

精子에 대한 物理的 處理에 依한 돼지의 性比調節에 關한 研究

李用斌 · 任京淳* · 徐國聖 · 吳成宗
서울大學校 農科大學, *嶺南大學校 農畜大學

Studies on the Sex Control in Swine by the Physical Treatments on spermatozoa

Yong B. Lee, Kyung S. Im*, Kuk S. Suh and Sung J. Oh
College of Agriculture, Seoul National University

College of Agriculture and Animal Science, *Yeung Nam University

Summary

This experiment was conducted to separate X- and Y-bearing spermatozoa of boar semen. The ratio of X- and Y-bearing spermatozoa to total spermatozoa included in ejaculated semen obtained from 4 boars raising at the College of Agriculture, Seoul National University and treated by the sedimentary or electrophoretic technique was estimated. For the electrophoresis, the semen specimen was placed into the copper loop electrodes in 30cc of glass tube at room temperature for 30 minutes and in order to sedimentary separation, the semen was sedimented in 5°C water for 50 minutes.

The sperm fluorescent staining technique was performed by the method of Bhattacharya et al. (1976).

The results obtained were as follows;

1. Average rate of B-body bearing spermatozoa in normal boar semen was $45.15 \pm 4.20\%$, and no significant difference was observed between 1st ($44.88 \pm 6.41\%$) and 2nd ($42.75 \pm 4.17\%$) fraction of fractionally collected semen.
2. Spermatozoa were separated into several different fractions by sedimentation. B-body appearances from the top and bottom fraction were 53.70% and 33.43%, respectively. There were highly significant difference between the top and bottom fractions.
3. The swine spermatozoa were separated into X- and Y-bearing spermatozoa by electrophoresis without interfering the sperm motility. The rates of B-body bearing spermatozoa attracted to the anode and cathode were 60.4% and 21.8%, respectively. Highly significant difference between two fractions was also observed.

I. 緒 論

人工授精의 發達로 家畜改良 및 增殖이 상당히 진전했다는 것은 주지의 사실이며 受精卵을 産業的으로 利用하게 된 단계에 까지 왔다. 그러나 가축개량을 보다

効率的이고 획기적으로 촉진하기 위하여 最近에는 X-精子和 Y-精子を 分離시켜 人爲的으로 後代의 性을 支配하려는 研究(Bhattacharya, 1976; Shirai, 1974; Schilling, 1971; 李等, 1979)가 活潑히 進行되고 있으며 部分的으로 成功이 日前에 다가왔다 해도 過言이 아닐 것이다. (鄭, 1977; 李等 1979). 性을 支配하려는 最初

의 試圖들은 生體內에서 受精을 支配하려는 것이었으며, 이에 多角의이고 集中的인 점으로 상당한 成果도 얻었으나 決定的인 成功을 얻지 못해 새로운 方法이 강구되었다. 이러한 要請에 따라 精子의 人工分離法이 시도되었고 이론상 완벽스럽게 가능성을 갖고 있지만 실제면에서 많은 어려움이 있다, (西田, 1977; 鄭, 1977; 李等, 1979). 精子의 人工分離法은 電氣的, 免疫學的, 化學的인 差異 및 重量, PH反應, 走地的 性質의 差異를 利用한 X-精子와 Y-精子를 分離하고 있다.

電氣的 性質의 差異를 利用한 X-精子와 Y-精子를 分離하려는 研究는 Mudd等(1929)과 Keltch(1930)이 처음으로 시도했고 Nevo等(1961), Bangham(1961)등도 電氣分離하여 精子가 陰極과 陽極으로 움직이며 Y-精子는 陰極行이라 추정하였다 그러나 Shirai等(1974)과 李等(1979)은 사람, 돼지의 정자를 電氣分離한 結果 Y-精子는 陽極行이라 報告하였다. 特히 Shirai等(1974)은 사람의 精子를 電氣分離하여 80% 정도의 性調節의 可能性을 推정한바 있다. 그러나 Hafs와 Boyd(1971)

Table 1. Characteristics of the Semen

Items No.of case	Breed	Age	Body weight	Sperm concentration	Semen volume	Motility
		yr.	kg		ml.	
1	Land. I	3	210	2.8×10^8	260(50)	+++
2	Land. II	2	150	2.6×10^8	250(30)	+++
3	York. III	3	320	2.2×10^8	380(71)	+++
4	York. IV	3	280	2.3×10^8	390(110)	+++
Total Mean	4	2.75	240	2.5×10^8	320(65.25)	+++

가 電氣分離한 精液을 家兎에 受精시킨바 그 産仔性比에 큰 變化를 얻지 못했고 Schilling(1971)도 같은 結果를 報告한 반면 Bhattacharya(1976)등과 Lindahl(1971)등은 counter streaming sedimentation을 할 수 있는 分離器具를 고안하여 80%이상의 性比를 調節할 수 있다고 報告했다.

