향

품 종	채취두수	정자농도 ($\times 10^8$ sperm/ml)	
		번식계절(9~1월)	비번식계절(2~8월)
엘 크	3	24.6	8.6
레드디어	3	27.5	10.2
꽃 사 슴	3	18.2	6.5

정액 활력은 번식계절에서 72.5~88.3%로 비번식계절의 25.8~65.0% 보다 양호한 성적을 나타냈다(표 4).

표 4. 번식 및 비번식계절이 활력에 미치는 영향

품 종	채취두수	활 력 (%)	
		번식계절(9~1월)	비번식계절(2~8월)
엘 크	3	88.3	61.7
레드디어	3	83.2	65.0
꽃 사 슴	3	72.5	25.8

2. 정액채취방법이 정액성상에 미치는 영향

엘크사슴에 대하여 3~5초간 통전 및 3~5초간 절전의 방법으로 전기자극을 하였을 때 전기자극의 크기와 회수에 따른 채취된 정액량은 표 5와 같다.

9~12V 전기에서는 1~3회의 전기자극에서 0.6ml의 정액을 채취하여 4~6회와 7~10회 자극보다 많은 정액을 채취하였고, 13~24V 전기에서도 1.9ml의 정액을 채취하여 4~6회와 7~10회 자극보다 많은 정액을 채취하였다.

표 5. 엘크사슴에서 전기자극의 크기와 회수에 따른 채취 정액량

전기자극의 크기	공시두수	전기자극 회수에 따른 정액량(ml)		
		1~3회	4~6회	7~10회
9 ~ 12V	3	0.6	0.3	0.2
13 ~ 24V	3	1.9	1.3	0.6

표 6. 엘크사슴에서 전기자극의 크기와 회수에 따른 채취 정액의 정자농도

전기자극의 크기	공시두수	전기자극의 회수에 따른 정자농도 ($\times 10^8$ sperm/ml)		
		1~3회	4~6회	7~10회
9 ~ 12V	3	18.5	4.32	2.9
13 ~ 24V	3	17.4	6.0	6.0

전기자극의 크기와 회수에 따른 채취된 정액의 정자농도는 표 6에서 보는 바와 같이 9~12V 및 13~24V 전기에서 1~3회의 자극회수가 적은 경우 각각 18.5 및 17.4×10^8 sperm/ml로 9~12V에서 정자농도가 다소 높게 나타났다. 자극

회수가 많아질 수록 전기자극의 크기에 관계없이 정자농도가 낮아지는 경향을 나타내었다.

표 7은 전기자극의 크기와 회수에 따른 채취된 정자의 활력을 나타낸 것으로 9~12V에서는 1~3회의 자극에서 82.5%로 4~6회 및 7~10회 보다 양호하였으며, 13~24V에서는 4~6회가 92.6%로 활력이 좋았다. 따라서 전기자극법에 의한 정액채취시 정액성상은 대부분이 전기자극 회수를 적게하였을 경우가 전기자극 회수가 많은 것보다 양호한 경향을 나타내었다.

표 7. 엘크사슴에서 전기자극의 크기와 회수에 따른 채취 정자의 활력

전기자극의 크 기	공시두수	전기자극의 회수에 따른 활력(%)		
		1~3회	4~6회	7~10회
9 ~ 12V	3	82.5	75.5	75.0
13 ~ 24V	3	90.0	92.6	87.5

전기자극기를 직장내에 삽입하고 12~24V의 전기자극으로 천추부위를 3~5초간 통전, 3~5초간 절전으로 수회 반복하였을 때 사정되는 정액의 분획에 따른 성상을 조사한 결과는 표 8, 9, 10과 같다. 채취된 정액의 양은 2차 분획에서 꽃사슴, 레드디어 및 엘크가 각각 2.3, 2.8 및 8.5ml로 1차 분획과 3차 분획보다 많았다.

정자의 농도는 꽃사슴과 레드디어가 2차 분획에서 각각 44.0×10^8 sperm/ml과 3.2×10^8 sperm/ml, 엘크는 1차 분획에서 60.0×10^8 sperm/ml로 다른 분획보다 정자농도가 높았다.

정자의 활력은 꽃사슴과 엘크가 2차분획에서 90%, 레드디어는 1차 분획에서 90%를 나타내었다. 사슴의 품종에 따라 분획에 따른 정액성상이 차이가 있었으나 1차 분획과 2차 분획에서 양호한 성상을 보였다.

표 8. 전기자극법에 의한 정액채취시 분획에 따른 정액량

품 종	공시두수	정액량 (ml)		
		1차 분획	2차 분획	3차 분획
엘 크	4	2.3	8.5	0.6
레드디어	3	1.7	2.8	0.8
꽃 사슴	2	0.3	2.3	2.1

표 9. 전기자극법에 의한 정액채취시 분획에 따른 정자농도

품 종	공시두수	정자농도 ($\times 10^8$ sperm/ml)		
		1차 분획	2차 분획	3차 분획
엘 크	4	60.0	0.7	0.40
레드디어	3	0.8	3.2	0.04
꽃 사슴	2	3.0	44.0	0.75

표 10. 전기자극법에 의한 정액채취시 분획에 따른 정자활력

품 종	공시두수	정 자 활 력 (%)		
		1차 분획	2차 분획	3차 분획
엘 크	4	80	90	70
레드디어	3	90	80	70
꽃 사슴	2	65	90	60

3. 생리활성물질의 첨가 종류 및 수준이 동결된 정액의 용해 후 정액 성상에 미치는 영향

사슴정액의 동결보존액을 개발하기 위하여 m-BF5F 보존액에 2차 희석시 생리활성물질을 첨가하여 동결용해한 엘크사슴 정자의 활력과 정상 두모율을 조사한 결과는 표 11과 같다. BSA가 첨가되었을 때의 활력 및 정상 두모율은 68.3% 및 48.3%, heparin 첨가시에는 63.5% 및 60.8%, BSA와 heparin을 함께 첨가시는 69.4% 및 59.8%, 혈청을 첨가시는 70.0% 및 57.5%, 녹용추출액 첨가시는 67.5% 및 58.4%로 m-BF5F 보존액에 생리활성물질을 첨가하지 않은 대조구의 56.2% 및 52.5%보다 생리활성물질을 첨가하였을 때가 활력과 정상 두모율이 대

표 11. 생리활성물질의 첨가 종류가 정액의 동결용해 후 성상에 미치는 영향

보 존 액	동결용해 후 성상 (%)	
	활 력	정상두모율
mBF5F ¹⁾	56.2	52.5
mBF5F + BSA ²⁾	68.3	48.3
mBF5F + Heparin ³⁾	63.5	60.8
mBF5F + BSA ²⁾ + Heparin ³⁾	69.4	59.8
mBF5F + Serum ⁴⁾	70.0	57.5
mBF5F + 녹용추출액 ⁵⁾	67.5	58.4

¹⁾ 대조구

²⁾ Bovine serum albumin을 0.1% 수준이 되게 첨가

³⁾ Heparin을 10 μ g/ml으로 되게 첨가

⁴⁾ 혈청(Serum)을 0.5% 수준이 되게 첨가

⁵⁾ 녹용추출액이 0.5% 수준이 되게 첨가

체로 양호하였다. 첨가한 생리활성물질 중에 정자의 활력은 혈청 첨가가 다른 물질보다 양호한 성적을 나타내었고, 정상 두모율은 heparin 첨가가 좋은 성적을 나타내었다.

이러한 결과로 미루어보아 사슴 정액의 동결융해 후의 활력을 개선하기 위해서는 녹혈에서 회수한 혈청 첨가가 좋으며, 정자 손상을 감소시키기 위해서는 BSA와 heparin의 첨가가 효과적인 것으로 사료되었다.

동결정액의 융해 후 생존성을 개선하기 위하여 m-BF5F 보존액에 생리활성물질인 녹용추출액 및 수사슴 혈청을 각각 0.1, 0.5 및 1.0% 수준으로 첨가하여 동결융해 후 활력을 조사한 결과는 표 12와 같다.

엘크와 꽃사슴에서 모두 수사슴의 혈청 첨가가 녹용추출액 첨가보다 다소 활력이 높게 나타났으며, 엘크사슴에서는 녹용 추출액 및 혈청을 1% 수준으로 첨가하였을 때가 활력이 양호하였으며, 꽃사슴은 혈청 1% 첨가시 가장 좋은 성적을 나타내었다.

표 12. 생리활성물질의 첨가 수준이 동결융해 후 정자의 생존성에 미치는 영향

구 분	첨가수준 (%)	품종별 동결융해 후 활력(%)	
		엘 크	꽃사슴
대 조 구	0.0	63.5	47.3
녹용추출액	0.1	60.8	50.8
	0.5	65.0	45.0
	1.0	70.3	50.3
혈 청 ¹⁾	0.1	65.3	55.3
	0.5	67.5	59.0
	1.0	72.0	62.0

¹⁾수사슴의 혈청

4. 정액의 동결과정 중 정자활력 변화

사슴정액을 mBF5F보존액으로 0.25ml 및 0.5ml 스트로에 주입하여 동결하였을 때에 동결과정 중 정자활력 변화를 조사한 결과는 표 13과 같다. 채취시의 활력은 75.5~92.3%이었으나 glycerol 평형 후에는 65.0~83.3%이었다. 예비동결시 활력은 0.25ml 스트로에서는 45.5~67.5%, 0.5ml 스트로에서는 35.0~62.5%였고, 동결·용해 후 정자활력은 0.25ml 스트로에서는 42.3~65.0%, 0.5ml 스트로에서는 25.0~57.3%로 개체에 따라 차이는 있지만 0.25ml 스트로에 정액을 주입하여 동결하였을 때가 0.5ml 스트로보다 다소 활력이 좋은 것으로 나타났다.

표 13. 개체별 및 포장용기에 따른 동결과정 중 정자 활력의 변화

품 종	개 체 번 호	채 취 회 수	활 력 (%)					
			채취시	Glycerol 평형 후	예비동결 후		용해 후	
					0.25ml straw	0.5ml straw	0.25ml straw	0.5ml straw
엘 크	유원 1호	2	80.0	75.0	67.5	62.5	65.0	57.3
엘 크	화성 2호	2	82.5	72.5	65.0	57.3	57.5	55.0
엘 크	성춘 1호	3	80.0	65.0	55.0	57.5	47.5	47.5
레드디어	107	3	92.3	83.3	62.3	50.3	58.3	45.5
꽃 사슴	32	2	75.0	70.0	45.5	35.0	42.3	25.0

이와 같은 결과는 개체별 품종별 내동성에 대한 차이로 동결정액 제조시 내동성의 차이에 따른 종록 선발에 기초자료로 활용할 수 있을 것으로 사료되었다. 특히 꽃사슴의 경우에는 계절번식시기가 엘크 및 레드디어보다 늦게 시작됨으로 동결과정 중의 정자활력이 다소 낮게 나타났다.

5. 동해보호제가 동결·융해 후 정자의 생존성에 미치는 영향

동해보호제의 종류가 동결융해 후 정자의 활력에 미치는 영향을 조사한 결과는 표 14와 같다.

번식계절(9~1월)에 전기자극법으로 엘크, 레드디어 및 꽃사슴의 정액을 채취하여 동해보호제로 glycerol, ethylene glycol 및 polyethylene glycol를 사용하였을 때 동결융해 후 정자의 활력은 3품종 사슴 모두 glycerol이 다른 동해보호제보다 다소 높은 활력을 나타내었다.

표 14. 동해보호제가 동결 융해 후 사슴 품종별 정자의 생존성에 미치는 영향

품 종	채 취 두 수	채취시 활력(%)	동결융해 후 활력(%)		
			Glycerol ¹⁾	Ethylene glycol ²⁾	Polyethylene glycol ³⁾
엘 크	3	85.3	62.5	59.7	25.5
레드디어	2	92.5	65.5	63.5	35.8
꽃 사 슴	3	78.5	52.3	50.3	22.8

¹⁾1차 희석액에 glycerol 16.0% 함유

²⁾1차 희석액에 ethylene glycol 1.8M 함유

³⁾1차 희석액에 polyethylene glycol 0.5% 함유

동해보호제로 이용되는 침투성 동해보호제(glycerol 및 ethylene glycol)가 비침투성 동해보호제(polyethylene glycol)보다 다소 좋은 성적을 나타내었다. 엘크 사슴에서는 채취시 정자활력이 85.3%에서 동결융해 후 62.5%로 내동성이 다소 좋은 것으로 나타났다.

그러나 glycerol 첨가 수준과 침투성 및 비침투성 동해보호제의 혼합 첨가가

생존성에 미치는 영향에 관해서는 추후 연구가 더 필요할 것으로 사료되었다.

6. 동결·융해 후 정자의 배양시간에 따른 생존성의 변화

품종별 사슴 정액을 동결·융해하여 37.5℃ CO₂ 배양기에서 2, 6, 12 및 24시간 동안 TCM-199배양액에 배양시켜 활력을 조사한 결과는 표 15와 같다. 동결·융해 후 사슴정액의 생존성(활력)은 12시간 이후에는 5.2~15.8%로 매우 낮은 수준으로 유지되었으며, 특히 꽃사슴의 경우에는 거의 사멸된 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 사슴 인공수정도 다른 가축과 마찬가지로 동결정액 인공수정시에는 배란에 가까운 시간에 정액이 주입되어야 한다는 것을 의미하는 것으로 사료된다.

표 15. 동결·융해 후 배양시간이 사슴 정자의 생존성에 미치는 영향

품 종	융해직 후 활력 (%)	배양시간에 따른 활력(%)			
		2 h	6 h	12 h	24 h
엘 크	65.8	41.5	21.5	11.5	5.5
레드디어	68.3	45.8	25.8	15.8	12.5
꽃 사슴	52.5	38.0	26.2	5.2	0.0

7. 종록의 연령이 정액성상에 미치는 영향

사슴 정액의 생산성과 종록 이용효율을 제고시키기 위하여 번식 및 비번식계절에 있어서 정액채취시 엘크 수사슴의 연령이 정액 성상에 미치는 영향을 조사한 결과는 표 16, 17, 18과 같다. 18~24개월령의 수사슴의 비번식계절에 채취

한 정액량은 0.2ml이었으나 번식계절에는 0.9ml로 정상적인 수준을 나타내었다. 11세의 수사슴 1두로부터 비번식계절의 정액채취는 실패하였으며, 번식계절의 경우에도 적은 양의 정액이 채취되었다.

비번식계절에는 나이 어린 젊은 종록의 정액량이 나이 많은 종록보다 적게 나타나는 경향을 보였으나 번식계절에는 3~5세 종록의 정액량이 다른 연령의 종록보다 많이 채취되었다. 그러므로 인공수정에 이용될 종록은 3~10세가 적당한 것으로 사료된다.

18~24개월령의 수사슴의 비번식계절에 채취한 정액의 정자농도는 0.1×10^8 sperm/ml 였으며, 6~10세 수사슴은 6.5×10^8 sperm/ml로 다른 연령의 수사슴보다 높게 나타났으나 번식계절의 경우에는 3~5세의 수사슴에서 가장 높은 정자농도를 나타내었다.

수사슴의 연령이 채취정액의 정자활력에 미치는 영향은 비번식계절의 정자활력은 18~24월령 수사슴은 45.58%로 낮았으나 번식계절에는 90.3%로 양호한 활력을 보였다. 번식계절의 정자활력은 75.0~95.0%로 비교적 매우 높은 활력을 나타내었으며, 3~5세의 종록에서 가장 높게 나타났다.

표 16. 수사슴의 연령이 채취 정액량에 미치는 영향

연령	번식계절 (9~1월)		비번식계절 (2~8월)	
	공시두수	정액량(ml)	공시두수	정액량(ml)
18~24월령	1	0.9	2	0.2
3 ~ 5세	4	1.6	2	0.5
6 ~ 10세	2	1.3	2	1.3
11세	1	0.6	1	0.0

표 17. 수사슴의 연령이 채취 정자농도에 미치는 영향

연령	번식계절 (9~1월)		비번식계절 (2~8월)	
	공시두수	정자농도 ($\times 10^8$ sperm/ml)	공시두수	정자농도 ($\times 10^8$ sperm/ml)
18~24월령	1	8.6	2	0.1
3 ~ 5세	4	19.5	2	2.2
6 ~ 10세	2	15.0	2	6.5
11세	1	5.2	1	-

표 18. 수사슴의 연령이 채취 정자활력에 미치는 영향

연령	번식계절 (9~1월)		비번식계절 (2~8월)	
	공시두수	활력(%)	공시두수	활력(%)
18~24월령	1	90.3	2	45.5
3 ~ 5세	4	95.0	2	65.0
6 ~ 10세	2	77.5	2	79.8
11세	1	75.0	1	0.0

따라서 수사슴의 조정능력도 번식계절과 관계가 깊으며, 비번식계절이라하여도 조정능력은 완전히 중단되지 않은 것으로 사료되었고, 번식계절에 가까운 시기에는 정액생산이 가능함을 제시하여 주었다. 특히 6~10세의 수사슴에서는 비번식계절에서도 조정능력이 왕성함을 알 수 있었다.

Asher(1988)가 뉴질랜드에서 4세 종록의 정소직경이 11월(뉴질랜드는 남반구로 우리나라와 계절이 반대되는 관계로 번식계절이 4월경이 됨)에 최저 34mm 크기로 작아졌다가 4월경에는 50mm 크기로 발달되었다고 보고한 바 있다.

