韓國家畜繁殖研究會報 3(1) : 41~47(1979)
Korean J. Anim. Reprod.

家畜에 있어서 X-精子와 Y-精子의 分離에 관한 硏究

高大煥 · 朴欽大 · 鄭吉生
建國大學校 畜産大學

A Study on the Separation of X- and Y-Spermatozoa in Farm Animals

Dae Hwan Ko, Heom Dae Park, Kil Saeng Chung
College of Animal Husbandry, Kon Kuk University

Summary

This experiment was carried out to clarify the methods of the F-body test in human and the B-body test in bull and hog. The effect of pH and albumin concentration on the migration of X- and Y-sperm was also investigated.

The results obtained were summarized as follows:

1. In the human semen, the frequency of sperm in which an F-body is visible was different by the fluorochrome. Namely, in case of quinacrine mustard, the F-body frequency was 48.8~43.4 percent (average 49.6%), and in case of quinacrine dihydrochloride, that was 40.7~50.8 percent (average 42.0%).
2. The frequency of appearance of B-body was 43.3±1.3 percent in bull semen, and 45.5±0.7 percent in hog semen.
3. Appearance of B-body in bovine semen was increased due to duration of time after washing till 12 hours.
4. Separation of X- and Y-spermatozoa using diluents with different hydrogen ion concentration was impossible.
5. Appearance of B-body separated in medium with 6, 10 and 20% ovalbumin was 51.1±2.4, 50.6±2.5 and 58.2±3.0 percent, respectively, and those values were significiantly higher ($p<0.01$) than corresponding control values.

I. 緖 論

後代의 性을 人爲的으로 支配하려는 硏究는 오래전부터 多角的인 側面에서 試圖되어 왔다. 이제까지 試圖되어온 性支配硏究는 生體內에서의 受精支配法과 體外로 射出된 精子의 人工分離法 등 두가지로 大別되는데 前者는 初期에 많이 試圖된 方法이며 後者는 近來에 많이 硏究되고 있다.

生體內에서의 受精支配法도 여러 側面에서 檢討되어 왔는데 그 中 1930年 Unterberger의 pH에 의한 性支配 報告는 斯界의 관심을 끌었었다.

近來 각광을 받고 있는 X-精子와 Y-精子의 人工分離法도 多角的인 側面에서 硏究되고 있는데 그 中 電氣的性質에 의한 分離法에 있어서는 Schröde(1932), Gordon(1957) 등이 分離成功을 報告했으나 Machowka & Schegaloff(1935) Siljander(1936), Joel et al.(1951), Pilz(1952), Kordts(1952), Lewin(1956) Nevo et al.(1961), Bangham(1961) 및 Sevine(1968)등은 追試報告에서 否定하였다. 重量差에 의한 分離法에 있어서는 Lindahl(1956), Bhattacharya(1958, 1962) 등에 의해 試圖되었는데 Bhattacharya는 家兎에서는 成功했으나

牛精子의 分離에서는 有意한 結果를 얻지 못했다.

그 後 Zech(1969)의 F-小體檢定法(F-body test), Bhattacharya(1976)의 B-小體檢定法(B-body test)등, 人間 및 動物에 있어서 X-, Y-精子識別法이 開發됨에 따라 性支配研究에 하나의 轉換點을 맞이하게 되었는데 이어 Bhattacharya(1976)는 그의 逆流沈降法(counter streaming sedimentation)과 交流電流法(convection galvanization)을 並用하여 92%純度로 X-精子와 Y-精子를 分離하는데 成功하였으며 71頭의 乳牛에 授精하여 81.7%의 受胎率을 얻었다. 또한 Ericssion et al. (1973)은 荷地性을 利用하여 純度 85%까지 分離成功하여 産仔의 性支配에 밝은 展望을 주었다.

그러나 諸外國의 活發한 研究와 그 結果 일어진 고무적인 成績에도 불구하고 具體的인 技術이 거의 알려져 있지 않으며, 國內의 研究報告는 全無한 狀態이다. 이러한 實情을 감안하여 F-小體檢定法과 B-小體檢定法을 再檢討하고 X-精子와 Y-精子를 分離하기 위한 몇가지 實驗을 實施하여 약간의 成績을 얻었으므로 그 結果를 報告한다.

