

돼지의 人工授精

丹羽 太左衛門

岩手大學 農學部

Artificial Insemination in Swine

Niwa Tazaemon

Faculty of Agriculture, Iwade University

I. 豚人工授精의 發達歷史와 現況

豚人工授精에 關한 研究는 1930年頃에 始作되어 牛馬其他家畜에 比較하여 역사가 짧은데 그 主된 理由는 初期에 精液의 採取가 困難하였고 生殖器의 構造나 精液의 性狀이 다른 家畜과는 相異하였기 때문이다. 1930年代에는 Mckenzie(1931), Milovanov(1934), Rodolfe(1934), Hudjakov(1936), Bonadonna(1938) 等이 人工腔과 擬牝台에 의한 精液採取를 報告하였으며, Mekenze, Miller, Bauguess(1938)等은 豚의 生殖器와 精液에 關한 詳細한 研究를 하였다. 日本에서도 1938年부터 豚人工授精에 關한 研究를 Ito, Niwa, Kudo에 의해 始作되었으며 日本 고유한 豚人工腔과 精液注入器를 만들어 基礎的이고 應用的인 研究를 거듭하여 오늘에 이르렀다. 그후 豚人工授精은 歐美地域보다 오히려 亞細亞地域에서 빨리 實用化되어 日本 臺灣, 韓國, 單立芬, 香港, 泰國, ベトナム等에서 普及되었다. 精液의 保存技術에서도 從來의 15°C 液狀保存方法外에 5°C의 低溫保存과 1970年代에는 凍結精液의 研究로 進展되었다. 現在 各國에서는 產肉能力檢定을 마친 優秀한 種牡豚을 人工授精에 活用하게 되었고 앞으로 豚의 改良을 위하여 크게 活用되어야 할 것이다.

豚人工授精이 牛와 같이 널리 普及되지 못한 理由는 여러가지가 있는데 첫째로 畜豚經營의 規模가 커짐에 따라 牡豚의 數가 늘어나고 農家에서는 發情發見用으로 同時に 自然種付를 시키고 있으되, 둘째로 牡豚도 繁殖利用後에 肉用으로 販賣되기 때문에 큰 經濟的負

擔이 없고 셋째로 人工授精은 自然種付에 比하여 勞力과 費用이 들어 번잡하 뿐더러 냇째로는 精液의 保存이 牛에 比해 困難하고 注入量이 大量이라는 것 등이다.

II. 人工授精의 技術

1. 精液의 採取

(1) 採取方法

豚의 精液採取는 擬牝臺를 使用하여 人工腔로 實施한다. 擬牝臺에는 여려가지 型이 있는바 金屬製 또는 투튼한 木製臺에 鎚은 스폰지로 입히고 그 위에 豚皮나 시트를 덣는다. 兩側에 발을 올려 놓을 수 있는 貝판을 달고 右側後方은 넓게 하여야 採取가 容易하다. 1962年 臺灣의 張元在氏가 考案한 臺의 높이를 調節하는 핸들을 附着하면 便理하다. 人工腔도 日本의 舊式 奮試式에서 新型이 考案되었다.

(2) 射精時間

射精時間은 다른 家畜보다 길고 最短 2分間 最長 23分 35秒, 平均 6分 30秒이다. 精液의 射精狀態는 다섯 가지로 나눈다. 1回型, 2回型, 3回型, 4回型, 混合型이 있는바 1回射精時 濃厚한 精液을 全量의 54%를 開始後 1分 30秒以內에 射出되며 最初의 2分間에 1射精에 約 80%의 精子가 射精되며 때문에 精液의 濃厚부 分과 稀薄部를 分離採取할 수가 있다.

(3) 精液의 採取間隔

精液의 採取間隔은 3回以上이라야 70~80%의 正常의期待를 얻을 수 있으며 보다 좋은 結果를 얻으려면 5~6回間隔이 바람직하다. 精力이 旺盛한 牡豚은 1

日 1回 供用되나 1日 2回의 連續採取는 有害하여 精液量과 精子數의 減少와 受胎率를 低下시킬 것이다.

採取直後 가제로 液體部分과 膠樣物을 濾過分離시켜야 한다.

2. 精液의 性狀

精液量은 平均 200~250ml(680ml)로서 其中 80%는 液體部分이며 20%는 膠樣物이다. 1ml 中의 精子數는 平均 2.5億이며 1射精當 總精子數는 440億 程度인데, 精子數가 多을수록 白色을 띤다.

精液의 化學的 組成中에서 糖類의 含量이 稀少하여 (25~35mg%) 牛나 羊에 比해 1/10程度이기 때문에 解糖源으로서 保存液中에 糖類를 添加해야 하는 것이다.

