

돼지의 자궁내 인공수정기술개발에 관한 연구

공일근[†] · 정금택 · 이정우 · 정수룡 · 오인석 · 유대중 · 이효상 · 김기수¹ · 배인휴 · 조성균
순천대학교 농업생명과학대학 동물자원과학과

Development of Intrauterine Insemination Technique in Pig

I. K. Kong[†], K. T. Jung, J. W. Lee, S. R. Jeong, I. S. Oh, D. J. Yu, H. S. Lee,
K. S. Kim¹, I. H. Bae and S. G. Cho

*Department of Animal Science and Technology, College of Agriculture and Life Sciences,
Sunchon National University*

SUMMARY

This study was carried out to investigate the possibility of porcine artificial insemination (A · I) on fertilizing capacity using intrauterine inseminator (IUI) method and conventional A · I (CAI) method. Number of sows used in this study was 15 for IUI and 59 for (CAI), respectively. The results obtained are as follows:

1. The frozen and liquid semen used for A · I showed the higher farrowing rate in liquid semen (86.4%) than frozen semen (67%). Number of pigs born per semen type showed the higher values of number of piglets with no statistical significance using frozen semen (9.7) than liquid semen (9.3).
2. The farrowing rate per parity was highest in the 3~5th parities (100%), followed by 0~2th parities (60%), and was the smallest in 6~10th parities (25%). Number of pigs born per litter was highest in 0~2th parities (11.3), followed by 3~5th parities (9.2) and lowest in 6~10th parities. In the number of pigs born per litter, the sows in the high parities delivered lower number of piglets than those in low parities with no significant difference.

These results indicated that fertilizing capacity could be improved by using IUI method.
(Key words: frozen semen, intrauterine insemination, parity, pregnancy, pig)

서 론

돼지의 인공수정은 1930년대 소련의 집단농장에서 실시해 왔다는 것이 영국의 Polge (1956)에 의해서 보고되었다. 돼지의 유전적인 개량을 위해서 동결정액의 연구가 중요시 되기 시작하면서 Polge 등 (1970)은 돼지 동결정액을 난관에 주입시켜 최초로 수정에 성공하였고, Crabo와 Einnarsson

(1971)을 비롯한 여러 연구자는 자궁경관을 통해 돼지 동결정액을 인공수정하여 15~83%의 성적을 얻어 돼지 동결정액의 실용화 기틀을 마련하였다. 그 후 Pursel과 Johnson (1975)은 pellet 형태의 동결정액 제조 방법을 확립하였으며, Westendorf 등 (1975)은 straw 형태의 돼지 동결정액 개발에 성공하였다. 초기의 동결정액 용해액으로는 정장물질을 많이 사용하였으며 Pursel과 Johnson (1975)은 BTS (Beltsville Thawing Solution)를 개발하였다.

¹Jeonnam Institute of Livestock & Veterinary Science

[†]Correspondence : ikong@sunchon.ac.kr, Tel: 82-61-750-3236, Fax: 82-61-750-3208

적은 정자수를 이용한 비외과적인 자궁내 인공수정은 소 (Seidel 등, 1997)와 말 (Morris 등, 2000)에서 보고되었다. 돼지의 일반적인 인공수정에서 2시간 후에 주입된 정액의 10%만이 자궁내에서 관찰되었고 (Pursel 등, 1978), 자궁난관 접합부에서는 1×10^5 정자만이 도달했다 (Mburu 등, 1996). 이러한 정자수 감소의 주된 원인으로 인공수정 실시 몇 시간 후 정액의 역류 (Steverink 등, 1998)와 정자에 대한 백혈구의 탐식작용이 원인이라고 보고하였다 (Pursel 등, 1978; Rozeboom 등, 1998). 돼지에서는 외과적인 돼지 자궁내 인공수정 방법에 의해서 1×10^6 의 정자수로 정상적인 수태율을 얻었고 (Krueger 등, 1999), Martinez (2001b)은 비외과적으로 자궁심부에 정액을 주입하는 수정방법으로 5×10^7 의 정자수로 정상적인 번식성적을 거두는데 성공하여 그 실용화 가능성을 제시하였다.

국내의 경우, 1955년 중앙 축산 기술원에서 암돼지 10두를 인공수정 후 80%의 수태율을 얻었으나, '80년대 초까지는 실용화 되지 못하였다. 1996년부터 액상정액을 이용한 인공수정이 빠른 속도로 보급되어 정확한 두 수는 파악되지 않고 있으나, 2001년도 말 현재 인공수정율은 대략 50% 정도로 추정되고 있다. 그러나 동결정액을 이용한 인공수정은 용해 과정의 어려움, 숙련된 기술의 요구와 수태율의 저조 등으로 아직 실용화 되지 못하고 있다.