Ⅱ. 材料 및 方法

1. 實驗期間 및 場所

本 實驗은 1978年 1月부터 1978年 10月 사이에 建國大學校 畜産大學에서 實施하였다.

2. 實驗材料

1) 供試精液

(1) 人間精液

5日以上 禁欲한 5人의 提供者가 手淫法으로 試驗管에 直接 射精한 精液을 使用하였다. 단 採取直後 精液量 2.5m*l*이상, 精子濃度 6×10^7/m*l*, 運動率 60%以上의 條件을 充足하는 精液만 供試하였다.

(2) 牛精液

建國大學校附設牧場에서 飼養되고 있는 Holstein種牡牛와 韓牛 2頭의 精液을 人工膣法으로 採取하여 使用하였다.

(3) 豚精液

Yorkshire種牡豚 2頭로부터 手壓法으로 分離採取하여 濃厚한 精液만을 使用하였다.

2) 使用試藥

本 實驗에서 使用한 重要試藥은 다음과 같았다.

(1) 生理食鹽水

(2) Papaya protease(Sigma)

(3) Quinacrine mustard(Sigma)

(4) Quinacrine dihydrochloride(Sigma)

(5) Thyrode's solution(調製使用)

(6) 無水에틸알콜(和光純藥)

(7) Immersion oil(Leiz, nD=1.515)

(8) Tris(hydroxy methyl)amino methane(MERCK)

(9) Citric acid(關東化學)

(10) Ovalbumin(MALLINCKROAT)

3) 使用器具

本 實驗에서 使用한 重要器具는 다음과 같았다.

(1) 螢光顯微鏡(Leiz)

(2) 遠心分離器(Kokusan)

(3) 液體窒素容器(MVE)

(4) Vinyl管(FHK)

(5) 파스테르 모세관

3. 實驗方法

1) F-小體檢定法

新鮮한 人間精液 1m*l*에 生理食鹽水 2.5m*l*을 加하여 3,000rpm으로 遠沈하여 3회에 걸쳐 洗滌했다. 遠心分離에 의하여 精漿을 完全히 除去한 沈澱物 즉 精子를 生理食鹽水 1m*l*에 浮游시킨 후 이 浮游液 1滴을 슬라이드글라스에 떨어뜨려 즉시 塗抹하여 風乾한 後 無水 ethyl alcohol에 5分間 沈漬하여 슬라이드글라스에 精子를 固定시켰다. 이 精子塗抹標本을 1% quinacrine dihydrochloride 또는 0.005% quinacrine mustard에 20分間 沈漬하여 染色하였다. 이어서 水洗한 다음 물이 묻어있는 그대로의 슬라이드글라스에 카바글라스를 덮고 oil immersion을 하여 螢光顯微鏡으로 直接 觀察하였다.

2) B-小體檢定法

新鮮한 牛精液을 卵黃枸椽酸溶液(4°C에 24時間 靜置하여 不溶性 粒子를 除去한 것)으로 20倍 稀釋한 다음 液體窒素에 冷凍시킨 후 38°C의 물에서 融解하여 使用하였다. 融解한 精液 1m*l*(精子濃度 約 5×10^7/m*l*)에 生理食鹽水 2.5m*l*을 添加하여 3,000R.P.M으로 遠沈, 上清을 除去하는 操作을 3回에 걸쳐 반복, 精漿을 完全히 除去하였다. (豚精子는 上記의 原精液 1m*l*을 牛精子와 同一한 方法으로 洗滌하였으며 이 以下의 過程은 牛精液과 同一하였다)

精子沈澱物을 生理食鹽水 1m*l*에 浮游시킨 후, 이 浮游液 3滴에 10mg의 단백질 분해 효소인 protease를 添加하여 38°C에서 10分間 消化시켰다. 다음 1%의 quinacrine dihydrochloride 1滴을 슬라이드글라스에 떨어뜨린 후 여기에 上記의 消化시킨 精子浮游液 1滴을 添加하여 室溫에서 3~5分間 放置했다. 이어서 슬라이드글라스에 塗抹한 후 즉시 커버글라스를 덮어 oil immersion下에서 螢光顯微鏡으로 觀察하였다.