3. 精液의 檢查

實務的인 肉眼의, 顯微鏡的 檢查外에 實驗室에서는 精液의 成分과 精子의 代射能力 및 精子의 抵抗性과 精子形態等의 詳細한 檢查를 해야 한다. 그리고 糖類를 添加한 稀釋精液이 아닌 原精液은 上下層으로 나누어져 精子는 Anabiosis가 되어 運動이 靜止되므로 檢查前에 28~30°C에서 1時間程度 加溫 振盪시킬 必要가 있을 것이다.

4. 精液의 保存과 輸送

(1) 精液의 保存溫度

精液은 液狀保存과 凍結保存이 있는바 液狀保存에서는 豚이 15~20°C이고 牛·羊이 5°C이다. 이와 같이 家畜에 따라 保存溫度가 相異하다. 靜止狀態에 있어서의 精子의 解糖量을 側定하면 各保存適溫에서 單位精子數當 解糖量은 豚·牛·羊 共히 비슷하였다. 그러므로 精子가 生存을 維持하기 위하여 精子 1億, 1時間當 포도糖으로서 5~10%程度의 解糖에서 얻어지는 热量이 必要하며 그 量의 解糖을 하는데 얻어지는 溫度가 바로 그 家畜精液의 保存適溫이 될 것이다.

(2) 精液中의 細菌

10頭에서 採取된 新鮮精液 27例中의 細菌數는 1ml當 5,000~220萬 程度이며 屠殺후 生殖器管의 細菌汚染度를 보면 Preputial pouches가 높고 膀胱, 精巢, 腎臟의 順이기 때문에 採取前에 残尿를 排出시키고 그 部位와 下腹部를 洗滌할 뿐더러 細菌의 增殖을 防止하기 위하여 抗生物質, 설파剤, 抗菌物質等을 加해야 한다.

(3) 精液의 保存液

15°C保存液으로서 Egg-Yolk-Citrateglucose Extender(EYCG)을 하루밤 放置後 그 上澄液을 쓰든가 遠心分離후 上清을 使用한다. 粉乳糖液(SMG)은 8%의 脫脂

粉乳에 6%의 포도당液과 重碳酸나트리움에 설파剤를 添加한다. 日本에서는 "POLYZANON"이라는 商名으로 販賣되며 많이 使用된다. 그리고 IVT Extender와 그것을 改善한 IVT 4G-β가 있는데 後者가 좋으며 保存液에 CO₂가스나 알곤가스를 添加하는 實驗도 있다.

5°C의 低溫液狀保存時는 全精液을 遠心分離하여 濃厚化한 후 保存液을 加하여 30°C에서 5°C까지 約 24時間 걸려서 徐徐히 溫度를 降下시키는데 調節裝置에 의해서 12, 24, 36時間으로 自由調節된다.

① 1次稀釋으로서 濃厚部精液과 等量의 粉乳糖液을 混合하여 徐徐히 5°C까지 下降후 같은 粉乳糖液量에 20%의 그리세린을 加하여 5°C까지 된것을 1/3~1/5量式 10~20分間隔으로 徐徐히 混合하여 5°C에서 保存한다. 授精時는 다시 粉乳糖液으로 稀釋增量하여 注入하는바 日本에서 までは 45~76時間 空輸す 再稀釋注入시켜 21頭授精에 17頭가 受胎되어 受胎率 80.1%이었다(圓羽).

② Tris緩衝粉乳糖液은 5.4%의 포도당液, 10%脫脂粉乳液, 3.6% Tris液을 5:4:1의 比率로 混合하여 6%의 梅鹽酸液으로 pH 7.4로 調整한 것으로 良好한 精子生存率과 受胎成績을 보였다.

③ 粉乳糖液을 主剤로 하는 保存液에 카페인 6~10%를 加한 保存液도 좋은 精子生存率과 受胎率를 얻었는데 1~5日 保存中 140頭에 授精하여 107頭가 受胎되어 受胎率 76.4%이었다.

5. 精液의 注入

注入器는 子宮頸管에 잘 들어가고 精液의 逆流를 防止할 수 있는 構造로 考案된 고무管式이 좋으며, 經產豚用과 未經產豚用이 있다. 注入部位는 子宮頸의 第2皺壁內로서 抵抗이 感觸되는 곳이다.

注入量은 普通 50ml이었으나 濃厚精液은 30ml도 좋으며 注入精子數는 50億이나 長期保存精液은 70億程度 注入하며 注入前에 37~40°C로 加溫振盪하여 注入한다. 授精適期는 排卵의 時期와 卵子의壽命 그리고 精子의受精能獲得과 牝豚生殖器內에서의 精子受精能保有時間等에 의해서 決定되나 發情開始후(交配許容) 10~26時間이 適當하며 1發情期에 2回 授精이 바람직하다.

豚精液의 凍結保存은 牛에 比해 困難하며 1953年頃부터 始作하였으나 滿足할만한 成績을 얻지 못하였으나 近來는 좋은 成績이 나와 紹介한다.