본 연구에서는 자체적으로 개발한 자궁내 인공수정기구를 이용하여 자궁내 인공수정 시 동결정액의 이용 가능성과 하절기 수태율 향상에 응용될 수 있는지를 검토하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 공시동물

공시모돈은 순천지역 모돈 100두 이상이고 주간 관리가 가능한 농장으로 정하였다. 2001년 5월 19일부터 2001년 7월 30일까지 혈통계보가 확실하고 질병 및 개체관리가 잘 되어 있으며, 외관상 이상이 없는 개체를 선별하여 공시하였다. 사용된 동결정액은 SGI사 (USA)로부터 수입한 동결정액을 사용하였다.

2. 동결정액의 용해, 희석 및 정액성상검사

동결정액의 용해는 50°C 온수에 straw가 완전히 잠기게 하여 약 50~60초간 실시하였다. 용해정자의 평가는 38°C로 조절된 warm plate 위에서 Wildt 등 (1998)의 방법에 준하여 운동성 및 전진운동성을 평가하였다. 해동된 5ml의 정액은 35°C로 보관된 희석액 35 ml에 약 1:7로 희석하였고, 정자의 운동성은 현미경 100× 하에서 육안적으로 측정하였다.

3. 자궁내 인공수정기를 이용한 인공수정

자궁내 인공수정기구의 형태는 Fig. 1과 같다. 자궁내 인공수정기구를 이용한 동결정액의 인공수정 시기는 모돈이 거세한 응돈에 승가허용 후 30시간과 34시간에 2회에 걸쳐 실시하였고, 액상정액은 순천축협 인공수정센터에서 구입하여 인공수정에 공시하였는데 액상정액을 이용한 인공수정의 경우에는 일반적으로 이용되는 방법으로 승가허용 후 12시간과 24시간에 실시하였다.

수정 적기로 판단되는 모돈을 수정이 용이한 응돈사 옆으로 유도하여 배, 젖꼭지, 대퇴부 등을 손으로 충분히 마사지하여 자궁의 연동수축운동을 촉진하였으며, 또한 외음부를 식염수와 알코올로 세척 및 소독하여 오염을 방지하였다. 인공수정기구의 선단부에 희석액을 발라 질의 통과 시 마찰을 줄여주면서 주입을 원활하게 유도하였다. 자궁내 인공수정기구의 주입은 Fig. 1과 같이 외관을 먼저 외음부를 통해 질에 주입 후 약 30° 상방향으로 유지하면서 자궁경관부위까지 전진시켜 시계 반대방향으로 돌리면서 자궁경관 후부(posterior part)

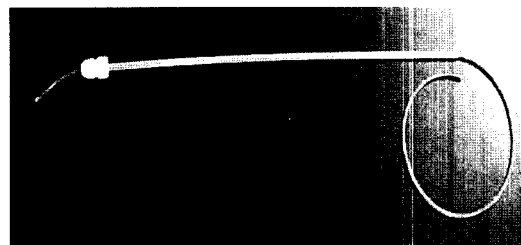


Fig. 1. Intrauterine inseminator for intrauterine insemination in pig.

까지 주입한 후, 외음부 쪽으로 당겨서 주입이 잘 되었는지 확인하였다. 외관 주입을 완료 후 내통을 외통의 안쪽으로 주입하여 서서히 자궁경관 쪽으로 전진시켰다. 자궁경관 전부(anterior part)에는 4~6개의 추벽이 있으며, 경관의 크기가 매우 협소하고 옥시토신에 의한 자궁근 수축과 비수축의 과정이 반복되므로 근수축시 무리하게 주입하면 안된다. 내통을 충분히 진입시킨 후 준비된 정액병의 끝을 잘라 내통 끝부분에 연결시켜 정액이 흘러들어 가도록 주입병에 압력을 가하였다. 정액주입을 마친 후 돼지가 안정을 취하고, 정액역류 방지를 위해 3~5분 정도 기구를 제거하지 않고 기다렸다. 주입기의 제거는 주입시와 반대인 시계방향으로 외통을 돌리면서 후진시켜 제거했다.

4. 임신 감정 및 산자 수

임신 감정은 인공수정 후 약 28일령에 초음파기구로 임신 여부를 확인하였고 임신이 확인된 개체는 개체관리를 하면서 분만 시까지 분만실로 사육하였고, 분만 시 산자수와 분만 후 평균 18일령에 이유 산자수를 조사하였다.