3) X-精子와 Y-精子의 分離

(1) 水素이온濃度(以下 pH로 略함)에 依한 分離法

精子浮游液의 pH에 의하여 X-精子와 Y-精子를 分離할 목적으로 Chung(1973)의 方法에 따라 tris(hydroxy methyl) amino methane과 citric acid를 사용하여 pH 5.4, 6.0, 6.9 및 8.3의 네 가지 溶液을 製造하였다. (pH의 測定은 pH指示紙를 使用했음) 直徑 1.5mm, 길이 10cm의 vinyl管 한쪽 끝을 완전히 밀봉한 뒤 上記의 媒液을 vinyl管에 충전한 다음 原精液이 담겨있는 직사각형의 유리용기에 넣어 精液에 잠기게 한 후 30°C에서 3時間 保存한 후 vinyl管을 끄집어 내어 표면을 증류수로 完全히 洗滌한 後 vinyl管內部의 混合液을 遠沈, 洗滌하여 B-小體檢定을 實施하였다.

(2) 走地性을 利用한 分離法

新鮮한 豚精液(10×10^8/m*l*) 1m*l*에 thyrode's sol. 1m*l*을 添加 2,000rpm으로 15分間 遠沈, 洗滌한 後 沈澱物을 1m*l*의 thyrode's液에 浮游시켰다. thyrode's液과 25% ovalbumin溶液을 混合 albumin濃度가 6%, 10% 및 20%가 되게끔 세 가지의 溶液을 만들어 파스테르 모세관에 各各 6/10쯤 채운 後 上記의 精子浮游液을 0.5m*l*씩 서서히 添加하였다. 나머지 浮游液 0.5m*l*씩은 對照區로 利用했다. 이렇게 한 다음 30°C에서 한 時間 保存한 後 上層液과 下層液을 分離하여 各各 B-小體檢定을 實施하였다.

Ⅲ. 結果 및 考察

1. F-小體 및 B-小體 識別法

F小體와 B-小體 檢定을 爲하여 使用한 螢光顯微鏡은 Leitz의 Ortholux였으며 光源은 HP430, transmission wave length는 530nm이었고 KP-490의 exciter filter를 使用하였다. immersion oil은 nD=1.515를 使用하였다.

어두운 顯微鏡視野中에 精子는 全體가 螢光을 띠며 螢光의 程度는 精子의 部分에 따라 달라 頭部의 앞부분부터 2/3가량은 약간 어둡고, 뒷부분 1/3쯤은 매우 밝으며, 그 境界部에는 아주 明瞭한 線이 그어져있다. 尾部는 약간 어두우며 끝으로 갈수록 더욱 螢光의 빛이 엷어진다. F-小體는 大部分이 濃淡境界部에 位置해서 特히 强하게 빛나는 圓形의 境界明瞭한 小斑點으로 나타난다. (Fig. Ⅰ 참조)

한편 B-小體觀察法은 F-小體檢定法과 同一하였다.

B-小體는 Fig. Ⅱ에서 보는 바와 같이 어두운 顯微鏡視野中, 精子는 全體가 螢光을 띠며 F-小體와는 달리 頭部는 螢光의 程度가 거의 同一하였다. 그러나 尾部는 F-小體와 마찬가지로 螢光이 약간 弱하며 끝으로 갈수록 빛이 엷어졌다. B-小體는 大部分이 頭部의 中