① PELLET方法: 1963年 Niwa, Nagase等이 開發한 것으로 美國의 PVRSEL을 의해 改善되었는데 다음과 같이 操作한다.

가) 精精의 濃厚部를 使用함, 精精 1ml當 2,000μg의

dehydrostreptomycin sulfate, 1000IU의 polymixin β sulfate를 添加한다.

- 나) 精液溫을 約 2時間 거쳐 室溫으로 낮춘다.
- 다) 17×100mm의 遠沈管에 精子數 60億이 되도록 精液을 分注함.

- 라) 1500回轉으로 約 10分間 精液을 遠沈함.
- 마) Seminal Plasma를 除去한다.

- 바) 室溫下에서 精液量이 5ml가 되도록 BF-5稀釋液으로 遠沈精子를 稀釋混合함.

사) 50mL의 水(室溫)이 들은 250mL의 硝子비카에 遠沈管을 담근 후 2시간 걸쳐서 5°C까지 精液溫을 下降시킴.

아) 5°C에서 2%의 그리세린을 넣은 BF-5稀釋液에 精液量이 10ml가 되도록 稀釋한다.

자) 0.1~0.2mL 内外의 精液을 Dry-ice 上에 點摘하여 Pellet를 만든다.

차) Pellet을 Canister에 넣어 LN₂ Container에 保管함.

카) 融解方法은 保管庫에서 pellet을 냉여 樹脂容器內에서 3分間 保持후 50°C에 加溫된 40~50mL의 融解液에 넣는다.

타) pellet凍結精液의 受胎率은 約 50%임.

② AlumiBAG方法은 分離採取한 濃厚精液을 EGT-10 diluent(A) 및 (B)稀釋液으로 3~4倍 稀釋하여 그리세린最終於濃度는 3.5% 添加하여 3~5時間 平衡후 Alumibag에 4~5mL式 分注하여 液體室蒸氣中에서 急速凍結하는 薄層凍結精液法이다. 凍解는 40~50°C의 溫湯中에서 10~15秒間急速融解 시킨것이 精子生存性이 좋았으며 2,000日間 保存精子의生存性도 低下되지 않았다. 凍解後 再稀釋液(RD-1)으로 等量稀釋(最終於 그리세린濃度 1.75%) 후 23頭에 授精하여 17頭가 受胎되어 受胎率 73.9%를 얻었는데 最長保存受胎例는 510日이었다.

③ 耐凍能의 檢查

豚精液의 耐凍性(Freezability)은 個體에 따라 相違하므로 Slide法을 使用하는바 이것은 그리세린 平衡이 끝난 精液 1滴을 Slide上에 떨어 커버글라스를 덮고 이것을 不不한 Dry-ice 上에 紙 1枚를 놓은 위에 놓고 急速完全凍結후 이것을 加溫器上에서 急速融解시켜 精子의生存性回復狀況을 簡單히 檢查하는 方法이다.

受胎率은 年齡 產次 發情狀態, 注入技術과 授精時期等에 의해서 다르나 條件만 良好하면 自然種付와 對等하며 1回授精에서 70~75%의 受胎率은 얻을 수 있으며 產仔數도 大差가 없다. 끝으로 今後의 人工授精技術이 더욱 進步하여 能力이 優秀한 種牲豚의 選拔事業

을 擴大普及하므로서 名實共存 豚의 改良增殖에 크게 功獻되기를 바라는 것이다.

III. 豚 繁殖에 관한 Topics:

1. 發情의 調整(同期化)

從來 豚의 發情同期化(Synchronization) 方法에는 4 가지가 있다.

(1) Progesterone注射나 合成 gestagen의 經口投與에 의한 方法인데 處理中에는 發情을 抑制하고 處理를 中止하면 大體로 一定한 日數에 發情이 나타난다. 即 飼料中에 6-methyl-17 acetoxy-progesterone을 添加하여 試驗한 成績中에서 0.5mg/lbs/day의 投與區에서 15日間 處理가 가장 좋았으며 處理終了後 4~5日에 89%가 發情하였고 其中 77%의 受胎率을 나타냈으며 排卵數나 胎仔數는 正常이었다고 한다. Progesterone注射處理區는 大體로 發情이 未弱하고 卵胞囊腫을 誘發시키는 缺點이 있다고 報告되었으나 發情홀モン의 前處置와 經口黃體壘의 投與로서 改善 解決되었다.