제 4절 결과요약

1. 엘크, 레드디어 및 꽃사슴 각각 3두로부터 번식계절(9~1월) 및 비번식계절(2~8월)에 전기자극법으로 정액을 채취하여 정액성상을 조사한 결과 비번식계절의 정액량은 각각 0.43, 0.75 및 0.33ml로 레드디어가 다른 품종보다 다소 높게 나타났으며, 번식계절의 정액량은 각각 8.24, 2.5 및 1.5ml로 엘크가 다른 품종보다 정액량이 높게 나타났다.
2. 엘크사슴에서 정액채취시 전기자극의 크기를 9~12V 및 13~24V 범위로 하여 3~5초간 통전 및 3~5초간 절전으로 1~3회 반복하였을 때 정액량은 각각 0.6ml 및 1.9ml로 전기자극 크기가 13~24V에서 높게 나타났다. 정자농도는 각각 18.5 및 17.4 $\times 10^8$ sperm/ml로 전기자극 크기가 9~12V에서 다소 높게 나타났다. 자극 회수가 많이 반복될 수록 전기자극의 크기에 관계없이 정자농도가 낮아지는 경향을 나타내었다.
3. 전기자극에 의한 정액채취시 1, 2 및 3차 분획의 정액량은 각각 0.3~2.3ml, 2.3~8.5ml 및 0.6~2.1ml로 2차 분획의 정액량이 많았으며, 정자농도는 1, 2차 분획의 정자농도가 3차 분획의 정자농도보다 다소 높게 나타났다.
4. 사슴정액의 동결보존액을 개발하기 위하여 m-BF5F 보존액에 2차 희석시 BSA(0.1%) 및 heparin(10 μ g/ml), 혈청(0.5%) 및 녹용엑기스(0.5%)을 첨가하였을 때 동결융해 후 정자활력은 각각 56.2, 68.3, 63.5, 69.4, 70.0 및 67.5%로 m-BF5F 보존액에 혈청첨가가 다른 처리구 보다 높게 나타났으나, 정상 두모율은 BSA+heparin 첨가가 59.8%로 높게 나타났다.
5. 동결·융해 후 생존성과 활력을 개선하기 위하여 희석액에 녹용엑기스 및 수사슴 혈청을 각각 0.1, 0.5 및 1.0%을 첨가하여 품종별 동결·융해 후 활력을 조사한 결과 수사슴 혈청이 녹용엑기스 보다 다소 높게 나타났으며 생리활성물질의 첨가는 대체적으로 첨가하지 않은 대조구보다는 높게 나타났다.

6. mBF5F보존액으로 정액을 동결하면서 동결과정 중 정자활력 변화를 조사한 결과 채취시의 활력은 75.5~92.3%이었으나 glycerol 평형 후에는 65.0~83.3%이었다. 동결·용해후 정자활력은 0.25ml 스트로에서는 42.3~65.0%, 0.5ml 스트로에서는 25.0~57.3%로 개체따라 차이는 있지만 0.25ml 스트로에 정액을 주입하여 동결하였을 때가 0.5ml 스트로보다 다소 활력이 좋은 것으로 나타났다.
7. 번식계절(9~1월)에 전기자극기로 채취한 정액을 1차 희석 처리 후 2차 희석시 보존액에 동해보호제로 16.0% glycerol, 1.8M ethylene glycol 또는 0.5% polyethylene glycol이 포함된 2차희석액과 1:1로 희석하여 동결하였을 때 동해방지제의 종류가 동결 용해 후 사슴 정액에 미치는 영향을 조사한 결과 glycerol의 경우 65.5~52.3%로 다른 동해보호제의 첨가보다 다소 높은 활력을 나타내었다.
8. 동결·용해 후 정자의 생존성은 12시간 이후에는 5.2~15.8%로 매우 낮은 수준으로 유지되었으며, 특히 꽃사슴의 경우에는 거의 사멸된 것으로 나타났다.
9. 수사슴의 연령이 번식 및 비번식계절의 정액채취시 정액성상에 미치는 영향을 조사한 결과 비번식계절의 경우 수사슴의 연령이 18~24 월령일때 정액량 및 정자농도가 0.2ml 및 0.1×10^8 sperm/ml로 매우 낮았으나 번식계절의 경우에는 0.9ml 및 8.6×10^8 sperm/ml로 정상적인 수준을 나타내었다.

제 5절 참고문헌

1. Asher GW, Day AM, Barrell GK. 1987. Annual cycle of lightweight and reproductive changes of farmed male fallow deer (*Dama dama*) and the effect of daily oral administration of melatonin in summer of the attainment of seasonal fertility. *J. Reprod. Fert.* 79:353-362.
2. Asher GW. 1993. Effects of an antiandrogen treatment on morphological characters and physiological functions of male fallow deer (*Dama dama* L.). *J Exp Zool.* 267(3):288-98.
3. Asher GW, Gallagher DS, Tate ML. 1999. Tedford C Hybridization between spotted deer (*Cervus nippon*) and axis deer (*Axis axis*). *J. Hered.* 90(1):236-40.
4. Kenneth G. Whitehead. *The whitehead encyclopedia of deer.* 1993. Swan Hill Press. P.29-32
5. Kennaway DJ, Rowe SA. 1995. Melatonin binding sites and their role in seasonal reproduction. *J. Reprod. Fertil., Suppl.* 49:423-35.
6. Kierdorf U. 1993. Circannual inter-relationships among reproductive hormones, gross morphometry, behaviour, ejaculate characteristics and testicular histology in Eld's deer stags (*Cervus eldi thiamin*). *J. Reprod. Fertile.* 98(2):471-80.
7. Kolle R, Chaplin RE. 1973. The influence of age and season on the activity of the testes and epididymides of the fallow deer, *Dama dama*. *J. Reprod. Fertil.* 30(3):361-9.

8. Loudon AS, Curlewis JD. 1989. Cycles of antler and testicular growth in an aseasonal tropical deer (*Axis axis*). *J. Reprod. Fertil.* 83(2):729-38.
9. Monfort SL. 1993. Seminal vesiculitis and epididymitis in an Anglo-Nubian buck. *J. Reprod. Fert.* 99:459-465.
10. Muir PD, Sykes AR, Barrell GK. 1998. Changes in blood content and histology during growth of antlers in red deer (*Cervus elaphus*) and their relationship to plasma testosterone levels. *J. Anat.* 158:31-42.
11. Newman RE, Foldes A, Maxwell CA, Rigby RD, Wynn PC. 1991. Identification of a seasonal elevation in daytime melatonin levels associated with the rut in fallow bucks (*Dama dama*): the effect of day length and exogenous melatonin. *J. Pineal. Res.* 11(3-4):101-10.
12. Rolf HJ. 1993. Effects of an antiandrogen treatment on the antler cycle of male fallow deer (*Dama dama* L). *J. Exp. Zool.* 266(3):195-205.
13. Suttie JM, Lincoln GA, Kay RN. 1984. Endocrine control of antler growth in red deer stags. *J. Reprod. Fertil.* 71(1):7-15.
14. Suttie JM, Breier BH, Gluckman PD, Littlejohn RP. 1992. Webster JR Effects of melatonin implants on insulin-like growth factor 1 in malarred deer (*Cervus elaphus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* (1):111-9.
15. Timothy L Biel. 1996. The deer family library Binding. Published by Creative Education. pp. 6-21.
16. Zomborszky Z, Zubor T, Toth J, Horn P. 1999. Sperm collection from shot red deer stags (*Cervus elaphus*) and the utilisation of sperm frozen

and subsequently thawed. Acta. Vet. Hung. 47(2):263-70.

18. 김찬규. 1993. 사슴사육과 관리. 오성출판사.
19. 성유석. 1999. 사슴과 곰 : 번식 사양 관리. 내외출판사.
20. 이장희, 김상우, 김인철, 이장형, 서경덕, 김창근. 1996. 재래가축 및 경제 동물의 동결정액 생산기술 개발에 관한 연구 II. 사슴. 1996년도 축산시험연구보고서 제 2권 종축개량부편. pp. 54-56.

여 백

제 3장 사슴의 발정동기화 및 인공수정기술 개발

제 1절 서설

1. 연구배경

사슴은 발정지속시간이 매우 짧고 인적이 거의 없는 조용한 시기에 교미가 이루어지기 때문에 일반적으로 농가에서 발정이 개시되는 시기에 발정과 교미행동을 관찰할 수 있는 것은 약 2% 정도만 가능하다. 그러므로 소나 돼지처럼 자연적으로 발정이 유기된 사슴을 찾아 인공수정을 거의 불가능하다. 사슴의 인공수정을 위한 발정동기화 방법에 대한 연구는 매우 많이 이루어져 다양한 방법들이 제시되고 있다. 발정주기 중에 prostaglandin $F_2\alpha$ 를 투여하거나 난포자극호르몬과 황체형성호르몬을 적절하게 투여하는 방법, 질내에서 황체호르몬이 지속적으로 분비될 수 있도록 개발된 기구인 Controlled Internal Drug Release를 이용하고, 발정 및 배란촉진 효과를 증대시키기 위해 성선자극 호르몬을 병용하는 방법 등이 이용되고 있다. 그러나 국내에서는 어느 방법이 효과적이라는 연구보고는 없다.

1994년부터 소수의 농가에서 외국으로부터 고가의 수입정액을 도입하여 외국의 전문가에 의해 시술하였으나 기술전수가 이루어지지 않아 국내 인공수정 확대를 위한 기술개발이 절실하였다. 또한 IMF 영향으로 의해 사슴과 정액의 수입이 어려워짐에 따라 능력이 우수한 수사슴을 보유하고 있어도 연간 10~15두의 암사슴에게 교배가 가능하며, 일정기간 후에는 근친교배에 의한 능력의 퇴화 등 문제점이 발생할 우려가 있는 바 사슴의 능력개량을 위한 새로운 번식기술의 적용이 필요하였다.

궁극적으로 인공수정후 수태율이 높아야만 인공수정의 효과가 나타나므로 국내 사슴농가에서 적용할 수 있는 발정의 동기화 방법 및 시기, 적기 인공수정을 위한 발정주기의 생리변화 과정 등에 관한 연구를 실시하였다.

제 2절 연구개발의 내용과 범위

1. 공시축 및 시험대상 농가

표 1. 사슴 인공수정 대상 농가 및 시험두수

농장명	지 역	사육규모			인공수정 두수				
		암	수	계	'98	'99	'00	'01	계
축산연	충남 천안	120	80	200	7	15	26	26	74
백마강	충남 부여	30	20	50		8	10	-	18
유원	충남 예산	30	40	70	15	20	22	24	81
화성	충남 예산	20	10	30	10	15	12	12	49
도당골	충남 공주	20	20	40		10	-	-	10
엄마	충남 천안	15	15	30		9 ²⁾	10 ²⁾	9 ²⁾	28
회천	충남 천안	15	15	30		5	-	-	5
비룡	충남 아산	35	10	45	15	30	28	22	95
예산	충남 예산	20	20	40		6		-	6
대산	충남 부여	5	5	10			5		5
선화	대전 유성	25	19	44		20			20
해맑은	충북 영동	20	15	35			15	18	33
명천	충북 영동	50	50	100			30		30
약초	경남 함양	20	30	50		15	19	12	46
덕산	경남 산청	30	40	70		14 ²⁾		-	14
마그실	충북 충주	30	30	60			10	18 ²⁾	28
청록원	충남 청양	40	40	80		-		18 ¹⁾	18
환희	전남 나주	40	30	70			25	27	52
계	18농장	535	469	1,004	47	167	212	186	612

¹⁾레드디어 : 18두

²⁾꽃사슴 : 60두

*그 외는 엘크사슴

축산기술연구소와 17개 농가에서 사육하고 있는 엘크 534두, 레드디어 18두, 꽃사슴 60두 등 사슴 612두를 공시하였다. 시험대상 농가는 사슴의 능력개량에 대한 의지를 갖고 인공수정을 희망하며, 보정시설을 갖추 수 있는 표 11의 농가를 선정하였다.

2. 발정 및 배란 동기화

가. 호르몬처리

엘크의 발정동기화를 위한 호르몬처리는 보정틀을 이용하여 사슴을 보정시킨 후 CIDR(progesterone releasing device, Inter Ag, HAMILTON, NZ)를 질내삽입하였으며, CIDR 삽입 후 10~14일경에 CIDR를 제거하고 PMSG(Folligon, Intervet, Netherlands) 200~250IU를 근육주사하여 발정을 동기화시켰다. 배란유기를 위한 호르몬처리는 GnRH, LHRH 및 hCG(Chorulon, Intervet, Netherlands)를 투여하여 유기시켰다. GnRH의 경우에는 CIDR 제거 후(PMSG 주사) 24시간 후에 0.0084mg buserelin acetate(Receptal[®], Intervet, Holland)주사하였으며, LHRH의 경우에는 정액주입 직전에 100 μ g fertirelin(Conceral[®], 동방, 한국)주사하였다. hCG의 경우에는 CIDR 제거시 PMSG를 주사하지 않고 24시간 후에 500 IU를 주사하여 배란을 유기시켰다. 꽃사슴의 경우에는 펜타진으로 전신마취시킨 후 소형 CIDR 또는 60mg MPA(Medroxy-Progesterone Acetate)가 들어 있는 스폰지를 14일 동안 질내 삽입한 후 제거하고 PMSG 50~100IU를 근육 주사하여 발정을 동기화시켰다.

나. 발정관찰

CIDR제거 후 정관이 절제된 시정록과 합사 시켜 증가여부를 확인하거나 KAMAR(Kamar Inc., USA)를 암사슴의 등쪽 정중선의 미근부 약 20cm 상단에 부착시킨 후 인공수정 전 허용흔적 및 KAMAR의 파열여부로 발정발현을 확인하였다.

다. 인공수정직전 초음파 난소 진단

인공수정직전 6.5MHz 초음파진단기를 이용하여 난소내 난포발육 상태(그림 1) 및 황체유무를 검사하였다

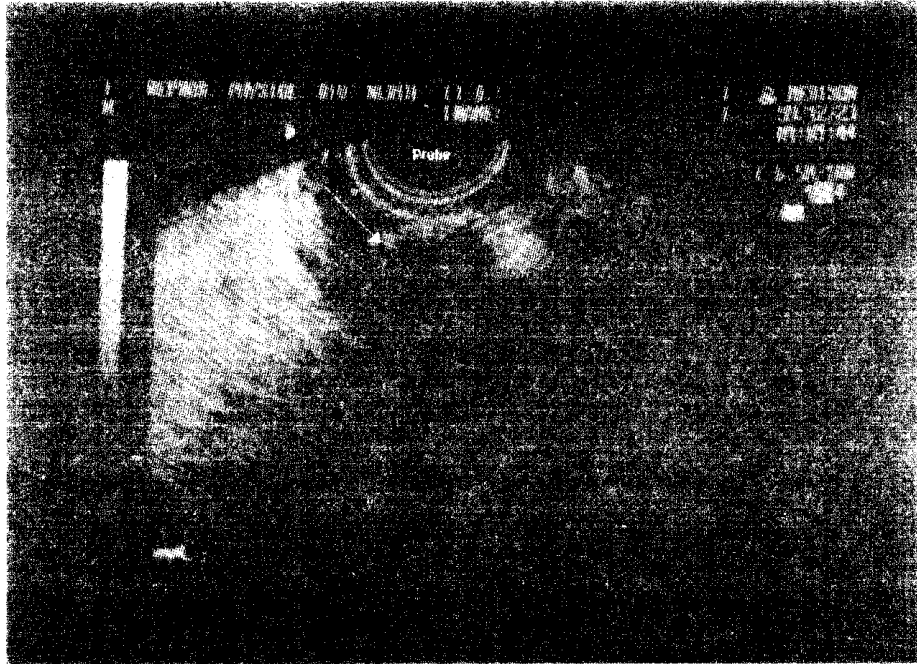


그림 1. 엘크의 발정주기 18일째 난포발달에 대한 초음파 화상

3. 인공수정

예정시각 인공수정을 위한 발정유기는 기본적으로 그림 2와 같은 방법으로 CIDR를 오전 9:00시에 질내 삽입하고, 12~14일 후 오전 6:00시에 제거하였다. CIDR 제거 후 60시간 때에 인공수정하였으며(2일 후 오후 6:00시), 수정회수, 주입시 농도, 발정동기화 방법 및 배란유기방법에 따른 번식성적을 조사하고, 정액의 주입부위가 수태율에 미치는 영향을 비교 조사하였다.

단계 1	암사슴선발/정액 확보
확인사항	포유자육 이유/강정사양

↓ 1 ~ 2주

단계 2	CIDR 질내 삽입
확인사항	생식기 이상 유무확인

↓ 12 ~ 14일

단계 3	CIDR 제거 및 PMSG 주사 (200~250 IU)
확인사항	질염 확인/소독(베타딘 5% 액), KAMAR 부착

↓ 60 ~ 64시간

단계 4	GnRH 주사(콘세탈 2ml) 및 인공수정
확인사항	KAMAR 파열확인/수양성 점액확인

↓ 15일 후 종록 합사

단계 5	임신진단
확인사항	20일 경과시 : P ₄ 분석(조기 진단) 40일 : 초음파진단

그림 2. 엘크사슴 인공수정 과정

4. 수태율 조사

차기 발정예정일에 발정여부를 관찰하고 수정 후 40~60일령에 직장검사 및 초음파진단기(Sonoace 1500, USA. 6.5MHz probe)를 이용하여 임신여부를 진단하고 수태율을 조사하였으며, 이듬해 분만된 성적에 의해 분만율과 쌍태 분만율을 조사하였다.

5. 호르몬분석

혈중 호르몬분석을 위해 약 10ml의 혈액을 경정맥에서 채혈하고 즉시 glass tube에 옮긴 후 4℃에서 12시간 보존한 다음, 1,500rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청(serum)을 분리한 후 분석시까지 -20℃에서 냉동보존하였다. 혈중 progesterone(P₄) 농도의 분석은 Walac Delpia 123(Delpia Co., Holland)을 이용하여 progesterone kit(Delpia, Co., 미국)로 분석하였다.

제 3절 연구결과 및 고찰

1. 발정주기 중 혈중 호르몬 농도 및 난포의 크기 변화

엘크 3두와 꽃사슴 2두로부터 발정주기 중 발정일(Day 1), Day 3, 6, 9, 12, 15, 18 및 21에 채혈하여 혈중 progesterone 농도를 측정한 결과는 표 2와 같다. 엘크 및 꽃사슴은 발정일에 혈중 progesterone 농도가 각각 4.4 및 1.7ng/ml였다. 발정주기중 혈중 progesterone 농도는 발정후 Day 9에 감소하였다가 Day 18에 엘크 16.0ng/ml, 꽃사슴 12.9ng/ml로 가장 높은 농도를 보였다.