한편 X-精子와 Y-精子의 重量과 走地的 性質의 差異를 利用한 沈澱分離는 Bhattacharya(1966), Schilling, Knaack(1968)등이 代表的인 實驗者라 생각되며 特히 Schilling(1971)은 脫脂乳, 鹽類 및 卵黃으로된 media를 만들어 소의 精子를 9~12層까지 分離하여 最下位層을 受精시킨 結果 雌雄比率는 69.8%로서 고도의 有意差가 認定되었다고 報告하였다. 한편 Knaack(1968)은 沈澱分離된 精液을 1,368頭에 受精시킨 결과 最下位層에서 549頭(63.2%)가 암송아지였고 上位層에서는 61.8%가 수송아지였다고 하였다. 特히 Schilling(1971)은 소의 精子를 沈澱分離로 70~75%가 上 限腺으로 보고하고 있어 이에 對한 研究도 각각적으로 實施해야 할 것으로 보여진다.

本試驗에서는 돼지의 精子를 電氣泳動 및 沈澱分離에 의하여 B-body를 檢出하여 分離可能性 및 그 정도를 알아보기 위하여 실시하였다.

II. 材料 및 方法

電氣分離와 沈澱分離를 하기 위해서 서울大學校 農

科大學 附屬牧場에서 飼育되고 있는 Yorkshire種 2頭, Landrace種 2頭, 計 4頭의 精液을 利用하였다. 供試豚에 給與된 飼料는 Table 1과 같으며 飼養管理는 附屬牧場 養豚管理에 준했다. 精液은 의빈대를 使用하여 채취했으며 채취직후 量, 活力, 精子數等을 調査(Table 2)하였다. 電氣分離를 爲하여 직경 15mm, 길이 20cm

Table 2. Chemical Composition of feed.

Chemical Composition	Ratio (%)
Crude protein	13.0
Crude fat	3.0
Crude fiber	10.0
Crude ash	10.0
Ca	0.5
P	0.4
M.E.	Kcal/kg
D.C.P.	10.0
T.D.N.	67.0

인 유리관을 使用하였다. 陽極과 陰極을 分離管 兩極에 구리선으로 설치했고, 室溫에서 D.C. 2.35V., 250 μ A 정전압 정전류로 30分間 通電分離하였다. 한편 沈澱分離를 위하여 직경 30cm, 길이 20cm인 cylinder에 精液을 넣고 5°C물에서 60分間 정치하여 分離하였다. 電氣, 沈澱分離後 各 處理에서 試料를 채취하여 螢光

顯微鏡下에서 B-body를 檢出했으며, 이때 B-body檢出 방법은 Bhattacharya(1976)等과 李(1979)等의 方法에 準했다. B-body는 녹색을 띤 밝은 노란색(yellowish-green)을 나타냈다.

III. 結果 및 考察

1. 分離채취시의 B-body 出現率

本試驗에서 4두로부터 분리채취한 精液을 處理에 따라 B-body를 檢出した 結果는 Table 3과 같다.

Table 3. B-body test of fractionated boar semen.

Repl.	Treat.	Control		1st		2nd		Difference		
		Total sperm	B-body(A) %	Total sperm	B-body(B) %	Total sperm	B-body(C) %	A~B %	A~C %	B~C %
Land. I		159	47.2	75	53.3	66	47.0	6.1	0.2	6.3
Land. II		116	48.5	121	45.5	45	43.5	2.8	4.8	2.0
York. III		180	46.1	198	42.7	172	43.5	3.4	2.6	0.8
York. IV		187	39.0	122	38.0	117	37.0	1.0	2.0	1.0
Total		642		516		400				
Mean±S.D.			45.15±4.20		44.88±6.41		42.75±4.17	3.33±1.86	2.40±1.90	2.53±1.57

원정액에서 4두의 B-body檢出率은 39%에서 48%(45.15±4.20%)로 나타나고 있으나, 分離채취시 1차 정액에서는 44.88±6.41%, 2차 정액은 42.75±4.17%였다. 上記 원정액의 B-body檢出率과 分離채취정액의 B-body檢出率은 統計의 有意差가 없었다. 特別 B-body

檢出時 技術上的 困難을 감안한다해도 Y-染色體가 반드시 B-body로 出現되는 것은 아닌 것 같았다.