5. 통계처리

본 실험에서 얻어진 결과는 SAS Package (1990)를 이용하여 분산분석을 실시하였고, 처리 평균간 유의성 검증은 Duncan 방법으로 하였다.

결과 및 고찰

1. 액상정액과 동결정액을 이용한 인공수정 시번식성적 비교

액상정액을 이용한 일반적인 인공수정과 자궁내 인공수정기구를 이용한 동결정액의 이용이 번식성적에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 1과 같았다. 분만율에서는 액상정액의 처리구 (86.4%)가 동결정액을 이용한 처리구 (67%)보다 유의적으로 높게 나타났다($P < 0.05$). 그러나 산자수와 이유 ± 3.2 두)와 액상정액을 이용한 처리구 (9.3 ± 2.9 및 8.8 ± 2.4 두)간에 유의적인 차이가 없었다.

돼지 동결정액은 동결·융해 과정 중 정자가 손상을 입어 난관내 수정부위에 도달하는 정자수가 적고 Pursel 등 (1978), Waberski 등 (1994)은 배란전 4시간 이내에 동결정액으로 1회 인공수정을 실시하여 100% 수태율을 얻었고, 액상정액은 배란전 8~12시간에 정액을 주입했을 때 가장 높은 수정률인 96.0%를 얻은 데 비해 이 시간에 동결정액 사용시는 수정이 전혀 이루어지지 않았다. Johnson 등 (1982)은 돼지 인공수정 시 수태율과 산자수에서 액상정액(82% 및 11.6두)이 동결정액 (61% 및 8.2두)보다 높다고 보고하였다.

Johnson 등 (1981)은 Dutch Landrace와 Dutch Large White의 두 품종간 동결정액 사용시 분만율의 차이가 나는 것으로 보고했고, 그 범위는 액상정액 (62~92%) 및 동결정액 (29~72%)으로 차이가 있었다.

2. 모든의 산차에 따른 번식성적

동결정액을 이용한 자궁내 인공수정후 모든의

Table 1. Comparison of fertilizing capacity according to the type of semen used for A · I

Type of semen	No. of sows used	No. of farrowing (%)	No. of piglets born per litter (Mean \pm S.E.)	No. of piglets alive to abactation (Mean \pm S.E.)
Frozen semen	15	10 (67.0) ^a	9.7 \pm 4.1 ^a	9.0 \pm 3.2 ^a
Liquid semen	59	51 (86.4) ^b	9.3 \pm 2.9 ^a	8.8 \pm 2.4 ^a

¹ Data were recorded from May to July, 2001 at Suncheon area.

² CAI was performed at 12 and 24 h after the onset of heat with liquid semen.

³ IUI was performed at 30 and 34 h after the onset of heat with frozen semen.

* Values with same superscripts in the same column were not significantly different ($P < 0.05$).

Table 2. Comparison of fertilizing capacity according to the parity of sows

Parity	No. of sows	No. of sows farrowed (%)	No. of piglets born per litter (Mean±S.E.)	No. of piglets alive to abactation (Mean±S.E.)
0~ 2	5	3 (60)	11.3±6.7 ^a	9.3±5.0 ^a
3~ 5	6	6 (100)	9.2±3.2 ^a	9.0±2.8 ^a
6~10	4	1 (25)	8.0 ^a	8.0 ^a
Total	15	10 (67)	9.7±4.1	9.0±3.2

* Values with same superscripts in the same column were not significantly different (P<0.05).

산차에 따른 번식성적은 Table 2와 같다. 분만율에서는 3~5산차에서 6두를 공시하여 6두 모두 임신에 성공하여 100%의 분만율과, 6~10산차에서는 4두를 공시하여 1두가 분만되었다. 그리고 산자수와 이유두수에서도 0~2산차 (11.3 및 9.3두), 6~10산차 (8 및 8두)로 산차가 높을수록 전체적인 번식성적이 낮아지는걸 볼 수 있었다.

Clark 등 (1988)은 1산차에서 나이가 많을수록 번식성적이 우수하다고 보고하였고, Jeon 등 (2000)은 2~6산차의 복당 생존 자돈수 (9.5두)가 1산차와 7~9산차 (8.7 및 8.8두)보다 높게 나타났다고 하였다.