표 2. 사슴의 발정주기중 혈중 progesterone농도의 변화

품 종	공시 두수	발정주기 중 progesterone 농도(ng/ml)							
		Day 1	Day 3	Day 6	Day 9	Day 12	Day 15	Day 18	Day 21
엘 크	3	4.4	4.2	3.8	2.4	3.0	5.8	16.0	7.3
꽃사슴	2	1.7	4.1	4.6	1.7	7.3	10.6	12.9	0.2

*Day 1 = 발정일(estrus)

엘크사슴에 있어서 발정주기중 난포크기를 초음파화상으로 측정하였을 때 성숙하여 배란되어지는 난포크기는 표 3에 나타난 바와 같았다. Day 1(발정일), Day 6, Day 12 및 Day 18의 평균 난포크기는 각각 2.51, 4.02, 6.32 및 8.91mm였으며 18일째 난포가 가장 크게 나타났다.

이상의 결과로 사슴의 발정주기 중 난포의 크기는 발정주기중 18일경이 가장 크게 나타났으며, 발정주기의 6일경부터 난포기로 접어드는 것으로 관찰되었다.

표 3. 엘크사슴에서 발정주기중 난포의 크기

공시두수	발정주기 중 난포의 직경(mm)							
	Day 1	Day 3	Day 6	Day 9	Day 12	Day 15	Day 18	Day 21
3	2.51	2.85	4.02	5.45	6.32	7.46	8.91	6.68

*Day 1 = 발정발현일

2. 발정동기화처리 후 발정 발현을 및 혈중 P₄ 농도의 변화

축산기술연구소 및 농가에서 사육중인 엘크 암사슴 91두에 대하여 CIDR를 삽입하였다가 12~14일 경과 후 CIDR을 제거하고 PMSG 200~250IU를 근육주사하여 발정을 동기화한 결과 발정 발현율은 표 4와 같다.

표 4. CIDR 삽입·제거에 의한 발정동기화처리 후 발정 발현율

농장명	공시두수	발정발현두수(%)		
		KAMAR 파열	허용흔적	계
A	16	6 (37.5)	8 (50.0)	14 (87.5)
B	23	9 (39.1)	13 (56.5)	22 (95.7)
C	21	6 (28.6)	14 (66.7)	20 (95.2)
D	15	5 (33.3)	10 (66.7)	15 (100.0)
E	16	7 (43.8)	8 (50.0)	15 (93.8)
계	91	33 (36.3)	53 (58.2)	86 (94.5)

CIDR삽입에 의한 발정동기화로 87.5~100.0%(평균 94.5%)발정 발현율을 나타내었으며, KAMAR이 파열된 것은 36.3%였고, KAMAR은 파열되지 않고 허용흔적이 있는 사슴은 58.2%로 KAMAR의 파열이 부진한 것은 소에서 사용하는 것을 사용하였기 때문인 것으로 추측된다. 이러한 결과는 아직까지 사슴의 발정 관찰이 용이하지 못하고 승가흔적에 의한 육안적 판단하게 되므로 추후 정확한 발정탐지방법의 개선이 이루어져야 할 것으로 사료되었다.

표 5는 CIDR삽입에 의한 엘크사슴의 발정동기화 처리과정중 혈중 P₄ (progesterone) 농도의 변화를 조사한 것이다. CIDR 삽입시 P₄ 농도는 6.78 이었고, CIDR 제거시에는 4.67 이었으며, 발정기인 인공수정시는 1.67로 현저히 낮은 수치를 나타냈다.

표 5. 발정동기화 처리과정중 혈중 progesterone농도의 변화

처 리 별	공시두수	혈중 P ₄ 농도(±SD)
CIDR삽입 시	10	6.78 ± 6.50
CIDR제거 시	6	4.67 ± 3.15
인공수정 시	6	1.67 ± 6.18

표 6은 2개 농장에 대하여 발정동기화처리 후 수정직전 난소의 난포발육상태에 대한 초음파진단 소견을 나타낸 것으로 A 및 B농장의 경우 각각 18두 및 25두 중 난소내 황체를 보유하고 있는 개체가 각각 4두 및 7두로 나타났으며, 수정후 배란이 예측되는 성숙난포를 보유하고 있는 사슴은 A농장 14두(77.8%), B농장 18두(72.0%)였다.

표 6. 발정동기화처리된 엘크사슴의 인공수정 직전 초음파 난소진단 결과

농장	조사두수	인공수정 직전 난소(%)	
		성숙난포보유두수	황체보유두수
A	18	14 (77.8)	4 (22.2)
B	25	18 (72.0)	7 (28.0)

3. 발정동기화방법에 따른 인공수정 수태율

엘크사슴에 92두에 대하여 CIDR삽입·제거후 성선자극호르몬의 투여에 의한 발정동기화방법을 구분하여 인공수정하고 수정후 60일경에 초음파임신진단법으로 수태율 및 분만율을 조사한 결과는 표 7과 같다. PMSG 단독투여구의 수태율은 50.0%, PMSG와 GnRH 투여구에서는 52.2%, PMSG와 LHRH 투여구에서는 67.5%를 나타내어 PMSG와 LHRH 투여구가 가장 높은 수태율을 나타내었다. 분만율은 PMSG 단독투여구 36.4%, PMSG와 GnRH 투여구 43.5%, PMSG와 LHRH 투여구 35.0%를 나타내어 PMSG와 GnRH 투여구가 가장 높은 분만율을 나타내었다. 사슴은 발정기간이 짧기 때문에 정확하게 배란시기를 맞추어 인공수정하는 것이 어렵다. Jabbour 등(1994)은 배란의 유기에 의한 수태율을 향상시킬 수 있다고 하였다. 따라서 CIDR삽입·제거후 PMSG 투여 및 배란촉진을 유도하는 물질을 투여하는 것이 사슴의 인공수정 수태율을 높일 수 있는 효과적인 방법으로 추정된다.

분만율이 수태율보다 매우 낮게 나타난 것은 배아 조기사멸 및 유, 사산에 기인된 것으로 사료된다. 특히 사슴은 야생성이 존재하여 유, 사산을 하였을 경우에 새끼의 사체와 분비물 등을 흔적도 없이 섭취하는 습성이 있어 수태율에 비해 분만성적이 다소 낮게 나타나는 원인으로 여겨졌다.

표 7. 엘크사슴의 발정동기화방법에 따른 수정두율 및 분만율

발정동기화 방법	수정두수	임신두수(%)	분만율(%)
CIDR + PMSG	22	11 (50.0)	8 (36.4)
CIDR + PMSG + GnRH	23	12 (52.2)	10 (43.5)
CIDR + PMSG + LHRH	40	27 (67.5)	14 (35.0)
계	85	50 (58.8)	32 (37.6)



그림 3. 최초 국내산 동결정액 인공수정에 의해 엘크 자육 생산

4. 정액 주입시간에 따른 수태율

발정동기화처리를 위하여 CIDR삽입·제거하고 PMSG를 투여후 60, 62 및 64 시간에 인공수정하여 수정시간별 수태율을 조사한 성적은 표 8에서와 같다. PMSG 투여후 60시간에 인공수정한 처리구의 수태율은 84.6%, 62시간 처리구 47.6%, 64시간 처리구 92.2%로 64시간 처리구가 다소 높은 수태율을 나타내었다. 인공수정 시간에 따른 수태율의 차이는 향후 더 많은 연구가 이루어져 적기 인공수정시기를 밝히는 것이 중요하나 사슴의 인공수정 수태율은 스트레스가 수태율에 미치는 영향이 클 것으로 사료되므로 농가의 사슴 보정 및 계류시설을 적절히 갖추는 것이 중요하다고 생각한다.

표 8. 엘크사슴에서 인공수정 시간이 수태율에 미치는 영향

인공수정 시간*	수정 두수	임신두수	수태율(%)
60 h	13	11	84.6
62 h	15	7	47.6
64 h	14	13	92.2

* PMSG 투여후 인공수정시간

5. 정액의 주입부위 및 수정회수와 정자농도가 수태율에 미치는 영향

엘크사슴의 인공수정 회수가 분만율에 미치는 영향을 조사한 성적은 표 9에서 보는 바와같이 1회 및 2회 수정에서 60.0%를 나타내어 수정회수에 따른 분만율에는 차이가 없었다. 이는 사슴은 보정하기가 힘들고, 보정시 스트레스를 주게 되어 오히려 번식성적에 악영향을 미칠 수 있으므로 1회 수정이 효과적일 것으로 사료된다.

표 9. 엘크사슴의 인공수정 회수가 번식성적에 미치는 영향

수정회수	수정두수	분만두수	분만율(%)
1	25	15	60.0
2	10	6	60.0

표 10은 엘크사슴에서 인공수정시 정액 주입부위에 따른 분만율을 나타내었다. 자궁경관에 주입시의 분만율은 28.6%였으나 자궁체에 주입시는 67.9%로 자궁체에 정액을 주입하였을 때가 매우 높은 분만율을 나타내었다. 이는 발정상태가 양호한 개체는 자궁경관의 이완으로 자궁체에 주입이 용이하였기 때문으로 사료된다.

표 10. 엘크사슴의 인공수정 부위가 번식성적에 미치는 영향

주입부위	수정두수	분만두수	분만율(%)
자궁경관	7	2	28.6
자 궁 체	28	19	67.9

인공수정시 주입정자의 농도에 따른 수태율을 조사한 성적은 표 11과 같다. 주입정자의 농도를 2.0×10^7 sperm 및 4.0×10^7 sperm으로 주입하였을 때에 수태율은 각각 83.3 및 89.3%로 4.0×10^7 sperm에서 다소 높은 수태율을 나타내었으나 주입정자의 농도가 수태율의 개선 효과에는 크게 영향을 미치지 못하는 것으로 사료되었다.

표 11. 주입정자의 농도가 엘크사슴의 수태율에 미치는 영향

주입정자농도 ($\times 10^7$ sperm)	수정두수	임신두수	수태율(%)
2.0	12	10	83.3
4.0	28	25	89.3

Monfort 등(1993)은 4.0×10^7 sperm으로 수정하였을 때 50~75%의 수태율을 나타내었다고 보고하여 본 연구의 결과가 다소 높은 성적을 나타내었다.

6. 발정 및 배란동기화가 수태율 및 분만율에 미치는 영향

사슴의 예정시각 인공수정기술을 개발하기 위해 엘크 93두를 CIDR 삽입·제거 및 PMSG 투여에 의한 발정을 동기화유기하고, 배란을 동기화하기 위하여 CIDR 제거시 PMSG 200IU(T₁) 또는 250IU(T₂)를 근육주사하고 60시간 후 fertirelin acetate 100 μ g 주사하면서 인공수정을 실시하거나, CIDR 제거 후 24시간때에 hCG 500IU를 근육주사하고 12시간 후(CIDR 제거 후 36h) buserelin 0.0084mg를 주사하여 CIDR 제거 후 60시간 때에 인공수정(T₃)을 실시하였으며, 수정 후 40일경에 초음파진단으로 수태율과 분만된 자육에 의한 분만율을 조사한 결과는 표 12와 같다.

수태율은 T₁, T₂ 및 T₃ 처리구에서 각각 78.1, 84.8 및 86.7%로 T₂와 T₃ 처리구에서 높았으나 분만율은 59.4, 60.9 및 73.3%로 T₃ 처리구가 높았다. 따라서 성선자극호르몬의 투여량과 배란유기호르몬의 종류가 따라 수태율에 영향을 주는 것으로 사료되었으며, 특히 T₂ 처리구에서 1두가 쌍태분만을 하므로서 PMSG의 투여량이 영향을 준 것으로 추정된다. 그러나 수태율 및 쌍태 분만율을 높이기 위한 호르몬의 적정 투여량에 대하여는 추가적인 연구가 수행되어야

할 것으로 사료된다.

분만한 암사슴의 임신기간은 평균 249.5 ± 2.3 일이었다.

표 12. 발정 및 배란동기화 방법이 수태율 및 분만율에 미치는 영향

처리구	인공수정두수	임신두수(%)	분만두수(%) ¹⁾
T ₁	32	25(78.1)	19(59.4)
T ₂	46	39(84.8)	28(60.9) ²⁾
T ₃	15	13(86.7)	11(73.3)
계	93	77(82.8)	58(62.4)

T₁ : CIDR + PMSG 200IU + after 60h fertirelin acetate 100 μ g

T₂ : CIDR + PMSG 250 IU + after 60h fertirelin acetate 100 μ g

T₃ : CIDR + after 24h hCG 500IU + after 12h buserelin 0.0084 mg

¹⁾임신기간 : 249.5 ± 2.3 일(Mean \pm SD)

²⁾T₂처리구에서 1두 쌍태분만

꽃사슴의 발정동기화를 위해 작은 크기의 T자형 CIDR-s와 스폰지로 제작된 페서리형의 MPA로 14일간 질내 정치하여 각각 발정을 유지하고, 제거시 PMSG 100IU를 주사하여 60시간때에 인공수정하고 분만율을 조사한 결과는 표 13에서와 같다. CIDR-s처리구에서 분만율은 21.7%로 나타났으며, MPA 처리구는 2002년 5월에 분만예정에 있다. 엘크 수사슴으로부터 채취하여 동결보존한 정액을 용해하여 발정이 동기화된 암꽃사슴에 인공수정으로 국내에서는 최초(2000. 5. 29)로 자록이 분만되었으며, 분만한 암사슴의 임신기간은 225일이었다.

표 13. 꽃사슴의 발정동기화방법이 분만율에 미치는 영향

발정유기방법	처리 두수	분만두수	분만율(%)
CIDR-s	23	5	21.7
MPA*	18	-	-

* 2002년 5월 분만 예정

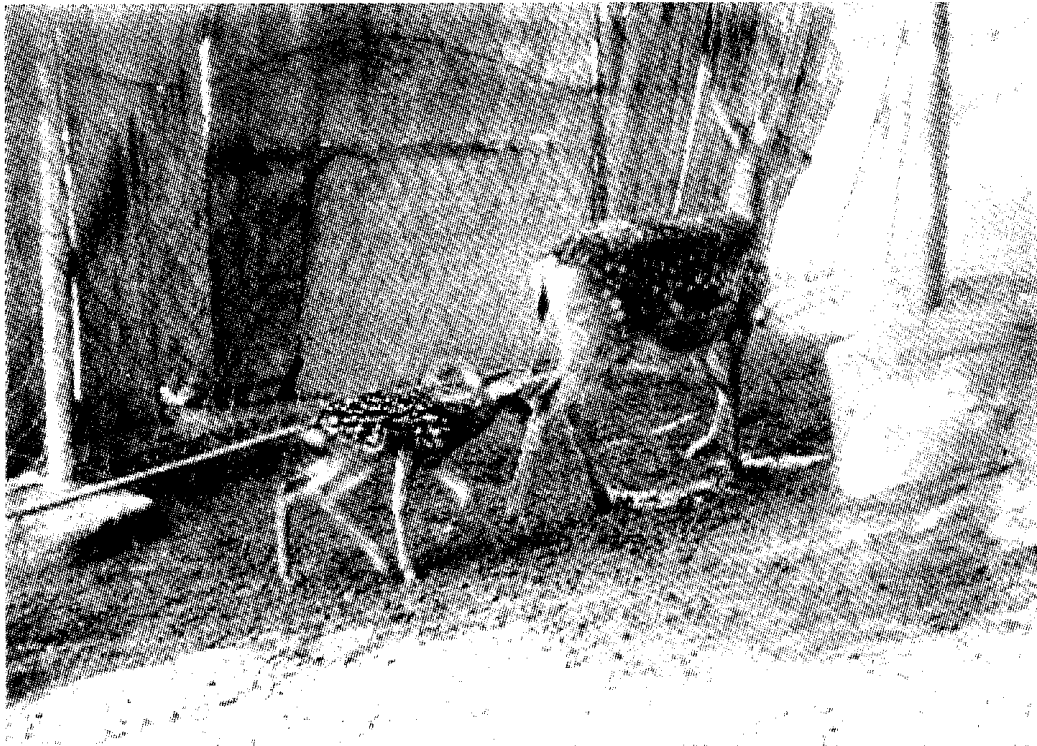


그림 4. 국내 최초 동결정액 인공수정으로 분만된 꽃사슴 자록(2000. 5. 29)

7. 비번식계절의 발정동기화 처리가 번식성적에 미치는 영향

엘크사슴에 대하여 번식계절 도래전인 비번식계절에 발정주기동기화 처리를 실시하였을 때의 번식성적은 표 14와 같다. 우리나라의 경우에는 사슴의 번식계절이 추분(9월 22일 전후)을 기점으로 발정이 재개되므로 이 시점 이전의 시기를 비번식계절로 간주할 수 있기 때문에 발정동기화처리를 9월 5일에 실시한 것은 9월 22일경에 발정이 유효되는 것이므로 번식계절의 발정유기로 간주되며, 그 이전의 발정유기처리는 비번식계절로 간주된다.

표 14. 발정동기화처리 시기가 번식성적에 미치는 영향

발정유기일*	공시두수	발정발현두수 ³⁾	임신두수(%)	분만두수(%)
1999. 8. 20 ¹⁾	16	14 (87.5)	6 (42.9)	3 (21.4)
1999. 8. 25 ¹⁾	22	20 (90.9)	14 (70.0)	7 (35.0)
1999. 8. 30 ¹⁾	35	33 (94.3)	20 (60.6)	13 (39.4)
1999. 9. 5 ²⁾	20	18 (90.0)	9 (50.0)	7 (38.9)
계	93	85 (91.4)	47 (55.3)	30 (35.3)

*발정유기를 위한 CIDR 삽입일

¹⁾비번식계절 발정유기

²⁾번식계절 발정유기

³⁾발정발현두수 = 인공수정두수

번식계절 도래전에 CIDR 삽입·제거로 비번식계절인 9월 22일 이전에 발정을 유효시킨바 87.5~94.3%의 발정발현율을 나타내었고, 번식계절인 9월 22일에 발정을 유효하여 90.0%의 발정발현율을 나타내었다. 임신율과 수태율은 비번식계절 발정유기 사슴에서 각각 42.9~70.0%와 21.4%~39.4%를 나타내었으며, 번식계절의 임신율과 수태율은 각각 50.0%와 38.9%를 나타내어 번식계절 도래전에

발정을 유기하여 인공수정을 실시하여도 번식에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

이러한 결과는 Asher 등(1987)가 뉴질랜드에서 정상적인 번식계절보다 6주 이전까지 인위적 조절로 발정유도가 가능함을 제시한 것과 비교해 볼 때 우리나라의 경우 사슴과 같은 계절번식동물에 있어서 번식계절 개시 시점을 정확한 날자로 확정하는 것은 어려우며 그 시기의 날씨(일조량 및 온도)와도 밀접한 관계가 있기 때문에 매년 어느 정도까지 앞당겨 발정유도가 가능한 것인지에 관해서는 더 많은 연구가 이루어져야 할 것으로 사료되었다.