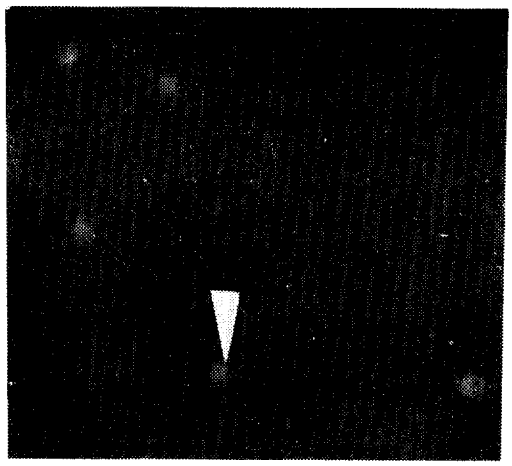

Fig. Ⅰ Typical F- body positive spermatozoa (arrow) in human. (×4,000)

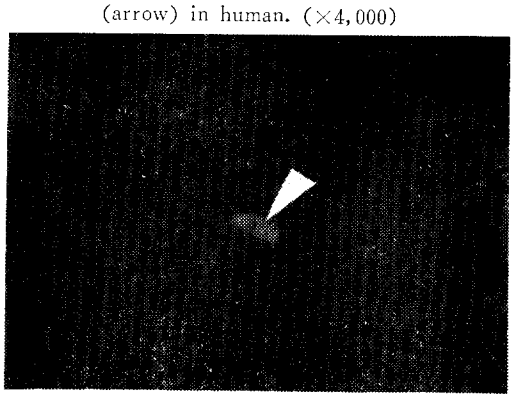

Fig. Ⅱ Typical B-body positive spermatozoa (arrow) in hog. (×4,000)

央近處에서 觀察되며, 强하게 빛나는 圓形의 小斑點으로 보인다. 이 小斑點은 F-小體보다 相對的으로 작으며 빛의 强度는 효소의 活性, 溫度 및 時間 등과 相關關係가 있는 것 같았다.

2. F-小體와 B-小體의 出現頻度

1) F-小體 出現頻度

F-小體檢定法에 依한 人間精子의 F-小體 出現率은 表 I에서 보는 바와 같다. F-小體의 出現率은 quinacrine mustard(以下 Q-M으로 略함)를 使用할 경우 48.8~50.8%로 平均 49.6%였다. 이에 對하여 螢光染色用으로 quinacrine dihydrochloride(以下 Q-D로 略함)를 使用한 경우는 40.7~43.4%로 平均 42%였다. Q-M을 使用하였을 경우에는 Barlow & Vosa(1970)가 報告한 45.1%보다 成績이 좋은편이었으나 Bhattacharya (1976)가 報告한 成績 49.8%와는 거의 비슷하였다. 한편 Q-D를 使用할 경우에는 Barlow & Vosa(1970)의 40.2%보다 약간 좋은 편이었으나 Diasio & Glass

(1971)가 報告한 成績 42.6±4.2%와는 거의 비슷했으며 Ericsson et al.(1973)이 報告한 48.5%보다는 아주 낮았다. 이와같이 使用하는 染色液에 따라 B-小體出現率에 差異가 나는 것은 螢光性의 强度에 對한 빛 抑制效果(quenching effect)面에서 Q-M이 Q-D보다 優秀하기 때문이라고 생각된다. (Caspersson et al. 1970). 그러나 染色方法의 改善에 依해 短時間內에 F-小體를 觀察하는 경우에는 Q-D에서도 그렇게 나쁘다고 할 수는 없다. (Borgaonhar & Hollander, 1971, Ericsson et al. 1973, 宮本, 1974). 어쨌든 一般的으로 볼 때 Q-M을 使用하는 것이 Q-D를 使用하는 것보다 F-小體檢出成績이 優秀한 것으로 思慮된다. 그리고 또한 硏究者들에 따라 檢出成績에 差異가 나는 것은 使用하는 精液에서도 어느 程度의 誤差를 認定할 수있겠으나 그보다는 染色方法의 差異에 原因이 있는 것으로 思慮된다.