2. 沈澱分離時 B-body檢出

인산완충액(pH 7.0)을 媒液으로 하여 精子를 分離시킨 結果는 Table 4와 같았다.

Table 4. B-body test of sedimented boar semen.

Repl.	Treat.	Control		Top fraction		Bottom fraction		Difference		
		Total sperm	B-body(A) %	Total sperm	B-body(B) %	Total sperm	B-body(C) %	A~B %	A~C %	B~C %
Land. I		159	47.2	172	59.3	136	31.6	12.1	15.6	27.7
Land. II		116	48.3	183	57.4	186	34.9	9.1	13.4	22.5
York. III		180	46.1	227	55.9	152	37.5	9.8	8.6	18.4
York. IV		187	39.0	149	42.2	195	29.7	3.2	9.3	12.5
Total		642		731		659				
Mean±S.D.			45.15±4.20		53.70±7.80		33.43±3.46	8.55±3.79	11.73±3.34	20.28±6.43

上位層에서 B-body檢出率은 53.7±7.80%였고 沈澱層(bottom fraction)에는 33.43±3.46%로 上位層과 沈澱層사이에는 20%정도의 差異가 認定되었다. 그러나 Schilling(1971)등이 報告한 9~12層의 牛精子 沈澱分離와는 相當한 差異가 있었으나, 4~5層으로 分離한 本試驗에서도 60~70%의 沈澱分離가 可能한 것으로 思料되었다. 그러나 수태성적은 確실한 推定을 할 수 없었다.

沈澱分離에는 精子의 크기, 모양, 중력, 그리고 沈澱 media에 따라 沈澱에 相當한 影響을 미치는 것 같

으며 아직도 精子의 沈澱分離에 對한 機構(mechanism)가 완전히 밝혀지고 있지 않다(Schilling 1971).

3. 電氣分離에 依한 B-body檢出

4頭의 精子를 電氣分離한 結果를 Table 5에 나타냈다.

電氣分離時 陽極에서의 B-body檢出率은 57~67%(60.40±4.36%)였고 陰極의 그것은 16~30%(28.15±7.93%)가 있으며 沈澱分離時보다 10%가 더 分離된 것 같다. 人間의 X-와 Y-精子를 90%까지 分離한 Shirai(1974)等의 報告와는 差異가 있으나 電氣處理中 精子

Table 5. B-body appearance of galvanized boar semen.

Repl.	Control		Anode		Cathode		Difference		
	Total sperm	B-body(A) %	Total sperm	B-body(B) %	Total sperm	B-body(C) %	A~B %	A~C %	B~C %
Land. I	159	47.2	149	58.2	261	34.4	11.0	15.8	26.8
Land. II	116	48.3	266	66.9	292	16.4	18.6	31.6	50.5
York. III	180	46.1	168	57.7	160	33.8	9.6	12.3	21.9
York. IV	187	39.0	198	58.8	125	31.0	19.8	8.0	27.8
Total.	642		778		838				
Mean±S.D.		45.15±4.20		60.40±4.36		28.15±7.93	14.75±5.20	17.00±6.60	31.75±12.76

의 活力이 감소하지 않고 生存率에도 큰 영향이 없었다.

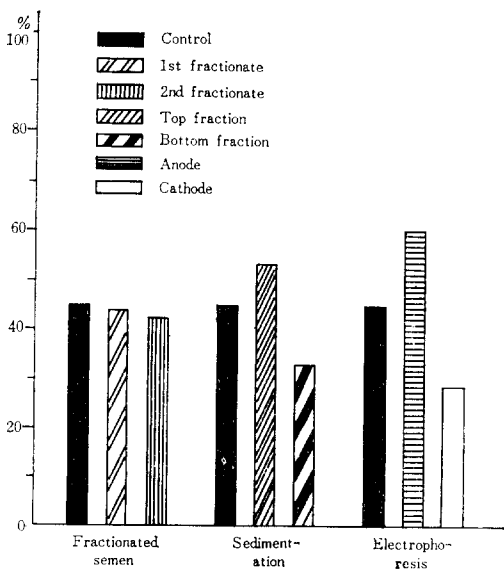


Fig. 1. B-body appearance of fractionated, sedimented and galvanized boar semen.