제 4절 결과 요약

1. 엘크 및 꽃사슴의 발정일(Day 1)에 혈중 progesterone 농도는 각각 4.4 및 1.7ng/ml였으며, 발정주기중에는 Day 9에 감소하였다가 Day 18에 엘크 16.0ng/ml, 꽃사슴 12.9ng/ml로 가장 높은 농도를 나타내었다.
2. 엘크사슴의 발정주기중 난포크기는 18일경이 가장 크게 나타났으며, 발정주기의 6일경부터 난포기로 접어드는 것으로 관찰되었다.
3. CIDR에 의한 발정동기화 결과 KAMAR의 파열이나 허용흔적으로 발정이 발현된 것으로 판정된 것은 87.5~100.0%였으며, 평균 94.5%의 발정발현율을 보였다.
4. 발정동기화 방법에 따른 인공수정 수태율은 CIDR 삽입·제거후 PMSG 단독투여구 50.0%, PMSG와 GnRH 투여구 52.2%, PMSG와 LHRH 투여구 67.5%를 나타내어 PMSG와 LHRH 투여구가 가장 높은 수태율을 나타내었다.
5. 발정동기화처리후 정액주입시간에 따른 수태율은 CIDR 삽입·제거 및 PMSG 투여후 60시간에 인공수정한 처리구 84.6%, 62시간 처리구 47.6%, 64시간 처리구 92.2%로 64시간 처리구가 다소 높은 수태율을 나타내었다.
6. 인공수정시 정액 주입부위에 따른 분만율은 자궁경관에 주입시는 28.6%였으나 자궁체에 주입시는 67.9%로 자궁체에 정액을 주입하였을 때가 매우 높은 분만율을 나타내었다.
7. 인공수정시 주입정자의 농도에 따른 수태율은 2.0×10^7 sperm 및 4.0×10^7 sperm으로 주입하였을 때에 각각 83.3 및 89.3%로 4.0×10^7 sperm에서 다소 높은 수태율을 나타내었다.
8. 발정동기화 및 배란유기 방법에 따른 인공수정 후 수태율은 T₁, T₂ 및 T₃ 처리구에서 각각 78.1, 84.8 및 86.7%로 T₂와 T₃ 처리구에서 높았으나 분만율은 59.4, 60.9 및 73.3%로 T₃ 처리구가 높았으며, 성선자극호르몬의 투여

량과 배란유기호르몬의 종류가 따라 수태율에 영향을 주는 것으로 사료되었다.

9. 엘크사슴에서 번식계절 도래전의 비번식계절에 발정을 유기하여 87.5~94.3%의 발정발현율을 나타내었으며, 번식계절에 발정을 유기하여 90.0%의 발정발현율을 나타내었다. 임신율과 수태율은 비번식계절 발정유기 사슴에서 각각 42.9~70.0%와 21.4%~39.4%를 나타내었으며, 번식계절의 임신율과 수태율은 각각 50.0%와 38.9%를 나타내어 번식계절 도래전에 발정을 유기하여 인공수정을 실시하여도 번식에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

제 5절 참고문헌

1. Allen PL, Asher GW. 1988. Progressive fallow farming. Proceedings of course on fallow deer farming held at Ruakura Agricultural center. February. 23-26.
2. Asher GW, Veldhuizen FA, Morrow CJ, Duganzich DM. 1994. Effects of erogenous melatonin on prolactin secretion, lactogenesis and reproductive seasonality of adult female red deer (*Cervus elaphus*). J. Reprod. Fertil. 100(1):11-9.
3. Assey RJ, Purwantara B, Greve T, et al. 1993. Corpus luteum size and plasma progesterone levels in cattle after cloprostenol-induced luteolysis. Theriogenology. 39:1321~1330.
4. Bainbridge DRJ, Jabbour HN. 1997. Effect of pregnancy and exogenous interferon on synchronous pulsatile release of oxytocin and luteolytic prostaglandin $F_2\alpha$ in red deer (*Cervus elaphus*). J. Reprod. Fert. 111:299-307.
5. Edmondson AJ, Fissore RA, Pashen RL. 1986. The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract. I. Normal and pathological ovarian structures. Anim. Reprod. Sci. 12:157~165.
6. Eloranta E, Timisjarvi J, Nieminen M, Ojutkangas V, Leppaluoto J, Vakkuri O. 1992. Seasonal and daily patterns in melatonin secretion in female reindeer and their calves. Endocrinology. 130(3):1645-52.
7. Esther Bender, Enda Bender. 1993. Search for a farm(1998). Vet. Rec. 133(13):322-3.

8. Flierman PA, Hogerzeil HV, Hemrika DJ. A, 1997 prospective, randomized. cross-over comparison of two methods of artificial insemination by donor on the incidence of conception: intracervical insemination by straw versus cervical cap. *Hum. Reprod.* 12(9):1945-8.
9. Ginther OJ. 1986. Ultrasonic imaging and reproductive events in the mare. *Equiservices*, Cross Plains, WI. pp. 378.
10. Huhtinen M, Rainio V, Aalto J, et al. 1992. Increased ovarian responses in the absence of a dominant follicle in superovulated cows. *Theriogenology*. 37:457~463.
11. Izaike Y, Suzuki O, Shimada K, et al. 1991. Observation by ultrasonography of embryonic loss following the transfer of two or three embryos in beef cows. *Theriogenology*. 36:939~947.
12. Jabbour HN, Asher GW, Smith JF, Morrow CJ. 1992. Effect of progesterone and oestradiol benzoate on oestrous behaviour and secretion of lateralizing hormone in ovariectomized fallow deer (*Dama dama*). *J. Reprod. Fertil.* 94(2):353-61.
13. Laing JA, Heap RB. 1971. The concentration progesterone in the milk of cows during the reproductive cycle. *Br. Vet. J.* 127:xix.
14. Lincoln GA. Photospheric-melatonin relay in deer. 1998. *Acta Vet Hung.* 46(3):341-56
15. Monfort SL, Asher GW, Wildt DE, Wood TC, Schpewe MC, Williamson LR, Bush M, Rail WF. 1993. Successful interuterine insemination of

- Eld's deer (*Cervus eldi tamin*) with frozen-thawed spermatozoa. *J. Reprod. Fert.* 99:459-465.
16. Monfort SL, Brown JL, Wood TC, Wemmer C, Vargas A, Williamson L R, Wildt DE. 1993 Seasonal patterns of basal and GnRH-induced LH, FSH and testosterone secretion in Eld's deer stags (*Cervus eldi thamin*). *J. Reprod. Fertil.* 98(2):481-8.
 17. Tyler NJ. 1994. Role of gonadal hormones in the regulation of the seasonal antler cycle in female reindeer, *Rangifer tarandus*. *J. Reprod. Fertil.* 101(1):129-38.
 18. West NO. 1987. Annual cycle of lightweight and reproductive changes of farmed male fallow deer (*Dama dama*) and the effect of daily oral administration of melatonin in summer on the attainment of seasonal fertility. *J. Reprod. Fertil.* 79(2):353-62.
 19. Willard ST, Flares-Farnworth G, Chapman S, Drew ML, Hughes DM, Neuendorff DA, Randel RD. 1998. Hybridization between wapiti (*Cervus elephus manitobensis*) and spotted deer (*Cervus nippon*): a comparison of two artificial insemination techniques. *J. Zoo. Wild. Med.* 29(3):295-9.
 20. Williams LM, Hannah LT, Kyle CE, Adam CL. 1996. Central melatonin receptors in red deer (*Cervus elaphus*). *Gen. Comp. Endocrinol.* 104(1):1-6.
 21. 백광수. 1995. 한우에 있어서 혈청 progesterone 농도 측정에 의한 조기 임신진단 (박사학위논문).
 22. 이장희, 박충생. 1990. 한국재래산양의 임신기간중 혈중 progesterone 및 estrone sulphate 농도의 변화. *한국가축번식학회지.* 14(3):213-221.

여 백

제 4장 사슴의 임신진단 기법

제 1절 서설

1. 연구배경

사슴의 임신기간은 품종에 따라 다르고 연구자들간에도 차이가 있다. 임신기간의 차이가 많은 원인으로서는 교배일을 정확하게 파악하기 어렵기 때문에 분만 예정일을 예측할 수 없는 것 등이다. 뉴질랜드의 Kevol과 Wilson(1991)이 레드디어에서 처음으로 임신초기에 초음파를 이용한 진단을 실시하였다. 국내에서는 사슴의 임신진단에 관한 연구보고는 없는 실정이다. 사슴에서도 다른 가축과 마찬가지로 조기 임신진단을 실시하게 되면 비임신 사슴을 조기에 확인하여 번식에 재공용하거나 생식기 이상 등의 번식장애 암사슴에 대해서는 조기에 치료 또는 도태함으로써 번식효율을 높일 수 있을 것이다.

사슴은 계절번식동물이므로 번식계절 초기에 임신되지 않으면 일년동안 공태로 남기 때문에 비임신 사슴들과 번식기간 동안 수사슴과 함께 사육하는 것은 수사슴의 에너지손실을 극대화하여 차기 녹용생산량에 악영향을 줄 수 있다.

그러므로 사슴의 조기 임신진단은 번식효율을 높일 수 있을 뿐만 아니라 비임신 사슴의 조기도태로 사료 이용성을 높일 수 있게 되어 경영개선에 크게 도움을 줄 수 있을 것이다.

사슴을 조기에 임신진단하기 위해서 직장검사, 혈중 P₄농도의 측정 및 초음파 임신진단기 등의 방법을 비교분석 연구하고, 임신기간중의 태아의 크기를 화상분석을 통해 임신일령을 예측할 수 있는 기술을 개발코자 실시하였다.

제 2절 연구개발의 내용과 범위

1. 공시축 및 시험대상 농가

공시축은 엘크사슴으로 축산기술연구소에서 사육하고 있는 15두, 유원사슴농장 19두, 화성사슴농장 14두 및 비룡사슴농장 13두를 임신진단 시험에 공시하였다.

2. 호르몬분석

혈중 호르몬분석을 위해 약 10ml의 혈액을 경정맥에서 채혈하고 즉시 glass tube에 옮긴 후 4℃에서 12시간 보존한 다음, 1,500rpm으로 10분간 원심분리하여 혈청(serum)을 분리한 후 분석시까지 -20℃에서 냉동보존하였다. 혈중 progesterone(P₄) 농도의 분석은 Walac Delpia 123(Delpia Co., Holland)을 이용하여 progesterone kit(Delpia, Co., 미국)로 분석하였다.

혈중 호르몬 분석에 의한 임신진단 기초를 마련하기 위하여 발정일(Day 1), 임신 20, 40, 60, 90일 및 분만시 엘크 2, 꽃사슴 2두에 대하여 채혈하여 혈중 P₄ 농도를 측정하였다. 조기 임신진단 및 진단법간 비교를 위해 인공수정 후 발정 재귀일(20일)에 엘크사슴 45두로부터 혈중 P₄ 농도를 분석하였다.

3. 임신진단

임신 60일경에 직장검사법으로 자궁의 크기, 자궁의 파동감, 난소에 황체 존재 등을 촉진하여 임신여부를 확인하였으며, 초음파진단은 Morrow 등(1994)의 임신진단법에 따라 6.5MHz 또는 5.0MHz rectal probe가 장착된 초음파진단기(Sonoace 1500, USA)를 이용하여 임신진단을 실시하였다. 임신진단시 수집된 초

음파화상은 임신일령에 따라 태아의 크기를 측정하고 측정치에 의한 임신 일령을 태아의 크기와 비교하기 위하여 임신일령에 따른 태아크기를 태아크기에 의한 임신일령을 전산처리하여 추정할 수 있도록 하였다.

4. 초음파화상 분석

인공수정직전 초음파진단기를 이용하여 난소내 난포발육 상태 및 황체유무를 검사하고 기록한 후 배란 정도를 예측하여 인공수정 후 20일 또는 40일경에 수태여부와 비교하였으며, 발정주기 및 임신기간중 난소 소견에 대해서 난포 및 황체 크기를 실측한 다음 초음파 화상자료를 수집하여 기초자료를 체계적으로 관리 분석할 수 있도록 하였다.

제 3절 연구결과 및 고찰

1. 임신진단방법에 따른 수태율

인공수정한 엘크사슴 45두에 대해 차기 발정예정일인 수정후 20일에 혈중 P₄ 농도를 측정하여 조기에 임신진단한 결과는 표 1에서 보는바와 같다. 혈중 P₄ 농도가 1.9ng/ml 이상인 사슴을 임신으로 진단한 결과 68.9%의 수태율을 나타내었다.

표 1. 혈중 progesterone 분석에 의한 임신진단 결과

농장명	진단두수	임신두수*	수태율 (%)
A	15	10	66.7
B	10	10	100.0
C	20	11	55.0
계	45	31	68.9

*혈중 P₄ 농도가 1.9ng/ml 이상

표 2는 인공수정한 61두에 대해서 임신 60일령에 직장검사 및 초음파진단에 의한 진단결과이다. 직장검사에 의한 수태율은 60.7%를 나타내었으나 초음파진단시 수태율은 72.1%이었다. 직장검사와 초음파진단간에 진단결과가 상이하게 나타난 것은 직장검사에 의한 자궁 축진시 보정틀(크러쉬)에 의한 높은 압박감으로 진단이 용이하지 못한 것이 원인으로 추정된다.

P₄농도 검사에 의한 수태율보다 직장검사와 초음파진단의 수태율이 낮은 것은 진단의 시기가 다소 상이하므로 임신기간내에 발생할 수 있는 배아사멸 및 유산에 기인된 것으로 사료된다.

표 2. 초음파진단 및 직장검사에 의한 임신진단 결과

농장명	진단두수	임신두수(%)	
		직장검사	초음파진단
A	15	6 (40.0)	7 (46.7)
B	19	12 (63.2)	13 (68.4)
C	13	11 (84.6)	11 (84.6)
D	14	8 (57.1)	13 (92.9)
계	61	37 (60.7)	44 (72.1)

2. 초음파 임신진단기 probe 종류에 따른 임신진단 결과

초음파 임신진단기의 probe 종류에 따라 엘크사슴 5두에 대하여 임신진단 결과는 표 3과 같다. 5.0MHz 및 6.5MHz로 임신 90~100일령에 실시한 결과 80.0% 및 60.0%로 차이가 있었다. 결과가 상이한 원인에 대하여는 정확한 원인을 알 수가 없으며, 진단시기를 앞당기고 공시두수의 확대에 추가적인 연구가 필요할 것으로 사료된다.

표 3. 초음파 임신진단기 probe의 종류에 따른 임신진단

공시두수	Probe 종류에 따른 임신두수(%)	
	5.0 MHz	6.5 MHz
5	4 (80.0)	3 (60.0)

3. 초음파 화상분석에 의한 발정(배란) 예측

엘크 암사슴 43두에 대하여 인공수정 직전 초음파진단기(6.5MHz probe 이용)와 직장검사 소견으로 성숙난포를 확인하여 배란 유무를 예측하고 수정 후 20일에 초음파진단 및 직장검사에 의해 자궁 및 난소의 소견으로 황체의 형성 등을 확인하여 배란 예측의 정확도를 조사한 결과는 표 4와 같다.

수정직전 초음파진단과 직장검사에 의한 난소진단으로 배란여부를 미리 예측한 결과 예측의 정확도는 A 및 B 농장 각각 92.93% 및 88.9%였다. 이와 같은 결과는 진단 시술자의 숙련정도에 따라 달라질 수 있으나 초음파화상의 근거 자료에 의한 배란 예측과 불필요한 수정을 사전에 배제할 수 있음을 시사해 주었다.

표 4. 초음파진단 및 직장검사에 의한 발정사슴의 배란 예측 정확도

농장	검사두수	배란예측 두 수 ¹⁾	배란확인 두 수 ²⁾	예측 정확도 (%) ³⁾
A	18	14	13	92.9
B	25	18	16	88.9
계	43	32	29	90.6

¹⁾배란예측두수 : 난소에 성숙난포를 보유하고 있는 사슴

²⁾배란확인두수 : 자궁 및 난소검사에서 배란이 되었고 임신황체 등이 존재하는 사슴

³⁾예측정확도 = 배란확인두수/배란예측두수 × 100

4. 임신일령 추정

임신 40일령 및 60일령에 초음파 임신진단기의 화상으로부터 태아의 크기를 측정한 결과는 표 5에서 보는 바와 같다. 임신 40일령 및 60일령의 태아 크기는 가로×세로 각각 6.0×5.9mm 및 23×28mm 였으며, 자궁강 단면의 크기는 각각 12×22mm 및 44×41mm로 나타났다. 임신 4일령보다 60일령에서 태어나 자궁강 단면이 매우 빠르게 커지고 있음을 알 수 있었다.

표 5. 초음파 임신진단에 의한 태아의 크기

구 분	공시두수	임신일령에 따른 크기(가로×세로mm)	
		40일령	60일령
태 아*	13	6.0×5.9	23×28
자궁강	11	12×22	44×41

* 태아의 크기 = (가로 + 세로)/2

40일령 : 5.92 ± 2.6 , 60일령 : 25.50 ± 7.2

본 연구의 결과로 초음파 임신진단에 의한 임신 40일 및 60일의 태아 크기 화상분석에 의해 태아의 크기를 알게되면 임신일령을 추정할 수 있는 계산식을 개발하였다.