돼지 동결정액을 이용한 인공수정 시 번식성적에 영향을 주는 요인들로는 동결방법, 용해액 및 용해방법, 주입 정자수, 주입횟수, 웅돈 개체에 따른 동결성 및 웅돈의 품종, 모돈의 산차와 계절 등 여러 가지 요인이 있다. 웅돈 개체간의 수정률의 차이는 매우 큰 것으로 알려지고 있고 (Larsson, 1976; Johnson 등, 1981), 분만율도 웅돈에 따라 12~92%의 차이를 보이고 있다. 계절적 기후적인 요인 (Koh 등 1976; Johnson 등, 1982)도 번식성적에 영향을 준다고 보고하였다.

적 요

본 연구는 2001년 5월과 7월에 순천지역의 한 농장을 대상으로 종모돈 64두와 미국의SGI회사로부터 직수입된 동결정액을 가지고 인공수정 시 정액의 형태와 방법이 종모돈의 번식성적에 미치는 영향을 구명하고자 실시한 바, 그 얻어진 결과는 다음과 같았다.

1. 일반적인 액상정액을 이용한 인공수정과 자궁

내 이식기구를 이용한 동결정액의 이용이 번식성적에 미치는 영향을 조사한 결과는, 분만율에서는 액상정액을 이용한 처리구 (86.4%)가 동결정액을 이용한 처리구 (67%)보다 높게 나타났다. 산자수와 이유두수는 동결정액을 이용한 처리구 (9.7 및 9두)가 액상정액을 이용한 처리구 (9.29 및 8.8두)보다 높은 수치를 보였으나 유의적인 차이는 없었다.

2. 동결정액을 모돈의 산차별로 구분하고 인공수정하여 얻은 분만율에서는 3~5산차에서 6두를 공시하여 6두 모두 임신에 성공하여 100%의 분만율을 보였으나, 6~10산차에서는 4두를 공시하여 1두만이 분만되었다. 그리고 산자수와 이유두수에서 0~2산차 (11.3 및 9.3두), 6~10산차 (8 및 8두)로 산차가 높을수록 전체적인 번식성적이 낮아지는 수치를 보였으나 유의적인 차이는 없었다.

이상의 결과에서 동결정액을 이용한 인공수정 시 자궁심부까지 주입하는 자궁내 인공수정 기술을 이용함으로써 임신율과 산자수 및 이유두수에서 신선정액을 자궁경관에 주입하는 인공수정방법과 유의차를 보이지 않았을 뿐만 아니라 대등한 결과를 얻을 수 있었다. 동결정액은 자궁내 인공수정기술 방법과 함께 이용할 수 있는 그 가능성을 제시할 수 있다고 판단되었다.

사 사

본 연구를 위하여 사육장과 모돈을 제공한 전남 순천시 상사면 열림농장의 김우열 사장님께 진심으로 감사드립니다.

참고문헌

- Bracher V and Allen WR. 1992. Videoendoscopic evaluation of the mare's uterus: I. Findings in normal fertile mares. *Equine Vet. J.*, 24:252-253.
- Clark LK, Leman AD and Morris R. 1988. Factors influencing litter size in swine: Parity-one females. *J. Am. Vet.*, 192:187-194.
- Crabo B and Einarsson S. 1971. Fertility of deep frozen boar spermatozoa. *Acta. Vet. Scand.*, 12:125-127.
- De Winter PJJ, Verdonck M, De Kruif A, Coryn M, Deluyker HA, Devriese LA and Haesebrouck F. 1996. The relationship between the blood progesterone concentration at early metoestrus and uterine infection in the sow. *Anim. Reprod. Sci.*, 41:51-59.
- Devine DA and Lindsay FE. 1984. Hysteroscopy in the cow using a flexible fibroscope. *Vet. Rec.*, 115:627-628.
- Johnson LA, Aalbers JG, Willems CM and Sybesma W. 1981. Use of spermatozoa for artificial insemination. I. Fertilizing capacity of fresh and frozen spermatozoa in sows on 36 farms. *J. Anim. Sci.*, 52:1130-1136.
- Johnson LA, Albers JG and Arts JA. 1982. Use of boar spermatozoa for artificial insemination. II. Fertilizing capacity of fresh and frozen spermatozoa in gilts inseminated either at a fixed time or according to Walsmeta readings. *J. Anim. Sci.*, 54:126-131.
- Johnson LA, Weitze KF, Fiser P and Maxwell WMC. 2000. Storage of boar semen. *Anim. Reprod. Sci.*, 62:143-172.
- Koh TJ, Crabo BG, Tsou HL and Graham EF. 1976. Fertility of liquid boar semen as influenced by breed and season. *J. Anim. Sci.*, 42:138-144.
- Krueger D, Rath D and Johnson LA. 1999. Low dose insemination in synchronized gilts. *Theriogenology*, 52:1363-1373.
- Larsson K. 1976. Fertility of deep frozen boar spermatozoa at various intervals between insemination and induced ovulation: influence of boars and thawing diluents. *Acta. Vet. Scand.*, 17:63-73.
- Martinez EA, Vazquez JM, Roca J, Lucas X, Gil MA, Parrilla I and Vazquez JL. 2001a. Deep intrauterine insemination in sows with a low number of spermatozoa: a new and simple procedure. *Theriogenology*, 55:248 (Abstr.).
- Martinez EA, Vazquez JM, Roca J, Lucas X, Gil MA, Parrilla I, Vazquez JL and Day BN. 2001 b. Successful non-surgical deep intrauterine insemination with small numbers of spermatozoa in sows. *J. Reprod. Fert.*, 122:289-296.
- Mburu JN, Einarsson S, Lundeheim N and Rodriguez-Martinez H. 1996. Distribution, number and membrane integrity of spermatozoa ovulation. *Anim. Reprod. Sci.*, 45:109-121.
- Morris LHA, Hunter RHF and Allen WR. 2000. Hysteroscopic insemination of small numbers of spermatozoa at the uterotubal junction of preovulatory mares. *J. Reprod. Fert.*, 118:95-100.
- Polge C. 1956. Artificial insemination in pigs. *Vet. Rec.*, 68:62-76.
- Polge C, Salamon S and Wilmut I. 1970. Fertilizing capacity of frozen boar semen following surgical insemination. *Vet. Rec.*, 87:424-429.
- Pursel VG and Johnson LA. 1975. Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. *J. Anim. Sci.*, 40:99-102.
- Pursel VG, Schulman LL and Johnson LA. 1978. Effect of Orvus ES Paste on acrosome morphology, motility and fertilizing capacity of frozen-thawed boar sperm. *J. Anim. Sci.*, 47:198-202.
- Rozeboom KJ, Troedsson MHT and Crabo BG.