Table 1. Frequency of sperm in which an F-body is visible(+) or invisible(−)

Fluorochrome	Sample	(+)%	(−)%	No. of observations
Quinacrine mustard	A	48.9	51.1	333
	B	50.8	49.2	228
	C	49.3	50.7	320
	D	50.4	49.6	278
	E	48.8	51.2	348
	Mean(total)	49.6	50.4	(1,507)
Quinacrine dihydrochloride	A	40.7	59.3	243
	B	42.5	57.5	301
	C	42.2	57.8	320
	D	41.1	58.9	348
	E	43.4	56.6	279
	Mean(total)	42.0	58.0	(1,491)

2) B-小體檢定法

家畜(牛, 豚)精液에 對한 B-小體檢定結果는 表 2에서 보는 바와 같다. 牛精液의 경우 B-小體出現率은 43.3±1.3%였으며 豚精液의 경우는 45.5±0.7%이었다. 牛精液의 경우 Bhattacharya(1976, 1976)가 報告한 49.8%나 55.8%에 比해 상당히 낮은 成績이었으며, 豚精液의 경우도 Bhattacharya 가 報告한 50.1%보다 成績이 낮았다. 이러한 成績上의 差異는 먼저 使用된 螢光染色液이 本 實驗의 경우는 Q-D인데 比해 Bhattacharya는 Q-M을 使用한 데에 가장 큰 原因이 있다고 思慮되며 또한 實驗方法에서도 原因을 찾을 수 있을것으로 思慮된다. 즉, 本 實驗에서는 Bhattacharya가 使用한 方法을 약간 變形했는데 그것은 효소의 量을 倍加했으며 또한 protease의 消化時間은 10分으로 한 反面 溫度를 37°C로 하였다. 이렇게 處理過程을 變形시킨 것은 螢光染色液이 精子의 組織內部로 浸透하여 染色이 容易하도록 蛋白質膜을 消化하는 酵素의 作用効果를 높이기 위한 것이었다.

Table 2. Frequency of spermatozoa in which an F-body in human and B-body in bull and hog is visible(+) or invisible(−)

Species	(+)%	(−)%	No. of observations
Human	41.8±0.5	58.2±0.5	948
Buli	43.3±1.3	56.7±1.3	1,174
Hog	45.5±0.7	54.5±0.7	1,102

한편 表 3은 精液을 洗滌한 直後 즉시 消化 染色한 것과 洗滌한 후 12시간 및 24時間이 經過한 다음 消化·染色한 것의 B-小體出現率을 나타내고 있다. 表 3에서 보는 바와 같이 洗滌한 直後 消化·染色하여 檢鏡한 것은 B-小體檢出率이 36.9~38.8%로 平均 37.9%였으며 12時間 經過한 것은 43.5~46.3%로 平均 45.0%

Table 3. Effect of time course on the appearance of B-body in bull spermatozoa after washing

Time after washing	Sample	Y(%)	X(%)	No. of observations
0 hr.	A	36.9	63.1	260
	B	38.8	61.2	116
	C	38.1	61.9	268
	D	37.9	62.1	245
	E	37.6	62.4	287
	Mean(total)	37.9	62.1	(1,176)
12 hrs.	A	43.5	56.5	184
	B	46.3	53.7	177
	C	45.3	54.7	269
	D	44.1	55.9	261
	E	45.8	54.2	286
	Mean(total)	45.0	55.0	(1,171)
24 hrs.	A	44.0	56.0	250
	B	44.1	55.9	272
	C	44.6	55.4	269
	D	45.0	55.0	271
	E	44.3	55.7	289
	Mean(total)	44.4	55.6	(1,351)

이었다. 이러한 事實로 미루어 보아 洗滌後 얼마간의 時間이 經過한 後에 消化·染色하여 B-小體를 檢出하는 것이 成績이 좋은 것으로 思慮되며, 또한24時間 經過 後의 것은 44.0~45.0%(平均 44.4%)로 12後間 經過한 것과 別 差異가 없는 것으로 보아 一定時間以上 經過하면 더 오랜 時間이 經過해도 F-小體出現率에는 變動이 없는 것으로 생각된다. 이러한 現象의 原因은 洗滌後 時間이 經過함에 따라 精子의 細胞膜이 弱해져 酵素에 依한 消化가 容易해져서 染色液의 細胞內浸透가 쉬워지는 때문인 것으로 思慮된다.