추정 임신일령 = $1.02 \times \{(\text{태아의 크기 가로} + \text{세로}) / 2\} + 33.9$

즉, $Y = 1.02X + 33.9$

Y : 추정 임신일령

X : (태아의 크기 가로 + 세로) / 2

예) 임신태아의 크기가 가로 6.0mm, 세로 5.9mm 일 때 임신 추정일령은

$$Y = 1.02 \times (6.0 + 5.9) / 2 + 33.9$$

$$= 39.85$$

$$= 40\text{일}$$

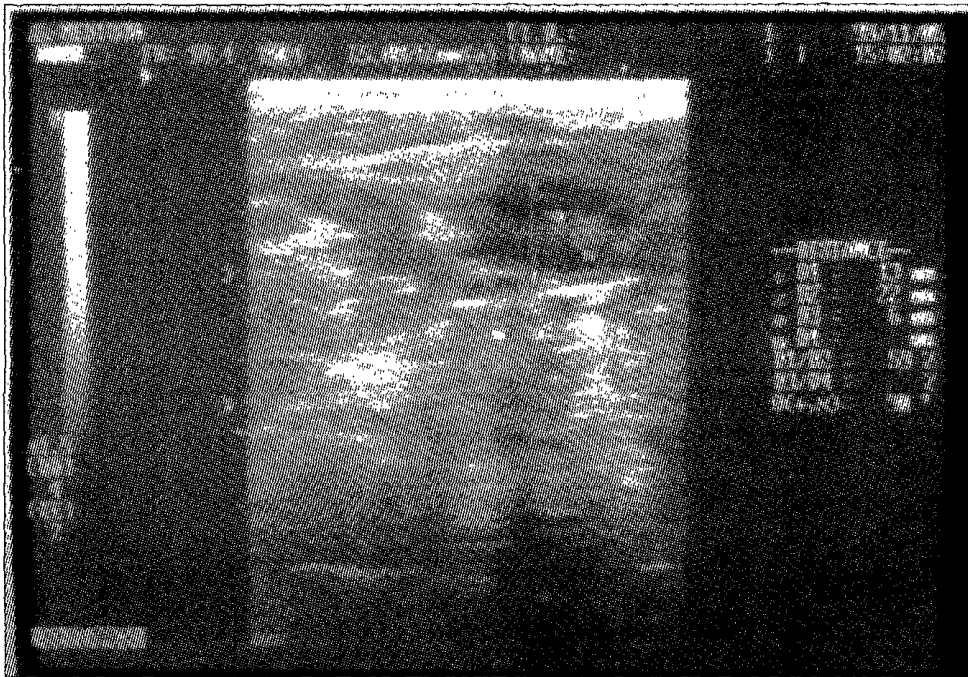


그림 1. 임신 40일령 초음파진단 화상

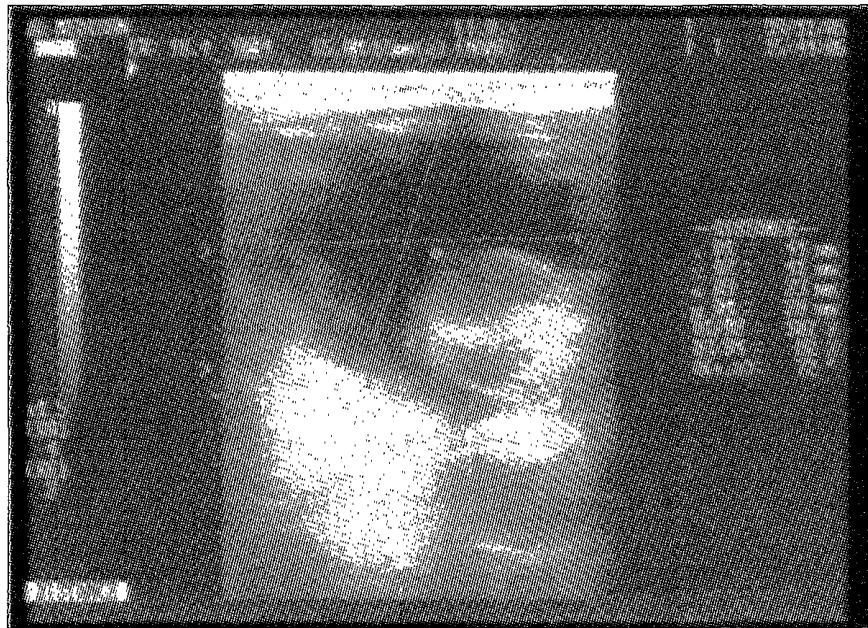


그림 2. 임신 60일령 초음파진단 화상

농장별 인공수정에 의해 분만한 성적은 표 6과 같다. 분만이 완료된 17농가 426두에서 192두가 분만하여 45.1%의 분만율을 나타내었다. 농장별 분만율은 최고 60.0%에서 최저 14.2%로 농장간에 차이가 많았다. 농장간에 분만율에 대한 차이가 심한 것은 농장간의 사양관리 체계, 영양, 수정 기술을 위한 보정 및 계류시설 등의 차이로 사료되며, 특히 꽃사슴의 경우에 엘크보다 분만율이 낮은 원인은 수정시 전신마취에 따른 스트레스에 기인된 것으로 사료된다. 전체 192두 분만에 대해 쌍태분만두수는 3두로 1.6%의 쌍태율을 나타내었다. 분만된 자육의 성별은 암사슴이 110두, 수사슴이 85두가 태어나 암수 비율이 1.29 : 1.00으로 암사슴이 많이 태어났다. 사슴의 쌍태분만율에 대해서 Gordon(1997)의 보고에 따르면 중국에서 면역학적으로 수컷 호르몬 항체를 가진 꽃사슴 암컷은 11.7%의 쌍태율을 보였고 그렇지 않은 일반적인 경우에는 1.3%만이 쌍태율을 보였다고 한 바 본 연구결과와도 비슷한 경향을 나타내었다.

표 6. 농장별 인공수정 후 분만을 및 생산자육 현황

농장명	공시두수	분만두수(%)	쌍태두수	자육 성별두수		
				♀	♂	계
중 소	48	16 (33.3)	0	9	7	16
유 원	57	33 (57.8)	1	17	17	34
화 성	37	18 (48.6)	0	10	8	18
비 룡	73	38 (52.1)	1	22	17	39
백마강	18	7 (38.8)	0	4	3	7
도당골	10	4 (40.4)	0	3	1	4
엄 마*	19	7 (36.8)	0	4	3	7
회 천	5	1 (20.0)	0	1	0	1
예 산	6	3 (50.0)	0	2	1	3
대 산	5	3 (60.0)	0	3	0	3
선 화	20	9 (45.0)	0	5	4	9
해맑은	15	9 (60.0)	0	5	4	9
명 천	30	12 (40.0)	0	7	5	12
약 초	34	12 (35.2)	0	6	6	12
덕 산*	14	2 (14.3)	0	1	1	2
마그실	10	6 (60.0)	0	4	2	6
환 회	25	12 (48.0)	1	7	6	13
계	426	192 (45.1)	3	110	85	195

*꽃사슴 농장

제 4절 결과요약

1. 엘크사슴 45두에 대해 인공수정후 20일에 혈중 P₄ 농도로 조기에 임신진단한 결과 68.9%의 수태율을 나타내었다.
2. 인공수정한 61두에 대해서 임신 60일령에 직장검사 및 초음파진단에 의한 수태율은 각각 60.7% 및 72.1%이었다.
3. 수정직전 초음파진단과 직장검사에 의한 난소진단으로 배란여부를 미리 예측한 결과 예측의 정확도는 A 및 B 농장 각각 92.93% 및 88.9%였다.
4. 초음파 임신진단기로 태아의 크기를 측정된 결과 임신 40일령 및 60일령의 태아 크기는 가로×세로 각각 6.0×5.9mm 및 23×28mm 였으며, 자궁강 단면의 크기는 각각 12×22mm 및 44×41mm로 나타났다.
5. 초음파 임신진단에 의하여 태아의 크기를 알게 되면 임신일령을 추정할 수 있는 $Y = 1.02X + 33.9$ 계산식을 개발하였다.
6. 분만이 완료된 17농가 426두에서 192두가 분만하여 45.1%의 분만율을 나타내었다. 농장별 분만율은 최고 60.0%에서 최저 14.2%로 농장간에 차이가 많았다.

이상의 결과로 보아 인공수정 전후 스트레스를 감소하는 것이 수태율을 높일 수 있고, 조기임신진단을 위해서는 초음파 임신진단이 효과적인 것으로 사료된다.

제 5절 참고문헌

1. Asher GW, Scott IC, et al. 1997. Ultrasonographic monitoring of antral follicle development in red deer. *J. Reprod. Fert.* 111:91-99.
2. Badtram GA, Gaines JD, Thomas CB, et al. 1991. Factors influencing the accuracy of early pregnancy detection in cattle by real-time ultrasound scanning of the uterus. *Theriogenology.* 35:1153-1167.
3. Bo GA, Adams GP, Pierson RA, et al. 1995. Erogenous control of follicular wave emergence in cattle. *Theriogenology.* 43:31-40.
4. Curran S, Ginther OJ. 1991. Ultrasonic determination of fetal gender in horses and cattle under farm conditions. *Theriogenology.* 36:809-814.
5. Curran S, Kastelic JP, Ginther OJ. 1999. Determining sex of the bovine fetus by ultrasonic assessment of the relative location of the genital tubercle. *Anim. Reprod. Sci.* 19:217-227.
6. Edmondson AJ, Fissore RA, Pashen RL, et al. 1986. The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract. I. Normal and pathological ovarian structures. *Anim. Reprod. Sci.* 12:157-165.
7. Fissore RA, Edmondson AJ, Pashen RL, et al. 1986. The use of ultrasonography for the study of the bovine reproductive tract. II. Non-pregnant, pregnant and pathological conditions of the uterus. *Anim. Reprod. Sci.* 12:167-177.

8. Gordon I. 1997. Reproduction in horse, deer and camelids. CAB international press. pp. 168-188.
9. Helliwell RJ, Williams LM, 1994 The development of melatonin-binding sites in the ovine fetus. *J. Endocrinol.* 142(3):475-84.
10. Kastelic JP, Bergfelt DR, Ginther OJ. 1990 Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology.* 33:1269-1278.
11. Kastelic JP, Pierson RA, Ginther OJ. 1990. Ultrasonic morphology of corpora lutea and central luteal cavities during the estrous cycle and early pregnancy in heifers. *Theriogenology.* 34:487-498.
12. Kito S, Okuda K, Miyazawa K, et al. 1986. Study on the appearance of the cavity in the corpus luteum of cows by using ultrasonic scanning. *Theriogenology.* 25:325-333.
13. Sauer MJ, Fonkes JA, Worsfold A, Morris BA. 1986. Use of progesterone II-glucuronide-alkaline phosphates conjugate in a sensitive microtitre-plate EIA of progesterone in milk and its application to pregnancy testing in dairy cattle. *J. Reprod. Fert.* 76:375-391.
14. Williams LM, Hannah LT, Adam CL, Bourke DA. 1997. Melatonin receptors in red deer fetuses (*Cervus elaphus*). *J. Reprod. Fertil.* 110(1):145-51.
15. Meydon MJ, Milne JA, Brinklow BR, Loudon AS. 1995. Manipulating melatonin in red deer (*Cervus elaphus*): differences in the response to food restriction and lactation on the timing of the breeding season and

prolactin-dependent pelage changes. *J. Exp. Zool.* 273(1):12-20.

16. Morrow CJ, Asher GW, Berg DK, Tervit HR, Poole PA, McMillan WH, Beaumont S, Hall DRH. Bell ACS. 1994. Embryo transfer in fallow deer. *Theriogenology*. 42:579-590.
17. Revell B, Wilson PR. 1991. Ultrasonography of reproductive tract and early pregnancy in red deer. *Veterinary Record*. 128:229-233.
18. 김찬규. 1993. 사슴사육과 관리. 오성출판사. pp. 120-153.
19. 성유석. 1999. 사슴과 곰. 번식 사양 관리. 내외출판사

제 5장 종합 결론

제 1절 사슴의 동결정액 생산기술 개발

1. 번식계절(9~1월) 및 비번식계절(2~8월)에 전기자극법으로 정액을 채취하여 정액성상을 조사한 결과 엘크, 레드디어 및 꽃사슴의 비번식계절 정액량은 각각 0.43, 0.75 및 0.33ml로 레드디어가 다른 품종보다 다소 높게 나타났으며, 번식계절의 정액량은 각각 8.24, 2.5 및 1.5ml로 엘크가 다른 품종보다 정액량이 높게 나타났다.
2. 엘크사슴에서 9~12V 및 13~24V 전기자극으로 정액 채취시 정액량은 각각 0.6ml 및 1.9ml 였으며, 정자농도는 각각 18.5 및 17.4 ×10⁸sperm/ml 였고, 자극회수가 많아질 수록 전기자극의 크기에 관계없이 정자농도가 낮아지는 경향을 나타내었다.
3. 전기자극에 의한 정액채취시 1, 2 및 3차 분획의 정액량은 각각 0.3~2.3ml, 2.3~8.5ml 및 0.6~2.1ml로 2차 분획의 정액량이 많았으며, 정자농도는 1, 2차 분획의 정자농도가 3차 분획의 정자농도보다 다소 높게 나타났다.
4. m-BF5F 보존액에 혈청첨가가 다른 처리구보다 정자활력이 좋았으며, 정상 두모율은 BSA+heparin 첨가가 59.8%로 높게 나타났다.
5. 동결·융해 후 생존성과 활력을 개선하기 위하여 희석액에 녹용엑기스 및 수사슴 혈청을 각각 0.1, 0.5 및 1.0%을 첨가하여 품종별 동결·융해 후 활력을 조사한 결과 수사슴 혈청이 녹용엑기스 보다 다소 높게 나타났으며 생리활성물질의 첨가는 대체적으로 첨가하지 않은 대조구보다는 높게 나타났다.

6. mBF5F보존액으로 정액을 동결하면서 동결과정 중 정자활력 변화를 조사한 결과 채취시의 활력은 75.5~92.3%이었으나 glycerol 평형 후에는 65.0~83.3%이었다. 동결·용해후 정자활력은 0.25ml 스트로에서는 42.3~65.0%, 0.5ml 스트로에서는 25.0~57.3%로 개체따라 차이는 있지만 0.25ml 스트로에 정액을 주입하여 동결하였을 때가 0.5ml 스트로보다 다소 활력이 좋은 것으로 나타났다.
8. 번식계절(9~1월)에 전기자극기로 채취한 정액을 1차 희석 처리 후 2차 희석시 보존액에 동해보호제로 16.0% glycerol, 1.8M ethylene glycol 또는 0.5% polyethylene glycol이 포함된 2차희석액과 1:1로 희석하여 동결하였을 때 동해방지제의 종류가 동결 용해 후 사슴 정액에 미치는 영향을 조사한 결과 glycerol의 경우 65.5~52.3%로 다른 동해보호제의 첨가보다 다소 높은 활력을 나타내었다.
9. 동결·용해 후 정자의 생존성은 12시간 이후에는 5.2~15.8%로 매우 낮은 수준으로 유지되었으며, 특히 꽃사슴의 경우에는 거의 사멸된 것으로 나타났다.
10. 수사슴의 연령이 번식 및 비번식계절의 정액채취시 정액성상에 미치는 영향을 조사한 결과 비번식계절의 경우 수사슴의 연령이 18~24 월령일때 정액량 및 정자농도가 0.2ml 및 0.1×10^8 sperm/ml로 매우 낮았으나 번식계절의 경우에는 0.9ml 및 8.6×10^8 sperm/ml로 정상적인 수준을 나타내었다.

제 2절 사슴의 발정동기화 및 인공수정기술 개발

1. 엘크 및 꽃사슴의 발정일(Day 1)에 혈중 progesterone 농도는 각각 4.4 및 1.7ng/ml였으며, 발정주기중에는 Day 9에 감소하였다가 Day 18에 엘크 16.0ng/ml, 꽃사슴 12.9ng/ml로 가장 높은 농도를 나타내었다.
2. 엘크사슴의 발정주기중 난포크기는 18일경이 가장 크게 나타났으며, 발정주

- 기의 6일경부터 난포기로 접어드는 것으로 관찰되었다.
3. CIDR에 의한 발정동기화 결과 KAMAR의 파열이나 허용흔적으로 발정이 발현된 것으로 판정된 것은 87.5~100.0%였으며, 평균 94.5%의 발정발현율을 보였다.
 4. 발정동기화 방법에 따른 인공수정 수태율은 CIDR 삽입·제거후 PMSG 단독투여구 50.0%, PMSG와 GnRH 투여구 52.2%, PMSG와 LHRH 투여구 67.5%를 나타내어 PMSG와 LHRH 투여구가 가장 높은 수태율을 나타내었다.
 5. 발정동기화처리후 정액주입시간에 따른 수태율은 CIDR 삽입·제거 및 PMSG 투여후 60시간에 인공수정한 처리구 84.6%, 62시간 처리구 47.6%, 64시간 처리구 92.2%로 64시간 처리구가 다소 높은 수태율을 나타내었다.
 6. 인공수정시 정액 주입부위에 따른 분만율은 자궁경관에 주입시는 28.6%였으나 자궁체에 주입시는 67.9%로 자궁체에 정액을 주입하였을 때가 매우 높은 분만율을 나타내었다.
 7. 인공수정시 주입정자의 농도에 따른 수태율은 2.0×10^7 sperm 및 4.0×10^7 sperm으로 주입하였을 때에 각각 83.3% 및 89.3%로 4.0×10^7 sperm에서 다소 높은 수태율을 나타내었다.
 8. 발정동기화 및 배란유기 방법에 따른 인공수정 후 수태율은 T₁, T₂ 및 T₃ 처리구에서 각각 78.1, 84.8 및 86.7%로 T₂와 T₃ 처리구에서 높았으나 분만율은 59.4, 60.9 및 73.3%로 T₃ 처리구가 높았으며, 성선자극호르몬의 투여량과 배란유기호르몬의 종류가 따라 수태율에 영향을 주는 것으로 사료되었다.
 9. 엘크사슴에서 번식계절 도래전의 비번식계절에 발정을 유기하여 87.5~94.3%의 발정발현율을 나타내었으며, 번식계절에 발정을 유기하여 90.0%의 발정발현율을 나타내었다. 임신율과 수태율은 비번식계절 발정유기 사슴에서 각각 42.9~70.0%와 21.4%~39.4%를 나타내었으며, 번식계절의 임신율과 수태율은 각각 50.0%와 38.9%를 나타내어 번식계절 도래전에 발정을 유기하여 인공수정을 실시하여도 번식에 영향을 주지 않는 것으로 나타났다.