1998. Characterization of uterine leukocyte infiltration in gilts after artificial insemination. *J. Reprod. Fert.*, 114:195-199.
- SAS Institute Inc. 1990. The GLM procedure. SAS/STAT User's Guide. version 6 (4th Edn, vol. 2), Cary, NC, USA, SAS Institute Inc. 891-996.
- Seidel GE, Allen CH, Johnson LA, Holland MD, Brink Z, Welch GR, Graham JK and Cattell MB. 1997. Uterine horn insemination of heifers with very low numbers of nonfrozen and sexed spermatozoa. *Theriogenology*, 48:1255-1264.
- Steверink DWB, Soede NM, Bouwman EG and Kemp B. 1998. Semen backflow after insemination and its effect on fertilization results in sows. *Anim. Reprod. Sci.*, 19:1081-1088.
- Waberski D, Weitze KF, Gleumes T, Schwarz M, Willmen T and Petzoldt R. 1994. Effect of time of insemination relative to ovulation on fertility with liquid and frozen boar semen. *Theriogenology*, 42:831-840.
- Watts JR and Wright PJ. 1995. Investigating uterine disease in the bitch: Uterine cannulation for cytology, microbiology and hysteroscopy. *J. Small Anim. Pract.*, 36:201-206.
- Westendorf P, Richter L and Treu H. 1975. Zur Tiefgefrierung von Ebersperma Laborund Besamungsergebnisse mit dem Hulsenberger Pailletten-Verfahren. *Dtsch. Tierarztl. Wschr.*, 82:261-300.
- Wildt DE, Phillips LG, Simmons LG, Chakraborty PK, Brown JL, Howard JG, Teare A and Bush M. 1998. A comparative analysis of ejaculate and hormonal characteristics of the captive male cheetah, tiger, leopard and puma. *Biol. Reprod.*, 38:245-255.
- 김학규, 정행기, 이수현, 이광원, 김인철, 최진성, 지병천, 김경남, 박창식. 1996. 돼지동결정액 중의 정자농도가 수태율 및 산자수에 미치는 영향. *한국수정관아식학회지*, 11:81-83.
- 김인철. 2001. 돼지 인공수정 기술. 2001년도 춘계 학술세미나 및 워크숍, *한국수정관아식학회지*, 16(1; 부록):25-34.
- 전용민, 윤희진, 이종관, 손영근, 강 권, 박창식. 2000. 종모돈의 정액성상과 번식성적에 미치는 품종, 연령, 계절, 산차 및 교배방법의 영향. *한국가축번식학회지*, 24:209-216.

(접수일: 2001. 12. 26/ 채택일: 2002. 3. 14)