3. X-精子와 Y-精子의 分離

1) 水素이온濃度(pH)에 依한 X-精子와 Y-精子의 分離

水素이온濃度(以下 pH로 略함)에 依한 X-精子와 Y-精子의 分離에 對한 論理的 根據는 "알칼리성은 Y-精子를 賦活시키고, 酸性은 X-精子를 賦活시키기 때문에 알칼리성은 雄性産仔의 出生을, 酸性은 雌性産仔의 出生을 助長한다. (Unterberger, 1932)"는 데에 있다. 이러한 論理的 根據에 입각하여 pH에 依해 X-精子와 Y-精子를 分離한 成績은 表 4와 같다. 表 4에서 알 수 있는 바와 같이 pH의 變化가 B-小體를 가진 精子 즉 Y-精子의 毛細管內 移動에 對하여 그다지 영향을 미치지 못했다. 즉 citric acid로 pH를 5.4로 맞춰 酸性에서의 Y-精子出現率의 變動을 觀察했지만 有意性이

Table 4. Effect of pH on the appearance of hog spermatozoa in which B-body is visible

B-bodies	Fresh ejaculate	pH5.4	pH6.0	pH6.9	pH8.3
No. sample*	5	5	5	5	5
Mean± S.D.	42.0±3.5	32.4±3.7	50.2±4.3	47.8±1.3	—

* 100 sperm counted in each sample.

없었다. Shettles(1960)은 酸性媒液에서 X-精子가 Y-精子보다 더 활발히 移動한다는 것을 發見하고 다음과 같은 假說을 提示했다. 즉, Y-精子보다 큰 X-精子는 酸性의 有毒性에 저항성이 더 强하며, X-精子, Y-精子 모두에게 적합한 알칼리성에서는, 작고 근본적으로 더 빠른 Y-精子가 卵子에 먼저 到達하므로 後代의 性은 임신전에 영향을 받을 수 있다는 것이었다. Kleegman(1954)은 인공수정의 硏究를 通해 以上과 같은 Shettles의 理論을 임상적으로 지지하였다. 그러나 本實驗의 結果에서는 管속의 媒液의 pH에 따라 Y-精子가 이동하는 것이 아니라는 것을 示唆한다. (Diasio & Glass(1971)도 人間精子를 使用하여 實施한 實驗에서, 本 實驗과 마찬가지로, pH에 依해 X-精子와 Y-精子를 分離할 수는 없었다고 報告했다.) 이러한 結果를 綜合하여 생각할 때 最小限 生體外에 있어서 pH에 依한 X-精子와 Y-精子의 分離는 不可能한 것으로 思慮된다.

2) 走地性을 利用한 X-精子와 Y-精子의 分離.

精子는 引力의 中心 즉 地球의 中心을 向하여 移動하는 走地性(geotaxis)이 있다. 그런데 X-精子와 Y-精子는 이 走地性의 程度가 다르다. (鄭, 1977) 따라서 이러한 論理的 根據아래 本 實驗을 實施했다.

Table 5. Isolation of Y-sperm with different concentration of ovalbumin in hog

Composition of isolation fraction	% Y sperm		
	Washed sperm (control)	Top fraction	Isolation fraction
6%	45.4±1.0	29.6±1.4	51.1±2.4
10%	46.2±1.5	31.5±1.1	50.6±2.5
20%	45.5±1.7	27.6±1.6	58.2±3.0

表 5에서 보는 바와 같이 媒液은 ovalbumin 6%, 10%, 및 20%의 세가지를 사용했다. 6%의 경우 無處理한 對照區는 B-小體 出現率이 45.4±1.0%인데 비해 上層液은 29.6±1.4%이었고 下層液(albumin分離分劃)은 51.1±2.4%로서, 上層液은 X-精子의 比率이 높아졌고 albumin分離分劃은 Y-精子의 比率이 높아졌다. albumin濃度 10%인 경우는 處理하지않는 對照區의 B-小體 出現率은 46.2±1.5%인데 대해 上層液은 31.5±1.1%이었으며 albumin分離分劃은 50.6±2.5%로 X-精子, Y-精子의 分離가 認定되나 成績은 제일 나빴다. 20% albumin溶液에서는 成績이 제일 좋아서 對照區의 B-小體 出現率은 45.5±1.7%인데 비해 上層液의 그것은 27.6±1.6%이고 albumin分離分劃은 58.2±3.0%였다.