제 3절 사슴의 임신진단기법 개발

1. 엘크사슴 45두에 대해 인공수정후 20일에 혈중 P₄ 농도로 조기에 임신진단한 결과 68.9%의 수태율을 나타내었다.
2. 인공수정한 61두에 대해서 임신 60일령에 직장검사 및 초음파진단에 의한 수태율은 각각 60.7% 및 72.1%이었다.
3. 수정직전 초음파진단과 직장검사에 의한 난소진단으로 배란여부를 미리 예측한 결과 예측의 정확도는 A 및 B 농장 각각 92.93% 및 88.9%였다.
4. 초음파 임신진단기로 태아의 크기를 측정한 결과 임신 40일령 및 60일령의 태아 크기는 가로×세로 각각 6.0×5.9mm 및 23×28mm 였으며, 자궁강 단면의 크기는 각각 12×22mm 및 44×41mm로 나타났다.
5. 초음파 임신진단에 의하여 태아의 크기를 알게 되면 임신일령을 추정할 수 있는 $Y = 1.02X + 33.9$ 계산식을 개발하였다.
6. 분만이 완료된 17농가 426두에서 192두가 분만하여 45.1%의 분만율을 나타내었다. 농장별 분만율은 최고 60.0%에서 최저 14.2%로 농장간에 차이가 많았다.

이상의 결과로 보아 인공수정 전후 스트레스를 감소하는 것이 수태율을 높일 수 있고, 조기임신진단을 위해서는 초음파 임신진단이 효과적인 것으로 사료된다.

부록

1. 학술발표 실적

사슴의 번식과 비번식계절에 있어서 정액의 성상 및 동결과정 중 정자활력의 변화

이장희, 김인철, 손동수, 김현중, 김상우, 이동원, 김창근*, 백순화**
농촌진흥청 축산기술연구소, 중앙대학교*, 천안외국어대학**

본 연구는 사슴의 동결정액생산에 있어서 품종별 번식 및 비번식계절의 정액성상과 채취시 분획별 정액성상 및 동결과정 중 정자의 활력 변화를 조사하고자 실시하였다. 정액채취는 blow gun으로 KetamineHCL 2mg/kg 및 XlyzineHCL 0.25mg/kg(BW)을 근육주사하여 전신 마취시킨 후 특별히 제작된 전기자극기를 직장내에 삽입하여 천골 부위에 위치시켜 3~5초간 통전 및 절전을 수회 반복하여 분획별로 정액을 채취한다. 엘크의 경우 번식 및 비번식계절의 정액량은 각각 2.24 및 0.43ml였으며, 정자의 농도는 24.63×10^2 cell/ml 및 8.55×10^8 sperm/ml였다. 품종간 정액량 및 정자농도는 레드디어가 꽃사슴 또는 엘크보다 다소 많거나 높았다. 정액채취시 1,2 및 3차 분획별 정액량은 각각 1.42, 1.92 및 1.16ml였으며, 정자농도는 평균 21.3 16.0 및 0.4×10^8 sperm로 2차분획의 전자농도가 다소 높았으나 개체간 및 채취마다 정액성상에 다소 차이가 있었다. 정액의 동결 보존액으로는 이 등(1996)이 개발한 난황희석액으로 Monfort 등(1993)의 방법에 따라 엘크 3두로부터 채취된 정액을 동결 보존하였을 때 채취시, glycerol평형 후, 예비동결 후 및 동결융해 후에 정자의 활력은 각각 88.8%, 70.8%, 62.5% 및 55.8%였다. 이상의 결과로 사슴정액은 비번식계절에도 생산 가능하나 번식계절보다는 정액성상이 나빴으며, 동결융해 후 정자활력 수준은 인공수정에 이용할 수 있음을 제시하였다.

Key Words : 사슴품종, 번식계절, 정액채취, 정액동결, 인공수정

(발표 : 1999년 축산분야종합학술대회. P99135, pp. 161)

번식계절 직전 발정동기화가 사슴의 수태율에 미치는 영향

이장희, 김인철, 손동수, 류재원, 김현중, 김상우, 유충현, 김창근*, 백순화**
농촌진흥청 축산기술연구소, 중앙대학교*, 천안외국어대학**

본 연구는 우리나라 사슴(엘크)의 번식계절 도래시기(9월 중순) 이전에 발정을 동기화시켜 번식효율을 개선하고 인공수정기술을 개발하기 위하여 실시하였다.

암사슴의 발정동기화를 위해 번식계절 도래 이전인 8월 20일, 8월 30일 및 9월 5일부터 CIDR을 14일 동안 질내 삽입한 후 제거하였을 때 발정발현율은 각각 87.5%, 90.9% 및 94.3%였으며, CIDR 제거 후 60시간 때에 활력 정자의 수가 $2\sim 4 \times 10^7$ 마리(0.25ml)인 동결정액으로 자궁내 인공수정하였을 때 수태율은 각각 40.0%, 70.0% 및 60.6%였다. 이 때 발정확인은 CIDR 제거시 암사슴의 등쪽에 정중선의 미근부 약 20cm 상단에 부착한 KARMAR의 파열과 승가흔적 여부로 결정하였으며, 임신진단은 인공수정 후 60일에 5.0MHz(Sonoace 1500, USA) 초음파진단기로 임신여부를 확인하였다. 한편 발정동기화 처리방법으로 CIDR 제거일에 PMSG200~250IU만 주사하거나 PMSG 주사 후 24시간 때에 합성 Gn α (0.4mg, Receptal) 주사 또는 CIDR 제거 후 인공수정 직전 합성 LHRH(2.0ml, Conceral) 주사 후 수정하였을 때 발정동기화 처리방법에 따른 수태율은 각각 47.8%, 34.8% 및 67.5%였다.

이와 같은 결과는 인공수정 직전 LHRH에 의한 배란유기와 결합된 발정동기화 방법이 수태율 향상에 유리하며, 번식계절 도래이전에도 발정 유기에 의한 수태 가능성을 제시하여 주었다.

Key Words ; 사슴품종, 발정동기화, 인공수정, 수태율, 분만을

(발표 : 2000년 축산분야종합학술대회. PB20112, pp. 96)

Semen Cryopreservation of Three Different Deer Breeders in Korea

J.H. Lee¹, I.C. Kim¹, D.S. Son¹, S.H. Baek², H.J. Kim¹, S.W. Kim¹, J.W. Ryu³

¹Department of Livestock Improvement, National Livestock Research Institute

²Department Computer Information, Chonan College of Foreign Studies

³Department of Animal Science, Chung-ang University

This study was undertaken to investigate the characteristics of three deer breeders of semen during breeding and non-breeding season in Korea and was carried out to find the quality of semen during freezing process. Semen was collected from three different breeders (Elk, Red deer and Spotted deer; n=3 per group) by means of electro-ejaculation. The volume of ejaculated semen varied widely among breeders (Elk : 0.4~2.5 ml; Red deer : 0.8~2.5 ml; Spotted deer : 0.3~1.5 ml), as did sperm concentration (Elk : $1.9\sim 24.6\times 10^8$ sperm/ml; Red deer : $5.3\sim 27.5\times 10^8$ sperm/ml; Spotted deer : $0.14\sim 18.2\times 10^8$ sperm/ml). Sperm motility and concentration were higher in breeding season (88.3% vs 24.6×10^8 sperm/ml) than non-breeding season (61.7% vs 8.5×10^8 sperm/ml) in Elk. Sperm motility (%) at collection, cooled, per-freezing and post thawing during freezing process of Elk semen (n=6) were 90.4, 84.9, 71.9 and 60.5%, respectively. To improve the post-thaw viability of deer spermatozoa, when heparin and BSA were added to diluents, motility after thawing of frozen semen was higher at the addition of BSA than that of heparin. However, proportion (%) of normal apical ridge was higher at the addition of heparin. Diluents with heparin or BSA was significantly higher than that of control ($p<0.05$).

It is concluded that frozen semen of non-breeding season in Korea can be used successfully for inseminating does.

(발표 : 2000년 THE 1st INTERNATIONAL SYMPOSIUM on ANTLER SCIENCE and PRODUCT TECHNOLOGY Banff Centre, Banff, Canada, Poster, p. 49)

Effect of Synchronization of Oestrus, AI Timing and Synchronization of Ovulation on Conception Rate of Farmed Elk(wapiti) Deer in Korea

J.H. Lee¹, I.C. Kim¹, D.S. Son¹, S.H. Baek², H.J. Kim¹, J.W.Ryu³

¹Department of Livestock Improvement, National Livestock Research Institute

²Department Computer Information, Chonan College of Foreign Studies

³Department of Animal Science, Chung-ang University

For two years from 1998 to 1999, artificial insemination (AI) was used to improve reproductive efficiency of 174 Elk does on ten farms in Korea. All does were treated with progesterone-impregnated controlled internal drug release (CIDR) devices for 14 days to synchronize estrus, and were treated with three different gonadotrophin regimens to investigate the temporal relationship between estrus and conception rate. The three treatments were as follows. Does groups of treatment 1, 2 and 3 were administered 200~250IU PMSG i. m. at CIDR device withdrawal. Treatment 2 was also injected i. m. with 0.4mg synthetic GnRH (Receptal®, USA) 18 or 24 h after CIDR device withdrawal, respectively. Treatment 3 was injected synthetic LHRH (Conceral, Korea) at AI time after CIDR device withdrawal. The does were attached with Kamar (Heatmount detectors, USA) on medial post-dorsal to determine the oestrus onset, and were inseminated at intrauterine with $2\sim 4 \times 10^7$ frozen-thawed spermatozoa (0.25ml straw) at 57, 60 and 63 h (AI timing) after CIDR device withdrawal. Pregnancy diagnosis was conducted by the means of ultrasonographic monitoring (Sonoace 1500, 5.0MHz) on Day 60 after AI.

A total of 164 does exhibited oestrus (94.2%), respectively. Conception rate was higher at CIDR+PMSG+LHRH (75.6%) than that of CIDR+PMSG (68.2%) and CIDR+PMSG+GnRH (65.3%), and was higher at 60 h(55.0%) than that of 57 h(33.3%) and 63 h(40.0%) after CIDR device withdrawal.

(발표 : 2000년 THE 1st INTERNATIONAL SYMPOSIUM on ANTLER SCIENCE and PRODUCT TECHNOLOGY Banff Centre, Banff, Canada, Poster, p. 50)

Changes of Serum Concentration of Progesterone during the estrus Cycle, Oestrus Synchronization Periods and Early Pregnancy of Elk

J.H. Lee¹, D.S. Son¹, I.C. Kim¹, H.J. Kim¹, S.W. Kim¹, Y.H.Chung¹, C.K.Kim²

¹Department of Livestock Improvement, National Livestock Research Institute

²Department of Animal Science, Chung-ang University

This study was conducted to find out the changes of serum concentration of progesterone during estrus cycle and estrus synchronization periods, to differentiate pregnant versus non-pregnant by serum concentration of progesterone measurement at Day 20~24 after artificial insemination (AI) for early pregnancy diagnosis in Elk (wapiti, cervus elaphus). Blood samples were taken from jugular veins at Day 0, 2, 4, 6, 8, 11, 13, 16, 18, 20 and 22 days of estrus cycle, at the days of CIDR devices insertion, withdrawal and AI, and at Day 20~24 after AI. Serum concentration of progesterone was assayed by progesterone kit (DELFLIA®, USA). Early pregnancy diagnosis by Progesterone measurement was compared to rectal palpation and ultrasonography methods diagnosed on 60 day after AI.

Serum concentration of progesterone was similar to the luteal phase value during early pregnancy and decreased rapidly at the end of oestrus cycle. Serum progesterone average concentration (ng/ml) of the days of CIDR devices insertion, withdrawal and AI were 5.4 (range : 0.68~20.2ng/ml), 8.1 (range : 4.1~12.9ng/ml) and 2.5 (range : 0.5~7.2ng/ml). When Pregnancy diagnosis were conducted by progesterone (P4) measurement, rectal palpation and ultrasonography method, conception rate was shown highly at ultrasonography (72.1%, 44/61 does) than that of P4 measurement (71.1%, 32/45 does) and rectal palpation (60.6%, 37/61 does). It was indicated that progesterone levels higher and lower than 1.9ng/ml were supposed to indicate pregnancy and non-pregnancy, respectively.

(발표 : 2000년 THE 1st INTERNATIONAL SYMPOSIUM ANTLER SCIENCE and PRODUCT TECHNOLOGY. Banff Centre, Banff, Canada, Poster, p. 51)

사슴의 임신진단기법 개발에 관한 연구

이장희, 김인철, 이동원, 류일선, 박성재, 서국현, 김상우, 유충현,
정경용, 백순화*, 김창근**, 손동수

농촌진흥청 축산기술연구소(janghee@rda.go.kr), 천안외국어대학*, 중앙대학교**

본 연구는 사슴의 조기 임신진단기법을 개발하기 위해 엘크 61두를 발정동기화 처리하고 인공수정하여 수정 후 20~24일에 38두의 혈액을 채취하여 혈청을 분리한 후 혈중 progesterone(P₄) 농도를 분석하였다. 혈중 P₄ 농도의 분석은 Walac Delpia 123(Delpia Co, Holland)을 이용하여 progesterone kit(Delpia, Co. 미국)로 분석하였으며, 임신진단의 정확도를 비교하기 위하여 수정 후 60일령에 직장검사와 초음파진단을 실시하였다.

Table 1은 초음파진단, 직장검사 및 P₄분석에 의한 임신진단 결과를 나타내었다. 진단방법에 따른 수태율은 초음파진단 72.1%, 직장검사 60.7%, P₄ 농도분석 68.9%, 초음파진단과 직장검사에서 동시 임신으로 판정된 것은 57.4%를 각각 나타내었다.

Table 1. Comparison of conception rate on pregnancy diagnosis method in deer

	No. of Farms inseminated does	Conception rate (%)			
		Ultrasono-graphy	Rectal palpation	Ulta & RP*	P ₄ Conc. (≥1.9ng/ml)
A	15	46.7	40.0	33.3	66.7
B	19	68.4	63.2	57.9	100.0
C	14	92.7	57.1	57.1	-
D	13	84.6	84.6	84.6	84.6
Total	61	72.1	60.7	57.4	86.8

*Ulta & RP : Ultrasonography와 Rectal palpation에서 모두 임신으로 판정된 것

이상의 결과로 보아 사슴은 임신초기에 태아사멸이 많이 발생하는 것으로 추정되며, 임신진단기법 개발을 위해서는 지속적인 연구가 추진되어야 할 것으로 사료된다.

Key words) 사슴, 임신기간, 임신진단, 정확도, 수태율

(발표 : 2001년 한국가축번식학회 춘계학술발표대회, A0102, p. 4)

**사슴의 발정동기화 및 Ov-Sync. 방법에 따른 예정시각 인공수정 후
수태율 및 분만율**

이장희, 김인철, 이동원, 류일선, 박성재, 서국현, 김상우, 유충현,
정경용, 백순화¹⁾, 김창근²⁾, 손동수

농촌진흥청 축산기술연구소(janghee@rda.go.kr), 천안외국어대학¹⁾, 중앙대학교²⁾

본 연구는 사슴의 예정시각 인공수정기술을 개발하기 위해 엘크 93두를 발정 동기화처리하고(14일간 CIDR 질내 장치) 배란을 유도하기 위하여 제거시 PMSG(Folligon, Intevet, Holland) 200IU(T₁) 또는 250IU(T₂)를 근육주사하고 60 시간 후 Conceral[®] 2ml주사하고 인공수정하거나, CIDR제거 후 24시간때에 hCG(Folligon, Intevet, Holland) 500IU를 근육주사하고 12시간 후(CIDR제거 후 36h) Receptal[®] 2ml를 주사한 후 CIDR제거 후 60시간때에 인공수정(T₃)하여 수정 후 40일경에 초음파진단(Model:Sonovet-600, 6.5MHz probe)하여 수태율을 조사하고 분만된 자육에 의한 분만율을 조사하였다. 이때 임신기간(일)은 249.5 ± 2.3일(Mean ± SD)이었다.

Table 1. Comparison of conception rate and fawning rate on the ovulation synchronization(Ov-Sync.) method for timed artificial insemination in deer

	No. of Farms treated does	Ov-Sync. Method	Conception rate (% ₁ ,n)	Fawning rate (% ₁ ,n)
A (T ₁)	32	CIDR(for 14 days) + PMSG 200 IU + after 60h Conceral* 2 ml(IM)	78.1 (25)	59.4 (19)
B (T ₂)	46	CIDR(for 14 days) + PMSG 250 IU + after 60h Conceral 2 ml(IM)	84.8 (39)	60.9 (28)
C (T ₃)	15	CIDR(for 14 days) + after 24h hCG 500 IU(IM) + after 12h Receptal** 2 ml(IM)	86.7 (13)	73.3 (11)
Total	93		82.8 (77)	62.4 (58)

*Conceral[®] : fertirelin acetate 50 µg/ml

**Receptal[®] : buserelin 0.0042 µg/ml

발정동기화 및 Ov-Sync. 방법에 따른 인공수정 후 수태율 및 분만율은 Table 1에서와 같이 CIDR를 14일간 질내 장치 후 제거시 PMSG 250IU 투여가 200IU 투여 보다 다소 수태율이 높게 나타났으나 분만율에는 차이가 없었으며(T_1 59.4% vs T_2 60.9%), CIDR제거 후 24시간 때에 hCG 500IU를 근육주사하고 다시 12시간 후 리셉탈 2ml를 주사하여 CIDR제거 후 60시간 때에 인공수정한 처리 방법의 수태율(86.7%) 및 분만율(73.3%)이 다른 발정동기화 및 Ov-Sync. 방법(T_1 및 T_2)보다 높게 나타났다.

이상의 결과로 사슴의 예정시각 인공수정방법으로는 hCG 및 GnRH 병용투여가 다소 유리한 것으로 판단되나 수태율과 분만율간의 현저한 차이에 대한 원인 규명은 좀더 지속적인 연구가 추진되어야 할 것으로 사료된다.