그림 1은 돼지 精子의 分離채취, 沈澱分離, 電氣分離를 相互比較한 것으로 B-body檢出率이 높은 것은 電氣分離였다. 차후 沈澱方法和 電氣分離方法을 結合하여 상호결점을 보완하는 研究가 遂行되어야 할 것으로 생각되며, 수태시험도 가급적 병행 실시하는 문제가 해결되어야 할 것으로 思料된다.

IV. 摘 要

돼지 精子를 人工分離하기 위하여 서울大學校 農科大學 附屬動物飼育場에서 種牡豚 四頭의 精液을 利用, 分離채취, 沈澱分離, 電氣分離하여 B-body를 檢出した 결과 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 돼지 精子의 平均 B-body檢出率은 $45.15 \pm 4.20\%$ 였고, 分離채취시 1차 精液에서 $44.88 \pm 6.41\%$, 2차정액에서 $42.75 \pm 4.17\%$ 로 처리간 有意差가 없었다.

2. 돼지 精子의 沈澱上 上位層(top fraction)이 $53.70 \pm 7.80\%$, 沈澱層(bottom fraction)은 $33.43 \pm 3.46\%$ 로서 그차이는 20%였다.

3. 電氣分離時 B-body 檢出率은 陽極에서 60.4%陰極에서 28.15%로 그차이는 31%였다.

引用 文 獻

1. Bahr, G.F. 1971. Separation of X-and Y-bearing Spermatozoa by gravity. A symposium, Anim. Sci., 28~37.
2. Barlow, P, and C. G.Vose. 1971. The Y chromosome in human spermatozoa. Nature., 226 : 961.
3. Bhattacharya, B.C. and A.H. Gunther. 1976. Phenotype of mammalian spermatozoa in relation to genetic content. Indian J. of Exp. Bio., 14: 610~611.
4. Hafs, H.D. and L.J. Boyd. 1971. Galvanic separation of X- and Y-chromosome bearing sperm. A symposium, Anim. Sci.,: 85~97.
5. Leslie, W. G. Quinlivan and Herlinda Sullivan. 1974. The ratios and Separation of X and Y spermatozoa in human semen. Fert. Steril., 25: 315~318.
6. Lindahl, P. E. 1971. Gentrifugation as a means of separation X- and Y-chromosomes bearing spermatozoa. A Symposium, Anim. Sci.,: 69~75.
7. Mudd, S. & E.B.H. Mudd. 1929. The specificity of mammalian spermatozoa with especial reference to electrophoresis as a means of serological differentiation. J. Immunol., 17: 39~52.

8. Nalbandov, A.V. 1976. Reproductive physiology of mammals and birds. W.H. Freeman & company. pp 7~10
9. Pearson, P.L., M. Bobrow, & G.G. Vosa, 1970. Technique for identifying Y chromosome in human interphase nuclei. Nature, 226: 78~80.
10. Pearson, P.L., M. Bobrow. 1970. Fluorescent staining of the Y chromosome in meiotic stages of the human male. J. Reprod. Fertil., 22 : 177.
11. Schilling, E. 1971. Sedimentation as an approach to the problem of separating X- and Y-chromosome-bearing spermatozoa. Anim. Sci., 76~84.
12. Sherman, J.K. and Florence char. 1974. Stability of X-chromosome fluorescence during freeze-thawing and frozen storage of human spermatozoa. Fert. Sterl., 25: 311~314.
13. Shirai, M. S. Matsuda and S. Mitsukawa. 1974. Electrophoretic Separation of X-and Y-chromosome-bearing sperm in human semen. Tohoku J. exp. Med.; 273~281.
14. Zech, L. 1969. Investigation of metaphase chromosomes with DNA-binding fluorochromes. Exp. Cell Res., 58 : 463.
15. 西田司一. 1977. 哺乳動物における性支配實驗. 畜産の研究 31(6) : 796~800.
16. 李用斌, 吳鳳國·任京淳·徐國聖·吳成宗·1979. 돼지 性調節에 관한 연구. 韓畜誌投稿中.
17. 鄭吉生. 1977. 家畜의 性比調節에 관한 연구동향. 한국가축번식연구회보 1(1) : 73~82.
18. 韓成郁·金昌根·朴英一. 1972. 돼지의 산자성비에 관한 연구. 한축지. 14(3): 184~188.