Ericsson et al. (1973)이 人間精液을 BSA(Bovine Serum Albumin)로 分離한 成績은 6% BSA의 경우 對照區의 B-小體 出現率이 49±1%인데 대하여 上層液의 그것은 47±2%이었고 分離分劃의 그것은 63±2%였으며, 10% BSA의 경우는 對照區 48%에 上層液이 45%, 分離分劃이 61%였다. 한편 BSA 20% 경우는 對照區가 49% 上層液이 46% 分離分劃이 67%로서 本實驗에서의 結果보다 成績이 優秀하다. 「또 이들은 10% ovalbumin을 使用해서도 46%(對照)에 上層液이 41% albumin分離分劃이 63%로서 더 높은 成績을 얻고 있다.」 그러나 本 實驗에서는 豚精液을 使用한 反面 Ericsson et al.은 人間精液을 使用했으며, 媒液도 그들

의 BSA대신 ovalbumin을 使用해서 直接 比較하기에는 無理가 따른다. 따라서 本 實驗에서 얻어진 成績은 豚精液을 走地性을 利用 分離한 데 대한 有意性의 認定(P<0.01)으로 意義를 찾을 수 있다고 思料되며 앞으로의 豚精液의 X-精子, Y-精子分離法으로서 硏究한 價値가 있는 것으로 思料된다.

한편 6%, 10% 및 20%의 ovalbumin溶液을 使用, 6%로 분리한 液을 다시 10%로 分離하고, 다시 20%로 分離하는 實驗을 試圖했으나 精子가 응집되는 현상을 보였다. 이 方法도 ovalbumin 代身 BSA를 使用하고 溫度를 變形시키는 것등의 變形을 通해 硏究할 價値가 있는 것으로 思慮된다.

Ⅳ. 摘　　要

本 實驗에서는 人間, 牛 및 豚으로부터 採取한 精液을 使用하여 1978년 1월부터 1978년 10월 사이에 F-小體檢定法과 B-小體檢定法을 實驗하고 pH와 走地性에 依한 X-精子와 Y-精子分離法을 檢討하여 다음과 같은 結果를 얻었다.

(1) 人間精液의 F-小體 出現率은 染色液이 螢光染色劑로서 quinacrine mustard(Q-M)이었을 경우는 48.8～50.8%(평균 49.6%)이었으며 quinacrine dihydrochloride(Q-D)를 使用하였을 때는 40.7～43.4%(평균 42.0%)로서 Q-M을 使用하면 Y-小體를 거의 100%檢出할 수 있음이 判明되었다.

(2) 소와 돼지 精液의 B-小體出現率을 보면 牛精液의 경우는 43.3±1.3%였으며 豚精液의 경우는 45.5±0.7%였다. 牛精液의 경우 洗滌後 一定時間이 經過한 다음 消化 染色하여 檢出하면 出現率이 약간 높아졌다.

(3) X-精子와 Y-精子의 分離는 pH 依存度가 낮았다.

(4) 分離液으로서 6%, 10% 및 20%의 ovalbumin液을 使用하였을 때 分離된 豚精子中의 B-小體 出現率은 各各 51.1±2.4%, 50.6±2.5% 및 58.2±3.0%로서 對照區에 對하여 高度의 有意差(P<0.01)가 認定되었다.