Key words) 사슴, 발정동기화, Ov-Sync. 예정시각인공수정, 수태율, 분만율

(발표 : 2001년 발생공학 국제심포지엄 및 학술대회, P-11, p. 66)

2. 심포지엄

가. 심포지엄 발표

1) 제목 : 사슴의 인공수정과 수정란이식

- 일 시 : 2000. 5. 26
- 주 최 : 한국수정란이식학회
- 발 표 자 : 축산연구사 이장희

2) 제목 : 사슴의 발정동기화 및 인공수정을 통한 번식률 제고

- 일 시 : 2000. 5. 26
- 주 최 : 축산기술연구소
- 발 표 자 : 축산연구사 이장희

나. 심포지엄 개최

- 주 제 : 사슴 인공수정과 개량방안
- 일 시 : 2000. 5. 26
- 주 최 : 축산기술연구소
- 장 소 : 축산기술연구소 종축개량부
- 발표 내용:
 - 사슴 인공수정시 번식장애 요인이 수정에 미치는 영향
 - 사슴의 발정동기화 및 인공수정을 통한 번식률 제고
 - 우수 종록 선발을 통한 사슴 개량
 - 사슴의 사양관리 개선을 통한 생산성 향상
 - 사슴의 생산성 제고 및 판매 전략

3. 홍보

가. 신문

- 사슴 동결정액에 의한 인공수정 성공 (1999. 10. 12. 축산신문)
- 인공수정 통해 꽃사슴 새끼 생산 (2000. 7. 4. 축산신문)
- 국내 첫 인공수정 꽃사슴 태어나 (2000. 7. 5. 문화일보)
- 사슴 인공수정과 개량방안 심포지움개최 (2001. 8. 27. 축산신문)

나. 전문지

- 사슴 인공수정의 의의와 실제 (1998. 월간양륙 9. 10. 11월호)
- 사슴 인공수정과 개량 방안 (1999. 한국양륙 11. 12월호, 2000. 1월호)
- 종록의 폐사 원인 - 3건 (2001. 월간양륙 3. 4. 5월호)

다. TV 및 라디오 방송

- “밝아오는 새아침- 사슴의 인공수정의 종록 개량 방안”
 - 방 송 일 : 1999년 11월 11일
 - 채 널 : KBS-1 라디오
 - 방송시간 : 05:00-05:50
- “밝아오는 새아침- 사슴의 인공수정”
 - 방 송 일 : 2000년 11월 1일
 - 채 널 : KBS-1 라디오
 - 방송시간 : 05:00-05:50
- “고향의 아침- 사슴의 인공수정”
 - 방 송 일 : 2000년 11월 8일
 - 채 널 : KBS-2 TV
 - 방송시간 : 06:00-06:50

라. 기술이전 교육

- 산청군농업기술센터 농민 교육 ('99. 10. 15)
- 아산시농업기술센터 품목별 상설교육 ('99. 8. 26)
- 충남농업기술원 품목별 상설교육 ('01. 8. 19)



< 사슴의 인공수정에 대한 TV 출연 >

인공수정 통해 꽃사슴 새끼 생산

축산연 국내 최초 성공...사슴산업 발전 기반 마련

축산기술연구소가 국내 최초로 인공수정을 통해 꽃사슴의 새끼를 생산하는데 성공해 국내 사슴산업의 발전을 위한 기반을 마련했다.

축산기술연구소(소장 김경남) 김정기술과 연구팀은 '98년도부터 사슴의 동결정액 생산과 인공수정 기술개발을 추진하여 지난해 10월 충남 천안시 입장면 박종설씨 소유 꽃사슴 9두를 대상으로 인공수정을 시술, 2백46일 만인 지난 5월 29일 건

강한 수사슴 한 마리가 출산하는데 성공했다고 밝혔다.

사슴의 인공수정은 수사슴 한 마리로 15두 정도의 암컷에 수태를 시킬 수 있기 때문에 능력이 우수한 수컷의 이용효율을 최대한 높임으로써 사슴 개량을 촉진시킬 수 있을 것으로 기대하고 있다. 또한 정자의 수, 활력, 기형률 등을 현미경으로 사전 검사하여 정상정액만을 사용함으로써 수태율을 향상시킬 수도 있다.

우리나라에서는 대형종 사슴인 엘크에 대해서 그 동안 외국기술자들에 의해 인공수정되어 왔으며 인공수정료도 두당 80만원에서 2백만원으로 비싸 극히 일부 농장에서만 이용하고 있다.

특히 엘크에 비해 체구가 작은 꽃사슴은 국내 사슴사육두수의 65%를 차지할 만큼 대표적인 품종이나 농장별로 능력이 우수한 수컷을 세대별로 확보하기 어려워 자연교배에 의한 근친번식이 이루어짐에 따라 사슴의 능력이 퇴화되는 등 문제점이 많아 인공수정기술 개발의 필요성이 제기되어 왔다.

축산연은 이미 사슴의 동결정액생산과 암사슴의 발정동기화 기술을 개발하여 우수한 수사슴에서 얻은 정액의 장기보존과 원거리 수송을 통해 전국 어디에서나 이 정액을 이용한 인공수정이 가능해 졌다.

작년 10월부터 꽃사슴 9두에 인공 시술
건강한 수사슴 한마리 출산하는데 성공



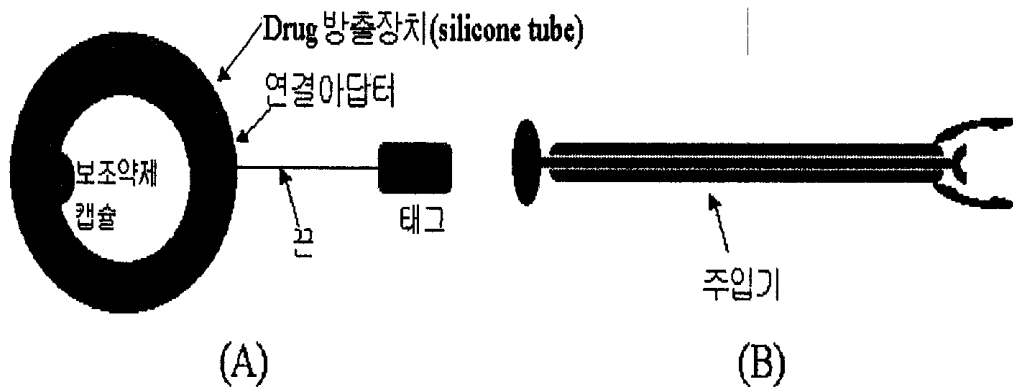
축산기술연구소가 국내 최초로 인공수정을 통해 꽃사슴 새끼를 생산하는데 성공했다.

4. 산업재산권

가. 특허 출원

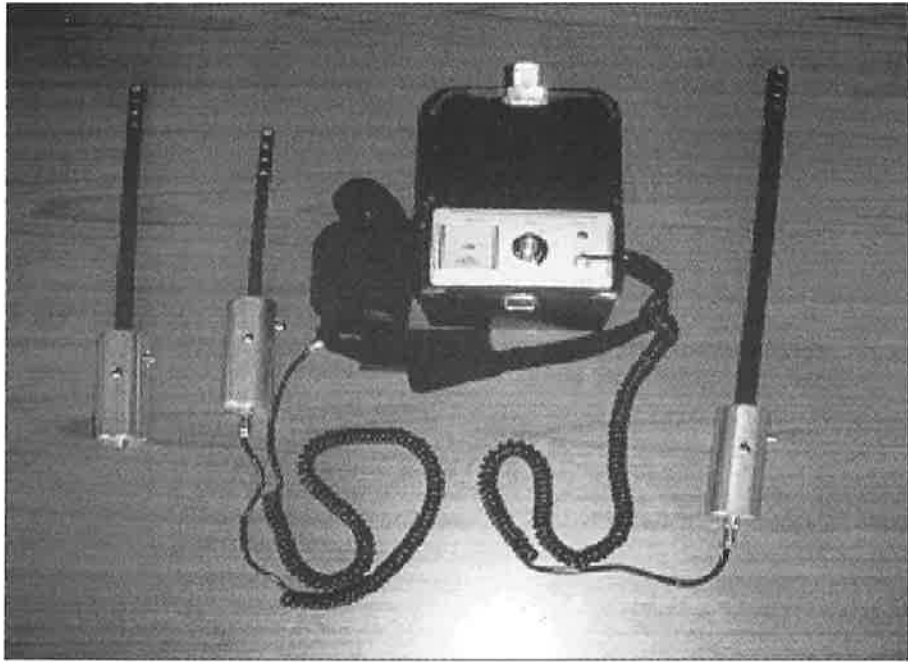
- 동물의 피임 및 발정유도 장치(출원중)

<완제품 모형>



구성요소	규격	용도
Drug 방출장치	<ul style="list-style-type: none"> · 제질 : silicone tube (ø 2mm ~ 20mm) · Hole : ø 0.5 ~ 1.0mm · Hormone progesterone; 0.3~1.5mg/tube) · 형태 : 3종(대, 중, 소) 	Drug 지속방출 (호르몬제, 항생제 등)
연결 아답터	· 제질 : PVC	링식으로 연결
캡슐	· 제질 : 연질(보조약제 방출)	보조약제 투여 (Estradiol-benzoate 방출)
태그	· 경질 셀룰로스판	제거용이, 처리기록
주입기	· 크기 : ø 16mm x 400mm	질내주입

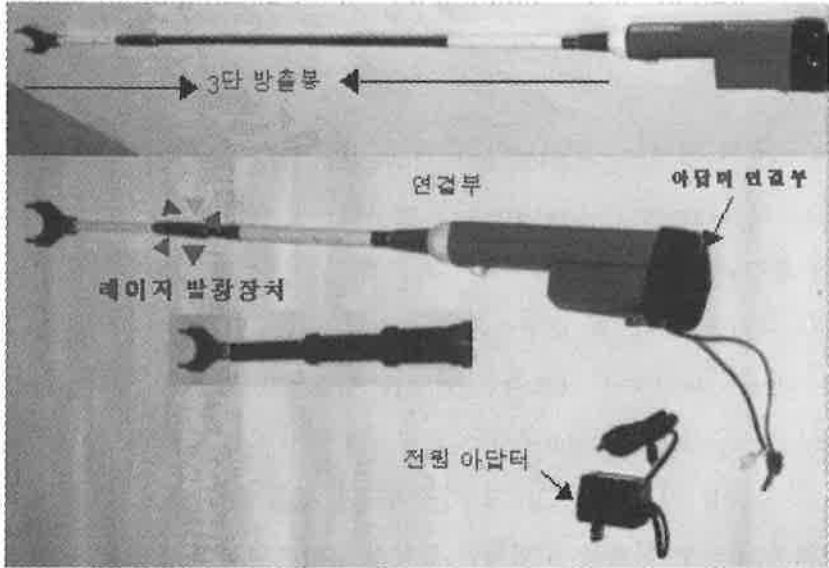
- 사슴의 전기자극 정액채취기(특허등록 : 20-189616-0000)



<정액채취용 전기자극기>

- 사슴 정액의 냉동보존액, 정액채취와 냉동방법 및 그 정액을 이용한 인공 수정기술 (출원번호 : 특허 제2000-63870호)

나. 시작품 제작



특징 : 충전식, 발광 및 소리, 방출형 자극봉

<전자충격 동물 물이기 시작품>

5. 우수 종록 선발을 위한 번식기술 정보 수집

가. 서언

본 자료는 뉴질랜드 AgResearch Invermay Agricultural Center, Otago University 및 Massey University 등을 2001년 9월 26일~10월 5일 박성재 축산 연구사가 출장하여 수집한 정보이다.

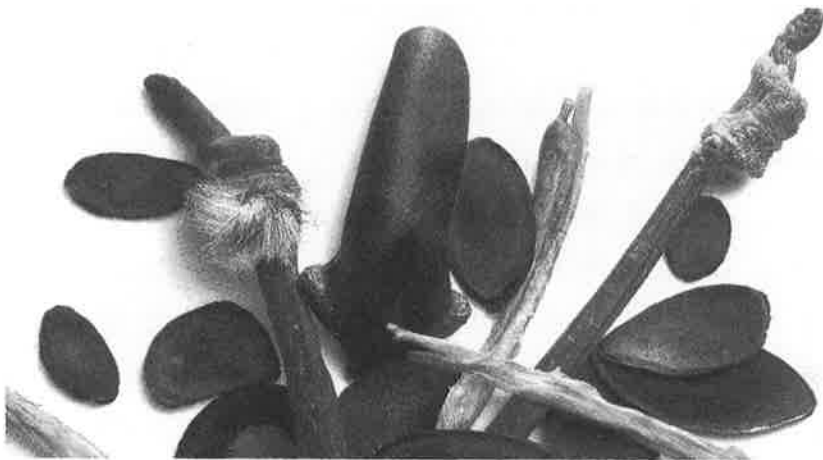
뉴질랜드에서는 대학 및 연구소에서 사슴의 육종, 번식, 가공이용, 녹용의 약효 등에 대하여 다양하고 체계적인 연구가 수행되고 있었다. 특히 AgResearch Invermay Agricultural Center에서는 외국으로부터 사슴유전자를 도입하여 자국 내 사슴의 능력을 개량하는 연구가 이루어지고 있었다. 캐나다, 러시아, 미국 등의 나라에서 우수한 종록을 수입하여 잡종강세를 이용하고 품종으로 고정시키기 위한 연구와 한국, 일본 및 중국을 겨냥한 녹용과 육류 등의 수출을 위한 연구를 많이 하고 있었다. 연구소의 사슴 사육장은 넓은 초지를 이용하여 목적별, 축종별로 구분하여 매우 합리적으로 사육·연구하고 있었고 여러 대학과 연계하여 약 20명의 연구진이 사슴에 관한 연구를 하고 있다.

5천개 이상의 사슴목장에서 1백만두 이상의 사슴들이 등록되어 사육되고 있으며 사육두수는 점차 증가한다고 하였다. 많은 수의 농장에서는 녹용 생산이 우수한 종록을 구입하여 자연종부를 하는 경우도 있고 전체의 10% 내외는 정액을 채취하여 인공수정을 실시하며, 생산된 녹용은 아시아로 수출된다고 하였다.

뉴질랜드, 러시아, 캐나다, 중국 및 호주 등에서 녹용의 최대 소비국인 우리나라에 수출을 위한 전략 상품으로 건녹용, 녹용캡슐, 녹용각환, 녹용주, 녹각 공예품 등 매우 다양하게 개발되고 있으며, 특히 뉴질랜드에서는 녹용을 상품화하기 위한 과학화에 국가적 차원으로 개발을 지원하고 있다.

표 1. 뉴질랜드산 레드디어의 녹용 성분

성 분		합 량
일반성분 (DM±SE %, 혹은 범위)	회 분	34.0±0.48
	지 방	2.50±0.14
	질 소	8.40±0.12
	칼 슴	12.1±0.27
	인	5.80±0.08
	유 황	0.43±0.01
	마그네슘	0.25±0.01
	나 트 른	0.83±0.01
	칼 른	0.42±0.10
	미량 미네랄 성분 (DM± SE mg/kg, 혹은 범위)	망 간
아 연		69±2.2
동		5.3±0.1
철		319±17
셀레니움		0.18±0.02



<사슴 생산물 가공품>

나. 사슴의 선발 및 육종 기술

뉴질랜드에서 사슴을 선발할 때 가장 중요시 하는 것은 개량화가 가능한 녹용의 생산량이다. 육종을 위한 선발과 번식계획에 고려해야 할 점은 다음과 같다.

- (1) 명확하게 측정 가능한 대상이 선발의 요소이어야 한다.
- (2) 선발을 고려하는 특징이 유전성이 있어야 한다.
- (3) 집단 내에서 원하는 특징을 위하여 변화될 수 있어야 한다.
- (4) 선발을 위한 특징들은 모두 명확해야 한다.

만약에 어떤 특징이 측정가능하고, 유전성이 있으며, 변화할 수 있는 요인이면서 선발에 의해 유전적으로 발전할 수 있다면 선발에 최우선적으로 고려되어야 한다. 예를 들면 녹용의 무게는 우수 사슴의 선발 후에 특별한 인자이기에 선발의 효과로 유전적으로 변화가 발생한 것을 측정 가능한 방법이라고 볼 수 있다.

하나의 특징으로 선발에 응용하는 것은 매우 유용한 방법이다. 사슴에서 가장 유용하게 선발에 이용할 수 있는 특징은 녹용의 크기, 생산량 일 것이다. 사슴의 선발에서 제일 먼저 고려할 수 있는 선발요소를 녹용으로 해도 무리가 없다는 뜻이다. 일반적으로 수사슴의 체중과 뿔의 크기는 정의 상관관계가 있다고 한다. 사슴을 조기에 선발할 때는 신체가 큰 수사슴일 수록 큰 녹용을 생산할 수 있다는 것이다.

사슴에서는 선발의 기본적인 특징으로 녹용의 크기나 무게를 고려를 하고 육종의 계획을 세우는 것이 유리하다는 것이다.

큰 개념으로 육종의 기준을 설정한다면 생산물(녹용, 고기 등)에 대해 섭취한 사료량(목초 급여량, 섭취량 등)으로 나누어서 계산할 수 있다. 이는 들어간 돈에 대한 생산된 고기나 녹용 등의 가치로 계산할 수 있다는 논리가 된다. 그리고 육종이나 선발에 고려할 수 있는 요인의 하나는 체구가 큰 사슴일 수록 생물학적인 대사효율이 높기 때문에 체구가 작은 것보다는 생산력이 높으므로 충분히 고려할 수 있는 요소라는 것이다. 소동물에 비하면 대동물이 훨씬 생산력이 높다는 것을 의미하므로 큰 개체를 선택하는 것을 고려해야 한다. 경제성을 두

고 선발의 요소를 결정하는 경우가 많으므로 소요된 경비가 가장 적은 것이 결국 선발이나 육종을 위한 요소로 고려될 수 있다는 것이다.

선발의 효율을 높이기 위해서는 나이, 도체중, 이유율, 폐사율을 고려하여 육종 및 선발의 전반적인 요소로 이용할 수 있다. 고기의 생산량으로 선발하여 육종한다면 육량에서는 매우 효과적인 방법일 수 있다. 반면에 자축의 생산효율은 감소할 수 있다는 것을 염두에 두어야 한다. 뉴질랜드에서는 대부분의 육종 및 선발에 관한 기술이 사육사슴의 84%인 red deer에 맞추어져 있다. 따라서 다른 품종을 도입하여 잡종강세를 이용, 개량을 위한 시도를 하고 있다. 잡종강세의 효과를 고려하여 육종에 이용되는 사슴은 New Zealand sika(성체중 75kg), New Zealand red(성체중 100kg), European red(성체중 100~150kg), Fiordland wapiti(성체중 170kg), Canadian wapiti(성체중 240kg) 등이다.