Reference

1. Bangham, A.D. 1961. Electrophoretic characteristics of ram and rabbit spermatozoa. Proc. R. Soc. B., 155 : 292.
2. Barlow, P. and C.G. Vosa. 1970. The Y cromosome in human spermatozoa. Nature(Lond.), 226: 961.
3. Bhattacharya, B.C. 1958. Sex control in mammals. Z. Tierz. Zücht. Biol., 72 : 250.
4. Bhattacharya, B.C. 1962. Die verschiedene Sedimentationsgeschwindigkeit der X- und Y-Spermien und die Frage der willkürllichen Gescelechtsbestimmung. Z. wiss. Zool., 196 : 203.
5. Bhattacharya, B.C., A.H. Günther, H.L. Enos, P.M. Evans and C.R. Ghosh. 1976. Phenotype of Mammalian Spermatozoa in Relation to Genetic Content Ⅰ. Indian J. Experi. Bio., 14 (5) : 610～611.
6. Bhattacharya, B.C., A.H. Günther. 1976. Phenotype of Mammalian Spermatozoa in Relation To Genetic Content Ⅱ. Personal Communication.
7. Borgaonkar, D.S. and D.H. Hollander. 1971. Quinacrine Fluorescence of the Human Y Chromosome. Nature(Lond.), 230 : 52.
8. Caspersson, T.L. Zech and E.J. Modest. 1970. Fluorescent labeling of chromosomal DNA. Superiority of Quinacrine mustard to quinacrine. Science, 170 : 762.
9. Chung, K.S. 1973. Studies on the changes in the contents of electrollytes and lipids in boar and bull spermatozoa. The thesis of Ph.D. KYOTO Univ. (Japan), : 43.
10. 鄭吉生 1977. 家畜의 性比調節에 관한 硏究 動向. 韓國家畜繁殖硏究會報, 1(1) : 73
11. Diasio R.E. and R.H. Grass 1971. Effects of pH on the migration of X and Y sperm. Fertil. Steril., 22(5) : 303.
12. Ericsson, R.J., C.N. Langevin and M. Nishino. 1973. Isolation of Fractions rich in Human Y Sperm. Nature, 246 : 21～24.
13. Gorden, M.J. 1957. Control of Sex ratio in rabbits by electrophoresis of spermatozoa. Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. 43 : 93.
14. Joel, C.A., A. Kotechalsky, O. Kedem and N. Sternberg. 1951. Electrophoresis of human spermatozoa. Experiment, 7 : 274.
15. Kleegman, S. 1954. Therapeutic donor insemination. Fertil. Steril., 5 : 7.
16. Kordts, E. 1952. Untersuchungen über die Eigtung der Electrophorese zur Trennung der männchenund weibchenbestimmenden Spermien beim Kaninchen. Z. Tierz. Zücht. Biol., 60 : 221.

17. Lewin, S. 1956. Artificial sex regulation of mammalian offspring. Br. Vet. J., 112 : 549.
18. Lindahl, P.E. 1956. Separation of bull spermatozoa carrying X- and Y-chromosomes by counterstreaming centrifugation. Acta Agricul. Scand., 83 : 226.
19. Machowka, W.W. and S.B. Schegaloff. 1935. Die Reakiton der Spermatozoen auf konstanten Strom. Arch. Entw. Mech. Org., 133 : 694.
20. 宮本. 1974. Y-chromatinを 指標とする比重勾配法によるヒト精子の分劃分離に關する研究. 日本不姙學會雜誌, 19(1) : 60～71.
21. Nevo, A.C., I. Michaeli and H. Schindler. 1961. Electrophoretic properties of bull and of rabbit spermatozoa. Exptl Cell Res., 23 : 69.
22. Pilz, A. 1952. Das Verhaltnis der Säugetierspermien und electrische Feld. Z. Tierz. Zücht. Biol., 60 : 315.
23. Schröder, V. 1941. Künstliche Geschlechtsregulation der Nachkommenschaft der Säugetiere und ihre biologische Kontrolle. Z. Tierz. Zücht. Biol., 50 : 1.
24. Shettles, L.B. 1961. Difference in human spermatozoa. Fertl. Steril.,: 12.
25. Siljander, A.A. 1936. Sbornik Trudov Zootek. Kaf. s.h. Skol Kirov.,:148.
26. Unterberger, F. 1930. Lenkung der Geschlechtsverhäl tnisse. Dtsch. med. Wsch., 56 : 304.
27. Zech, L. 1969. Investigation of metaphase chromosomes with DNA binding fluorochromes. Exp. Cell Res., 58 : 463.