표 2. 수사슴의 선발차에 의한 녹용의 유전력과 유전적 기대치

수사슴 이용	유전력	수사슴의 선발차	세대간격(년)	년간 유전적 변화량(kg/년)
상위 1%	0.35	0.93	5.5	0.03
	0.35	0.93	8.0	0.02
평균치 이용	0.35	0	5.5	0
	0.35	0	8.0	0

표 2에서는 사슴의 녹용 생산량에 대한 유전력은 0.35이므로 상위 1%의 우수한 수사슴을 선발하여 이용하였을 때 5.5년이 경과하면 유전적인 개량량은 연간 0.03kg이다. 따라서 우수하지 않은 수사슴을 이용하면 유전적 개량량은 기대하기 어렵다는 연구결과이다.

다. Red deer 사슴의 번식

(1) 품종의 특징

전세계의 어느 지역의 온도에서도 잘 적응하는 사슴이다. 많은 수가 뉴질랜드, 오스트라리아, 북아메리카, 유럽에 분포하고 있다. 아직도 농장내 사슴번식 기술의 수준은 매우 취약하다. 하지만 잠재성은 무한히 크다.

인공수정(배란동기화, 정액채취/수정과정, 수정기술)이나 수정란이식(다배란처리, 수정란회수)과 여러 가지 형태의 Gamete의 조작은 자연적인 번식과는 다른 향후 바람직한 방향으로 유전적인 개량에 이용되고 있으며, 유전적으로 특이한 유전자를 고려하여 유전자를 도입하여 바꿀 수 있는 육종을 하면 매우 효과적이다.

뉴질랜드에서 Red deer는 주로 5~6월에 발정이 오고, Fallow deer는 5~7월에 발정증상을 보인다. 발정주기는 Red deer는 18일 정도이고, Fallow deer는 21~22일 정도이다. 수태가 되지 않으면 두품종 모두 4~6개월간 발정주기가 계속된다. 뉴질랜드에서는 주로 늦은 4월부터 Red deer가 Fallow deer보다 2~3주 먼저 번식계절이 시작된다. 이것은 분명히 두 품종간에 출생 계절간에 상관성이 있는 것 같다. 그리고 두 품종간에 임신기간도 234일로 비슷하다. 수태율은 자연종부에서 80%이하를 보인다. 수놈의 정소는 겨울에도 왕성하게 정자를 생성하나 봄이되면 옹성호르몬 분비도 줄어들고 정자의 생성이 매우 적어진다. 여름에는 거의 정자생성이 멈춘다. 여름 2개월 정도 거의 정자생성이 멈추어져 있다가 여름이 끝나는 시기에 서서히 정자가 생성되기 시작한다. 늦여름부터 초가을에는 수사슴의 목근육이 비대해지면서 발정이 시작된다. 뉴질랜드, 오스트라리아, 미국에서는 인공수정을 상업적으로 하는 경향이 있으며 매우 효과적인 기술이며 신속한 발전이 기대되고 있다. 발정시 발정관찰은 매우 어렵다는 보고하는 데 하네스를 착용시켜 발정을 감지하는 것이 효과적이다. 90% 정도가 관찰된다. Red deer는 비교적 교미를 하기 위해 승가를 적게하는 편이다. 그러므로 발정관찰이 매우 중요하다. 교미 후 대부분의 분만은 Red deer에서는 11월 하순부터

12월말까지 이고 Fallow deer는 12월초에서 12월하순까지 이어진다. 뿔이 매우 크지기 전에 대부분 발정증세를 매우 강하게 보이므로 발정시기와 뿔간에는 밀접한 연관이 있다고 본다.

(2) 발정동기화 방법

인공적으로 발정이 동시에 오도록하는 발정동기화 방법은 자연적인 발정보다는 비용과 효과면에서 매우 적용이 필요한 기술의 하나이다.

(가) CIDR(controlled internal drug release) 기구를 이용한 동기화 방법

이 기구는 progesterone을 분비하도록 하는 기구인데 사슴의 질내에 주입하여 난포발육을 억제하였다가 제거후 난포가 생성하도록 하여 발정을 동시에 오도록 하는 기구이다. 12~14일 동안 질내에 주입을 하는 데 이때 기구에서 분비되는 progesterone의 양은 0.365g 정도이다. 요즘은 발정이 시작되는 초기에 동시발정을 유도하여 종부가 되도록 하고 자연발정 주기에는 임신이 안된 개체에서 수정이 될 수 있도록 하는 방법이 많이 연구되고 있다. 발정시작 후 24시간 후 난포의 배란이 일어나므로 여기에 맞추어 수정을 실시하면 효과적이다. 배란의 동기화 유도는 CIDR제거 후 70~80시간 안에 일어난다. CIDR는 최소 9일 정도는 지나야 효과적이라는 보고를 하고 있다. CIDR제거시에 PMSG를 100~500 단위로 주사를 하여 난포의 성숙, 배란을 많이 유도하기도 한다. PMSG는 100~200단위가 효과가 좋은 것으로 나타났다. 동시에 수정을 유도할 수 있고 수정란이식을 할 수 있어 인력이나 시간 절약에 효과적이라고 생각된다.

CIDR한가지만 이용하면 50% 정도만 배란이 일어나고 CIDR와 PMSG를 같이 병용하면 90~95% 정도의 높은 확률로 배란이 일어난다고 보고를 한다 (Bringans 등). CIDR를 14일 이상 질내에서 있게 되면 12일 간 질내에 주입한 경우와 비교를 하여 수태율이 떨어진다고 보고하였다.

(나) prostaglandin 투여

prostaglandin제제를 이용하는 경우는 활동성이 양호한 황체가 있을 때 주사하는 것은 동시발정 유도에 매우 도움이 된다. 그러나 황체기를 맞추기가 매우 어렵다. 최근에는 복강경을 이용하여 자궁내 인공수정을 실시하여 70.4%의 수태율을 얻어 52.9%의 prostaglandin제제의 투여구 보다 더욱 높은 결과를 얻고 있다. prostaglandin제제 주사후 수태율은 40.7% 이고 CIDR를 이용한 경우 수태율은 85.4%로 높다고 보고하였다.

(3) 정액 채취 및 인공수정

수사슴의 정액채취에 주로 이용하는 방법은 마취후 전기적자극에 의해 정액을 채취한다. AgResearch Invermay Agricultural Center에서는 자연적인 승가를 유도하여 인공질법으로 신선한 정액을 채취하여 수태율을 높이는 연구를 실시하고 있으며, 수사슴의 의빈대 승가가 되도록 훈련시켜야 하나 숙달만 되면 매우 효과적이라고 하였다. 그러나 채취자의 안전도 측면에서는 마취후 전기자극에 의한 채취법이 효과적이라고 했다.

봄이나 여름에는 정소의 활동이 없어서 정액의 채취는 불가하나 가을에는 4~6개월 간 정액이 채취가 가능하다. 인공질을 이용하여 정액을 채취하는 데 수사슴이 숙달만 되면 아주 양호한 채취법이나 농가에서는 실제로 정액채취가 어렵다. 채취한 정액은 동결을 위하여 CO₂ ice 나 액체질소를 이용하는 데 희석제는 sodium citrate-egg yolk-glycerol diluent를 사용한다. 수정에 이용하는 정자의 농도는 85×10⁶ 정도의 살아있는 정자의 숫자로 맞춘다.

최근에는 Intracervical 수정법으로 20~40×10⁶ 마리의 정자를 사용하여 38~80%의 수태율을 얻는 정도로 상업적으로 이용하고 있다.

복강경을 이용하여 자궁내에 인공수정을 실시하는 경우는 85×10⁶ 수의 정자를 주입한다. CIDR제거 후 56~58시간에 인공수정을 실시한다.

표 3. Intracervical insemination 방법에 의한 수정 후 수태율

동기화 방법	공시두수	임신두수	수태율(%)
CIDR divice	26	22	84.5
CIDR + 50IU PMSG	26	16	61.5
Prostaglandin	27	11	40.7
Prostaglandin + 50IU PMSG	26	17	65.4
Total	105	66	62.9

(4) 수정란이식

우수한 종빈축과 종모축을 이용하여 수정란을 생산한 다음 이식하는 방법이다. 수란우는 대리모 역할이기에 능력이 떨어지는 개체를 이용해도 된다. 수정란 생산을 위해 사용하는 호르몬은 PMSG, FSH와 CIDR를 이용하여 다배란을 유기시킨다. 주로 소에서 이용하는 방법을 응용한다.

Gamete 조작기술로는 oocyte recovery, IVM, IVF, IVC, embryo splitting, cloing(nuclear transfer), sperm과 embryo sexing, gene transfer 등을 말하고 있다. IVM, IVF를 하기 위해서는 미성숙난자를 확보해야하는 데 이는 초음파기기를 가지고 생체내에서 채취 및 복강경을 이용하여 채취를 하거나, 도축장에서 난소를 채취하여 난자를 확보하는 데 모두 IVM, IVF을 위해서 필요한 단계이다. 사슴 도축장에서 난소를 채취해서 번식계절에 6개 정도의 미성숙 난자를 얻을 수 있다. 소처럼 많은 난자를 얻기가 어렵다. 그러나 다배란 처리를 하면 8.2개의 oocytes를 얻을 수 있다. 사슴난자의 핵성숙 유도는 39℃, 5% CO₂ 수준에서 24~28시간을 성숙시켜야 한다. 체외수정율은 20~23%정도이다. 20~24시간 성숙을 유도한 다음 체외수정을 실시한다. 체외수정란 생산법이 소와 거의 유사하게 실시를 한다.

수정란을 분할 하는 경우는 생존력이 감소하므로 분할 당일 날 이식을 해야한다.

복제수정란을 만드는 경우는 8~32 세포기의 할구를 이용하는 데 거대산자, 관절염, 난산 등 많은 문제점이 발생하는 데 금후 많은 연구가 필요한 상황이다.

라. 정액의 평가

(1) 채취현장에서 평가

정액채취 후 부생식선에서 분비된 물질에 의해 오염되는 경우가 있는 데 오줌이나 생식관액에 의해서 오염되는 경우가 많다. 그러므로 “진한 우유색” 이나 “크림색”의 깨끗한 정액만을 채취하도록 노력을 해야 정액의 동결이나 신선 정액을 이용하여 인공수정을 하였을 때 높은 수태율을 기대할 수 있다. 정액의 질 관리가 무엇보다 중요하다는 것이다.

농가에서 정액의 성상을 점검한다면 40배 정도의 현미경만 준비해도 가능하다. 정자의 움직임이 크고 활력(운동성)이 좋으면 살아있는 정자의 비율이 높다.

표 4. 정자의 운동성 평가

평 점	생존율(%)	운 동 성
5점	90	매우 좋은 운동성, 매우 활동적이다, 매우 빠르게 방향을 바꾸면서 운동을 한다.
4점	70~85	활동적으로 운동성을 보이고 운동방향을 바꾸는 것이 덜 빠르다.
3점	45~65	좋은 운동성. 운동성이 적다. 개개의 정자를 확인할 있다.
2점	20~40	희박한 운동성. 물결과 움직임이 없다. 매우 적은 수의 정자가 운동성을 보인다.
1점	0~15	매우 약한 생존성. 매우 적은 정자가 움직임을 보인다.
0점		운동성 없으며, 모든 정자 죽음

(2) 실험실에서 평가

(가) 정액의 운동성

정액의 운동성을 점검하는 것은 매우 중요하다. 1~5등급으로 구분하여 정액을 판단하는 것이 필요하다. 200배의 현미경에서 슬라이드를 올려놓고 정자의 전진성을 점검한다.

(나) 정액의 양과 농도

회석을 해야하기 때문에 전체적인 채취정액의 양을 점검하는 것이 필요하다. 정액의 농도는 전체회석의 양을 결정하는 중요한 요소이다.

(다) 정자의 생사 판정

eosin 1.67g과 nigrosin 10.00g이 증류수 100ml에 용해되도록하여 filtering하고 냉동고에 보관하면서 사용한다. 사용전에는 반드시 37℃로 가온한 다음 사용해야 한다. 이 때에 주의해야 할 점은

- ① 정액검사용 슬라이드는 깨끗해야 하고 따뜻하게 가온이 되어야 한다.
- ② 정액과 염색액은 반드시 똑같은 온도가 되어야 염색이 잘된다.
- ③ 검사용 정액양은 얇아야 한다.
- ④ 검사용 정액을 밀거나 당기면 정액에 상해를 주므로 피해야 한다.

(라) 정액의 취급

가능한 한 정액에 손상이 적게 가도록 취급을 하는 것이 중요한 데 몇 가지 요소에 의해서 정액의 질이 결정되기도 한다.

① 정액의 회석

인공수정 전에 정액을 회석해야 하는 데 수정전 12시간까지 살아있어야 한다. 대부분의 정액은 sodium citrate에 egg yolk을 완충제로 섞어서 사용한다. 정액을 동결 보존하고자 하면 일반적으로 glycerol을 첨가동결보호제로 사용

한다.

희석제를 정액에 첨가하기전 30℃로 유지하면서 천천히 희석을 해야 한다. 정액을 채취하는 시점에 희석을 해도 된다. 완충제로 사용하는 난황은 신선한 계란을 사용해야 하고 난황만 분리해서 사용하는 데 난황막이나 albumin이 들어가지 않도록 한다. 조심스럽게 완전히 난황을 희석하는 것이 필수이다.

② 온도

정액채취시 정액튜브를 37℃로 따뜻하게 데우는 것이 중요하다. 온도의 변화의 많으면 정자의 생사에 영향을 많이 준다.

③ 금속과의 접촉

금속은 정자를 죽이는 효과가 있으므로 사용하는 용기는 유리나 플라스틱으로 된 것을 사용하는 것이 유리하다.

④ 사용 물

사용하는 물은 화학적 조성이 양호하고 삼투압이 알맞은 것을 사용해야 하는 데 완충액을 만들때는 증류수를 사용한다. 완충액과 희석되지 않은 물이 직접적으로 정자와 접촉하면 정자를 죽이는 효과가 있으므로 이는 반드시 피해야 한다. 그러므로 모든 초자기구는 반드시 건조시켜서 사용해야 한다.

⑤ PH

완충액의 산성도는 6.8~7.2가 적당하다 만약에 산성도가 맞지 않으면 정자에게 치명적일 수 있다.

⑥ 다른 물질과의 접촉

소독성의 물질이거나 방부성의 물질과는 접촉하는 것이 해롭다. 행글 때는 증류수를 사용하거나 초자기구를 건조시키기 전에는 냉수에 담가두는 것이

좋다. 사용하는 초자는 100℃에서 20분간 하는 것이 좋다. 간혹 알콜에 초자기구를 행구하고 사용전에 완전하게 건조시키는 것이 중요하다. 먼지, 박테리아, 머리카락 등은 정자의 활력을 감소시킨다. 정액채취 전에 음경주변을 깨끗이 하는 것도 중요하다.

⑦ 햇빛

대부분 야외에서 정액을 채취하므로 정자에 큰 문제는 없으나 직접적으로 햇빛이 정액에 조사되는 것은 피하는 것이 좋다.

(마) 정액의 이송

보통 종어로 덮어서 이동을 하는 데 정액을 채취후 1차적으로 1:1로 희석하고 간단한 물이 충전된 30℃의 water jacket을 이용하여 이동하는 데 최대한 온도변화를 줄이도록 한다. 정액을 만약에 차갑게 이동하고자 하면 40ml glacial acetic acid가 봉합된 것으로 15℃를 유지하면서 이동하면 된다. 중요한 것은 온도변화를 최소화하면서 정액을 이동하는 것이다.

(바) 정액의 용해

세포의 상해를 줄이기 위해 낮은 온도에서 보관하고 용해는 급속하게 하는 것이 동결정액 이용의 기본적인 이론이다. 보관은 주로 액체질소에서 하고 70℃에서 5~10초간 용해를 하는 것을 대부분 추천을 하는 데 35~37℃에서 30초간 용해하는 것을 선호하기도 한다. 스트로 내의 공기가 밀봉된 끝으로 이동하면 물에서 꺼집어 내어 사용한다. 밀봉된 것을 자른 다음 신속하게 장착을 한 다음 인공수정을 실시한다. 스트로 장착기는 따뜻하게 보온한 상태에서 사용하는 것이 유리하다.

(사) 결론

인공수정에서 중요한 것은 깨끗하게 유지하는 것이다. 그리고 철저한 준비를 하여 불필요한 시간을 절약하는 것이다.

마. 초음파기기를 이용한 사슴의 임신진단 기법

초음파기기를 이용한 임신진단은 간단하고, 정확도가 높고, 비용이 싸다는 장점이 있다. 사슴의 복강근육은 긴장도가 높고 손이 자유롭게 움직일 수 없기 때문에 손으로 임신진단은 정확도가 떨어진다. 초음파기기를 이용하면 보다 쉽게 임신진단할 수 있다. 임신진단은 42~110일 사이에 실시하면 효과적으로 임신진단할 수 있다. 엘크나 대형종은 직장을 통한 검사가 가능하나 레드디어 종은 어렵다. X-ray로 임신진단하는 경우는 수정후 85일 정도 지난 후에 실시해야 정확도가 높다. 혈액 내 progesterone을 분석하여 임신진단하는 것은 정확도가 높으나 분석을 해야하는 단점이 있다.

초음파진단기는 번식장애 사슴의 번식기관 진단, 태아의 진단으로 분만일령 예측으로 분만시기 준비 가능, 인공수정이나 수정란이식 후 성공여부 판단, 비임신축 선별, 수정능력없는 수사슴 점검후 대비책 강구 등의 용도가 매우 다양하다. 수정 후 50~105일령에는 초음파기기로 매우 정확하게 진단할 수 있으며, 정확도는 100%이다. 주로 5Mhz 직장용 탐촉자를 이용한다.

초음파상으로 측정된 레드디어의 난소 길이는 17~25mm, 폭은 7~15mm, 깊이는 6~10mm 정도이고 신장모양과 비슷하다. 자궁의 크기는 20mm 정도이고 자궁각의 길이는 65~130mm로 형태가 소처럼 굽어있다. 직경은 20mm 정도이다. 자궁소구 크기는 8mm 정도이고 넓이는 30~40mm 정도이다. 자궁경의 길이는 50~70mm, 직경은 23mm 정도이고 내부에는 6개의 고리가 있고, 넓이는 10~15mm 정도이다. 질의 길이는 180~225mm 정도이고 방광은 50~80mm 정도에 위치해 있다.