(2) Non-Steroid劑의 經口投與方法으로서 下垂體로부터 Gonadotropin을 可逆的으로 抑制하는 作用이 있는 히도라진誘導體를 飼料中에 混合하여 紹與하면 發情을 抑制하며 中止하면 發情이 誘發되는 方法으로서 著者等이 Methallibure(英國 ICI Compound 33.828)로 試驗한 結果 1mg/kg/day標準으로 1% 含有의 AIMAX를 體重 90~140kg의 豚에는 11量 10g, 140~190kg의 豚에는 15g, 190kg以上豚에는 20g을 飼料에 混合하여 1회 1回, 性周期의 第4~19日에서 10~22日間 投與한 바 發情抑制率은 未經產豚에서 100%, 經產豚에서 92%이었으며 發情再歸까지의 日數는 投與中止後 5~8日사이에 發情이 誘發된 것이 未經產豚에서 90.5%, 經產豚에서 84% 平均 87%의 發情率을 보였다. 受胎率은 81.0%로서 좋았으며 妊娠期間, 產仔數, 生時體重等은 正常이었다. 그러나 本剤는 製造中止되었다.

(3) Prostaglandin F₂α의 注射方法인바 다른 家畜에서는 有効하였으나 豚의 處理試驗에서는 本剤에 의한 發情調整이 不良하였으며 特히 性周期 10日까지는 困難하다고 報告되었다.

(4) 離乳日의 調整과 GTH의 併用方法으로서 日本에서 好成績을 얻었다. 經產豚을 群單位로 分娩後 3~5週에 一齊히 離乳시키고 離乳日은 絶食하고 離乳後 3日째에 PMS 1,000~1,500 IU을 筋注한 바 供試 離乳豚 263頭中 246頭(93.54%)가 離乳後 平均 6.22±1.08日에 發情이 続으며 發情日數는 平均 3.46日이었고 種牲豚 許容日數는 平均 1.72日로서 受胎率은 1發情 2回授

情으로 91.63%이었으며 產仔數는 平均 10.8頭이었고 生時體重은 平均 1.56kg이었다고 報告되었다.

2. 豚妊娠診斷

豚의 妊娠診斷은 普通 授精後 再發情이 없는 것을 基準으로 하는 NR(Non-Return) 方法에 의하나 이것은正確하지 않다. 最近 養豚規模가 大型化함에 따라 迅速하고 信頼할 수 있는 診斷方法이 要望되어 紹介한다.

(1) 膜粘膜 紋織 檢查法: 이 方法은 膜粘膜의 變化를 Biopsy에 의해 採取한 材料를 紋織學의 檢查에 의해 判定한다. 即 膜粘膜 또는 膜前庭의 粘膜은 發情期에 11~14層이 있고 그 基礎層의 隆起가 著明하지만, 發情休止期에는 4~5層으로 되어 核의 配列이 不規則하여 細胞의 分裂像이 보이지 않는다. 그리고 膜粘膜上皮細胞層의 두께도 發情期에는 122~124 μ m지만 發情休止期에는 47~54 μ m으로 얇어진다. 妊娠이 되면 發情休止期와 같은 樣相을 나타내며 17~18日에는 上皮細胞가 3~4層으로 되지만 核의 配列은 規則的이 된다. 이 方法은 實驗室에서만 可能하고 野外에 即時 判定이 어려운 點이 있으나 正確度는 높다.

(2) 超音波 診斷法으로서 이 方法에는 超音波 doppler法과 超音波 Echo法이 있다. 前者는 doppler効果을 利用하여 胎兒의 心搏動을 檢出하여 妊娠을 診斷하는 것이며 連搬이 容易하고 探觸子로 司聽音을 스피커나 單耳孔으로 技術者が 聽取될 뿐더러 doppler 信號를 磁氣帶이프나 記錄紙上에 記錄도 된다. 著者等이 授精後 22日~113日까지 延 139頭에 대하여 檢查한 바 通過率은 授精後 22~29日에 80%, 30~39日에서 62%, 40~49日~77%, 50日以後에는 90~100%이었다. 其中 27日에서 좋은 成績을 보였다. 胎兒의 心搏動數는 妊娠初期에는 240回/分 內外이었으나 妊娠進行에 따라 若干 減少하는 傾向을 보였다. 母體의 心搏動數는 胎兒의 切半程度로 늘었으며 胎仔心搏動 檢出時間은 約 5秒~10分間인바 熟練되면 1~2分에서 第1音이 聽取된다. 그리고 超音波 Echo法으로도 Doppler法과 같이 良

好한 通過率을 얻을 수 있었다.

其外 尿中 Estrogen檢出法, 卵胞毫毛注射法, 頸管粘液이나 膜粘液 診斷法, X-線診斷法, 血中黃體毫毛定量法, 濾紙電氣泳動法에 의한 Lipoprotein의 α -割分과 β -割分의 比率法, 血清中의 히스타민나제 定量法, 腹腔鏡에 의한 子宮 및 卵巢觀察法等이 있는바 最近에는 日本에서 直腸檢查法이 利用되는데 直腸으로부터 觸診에 의해 主로 中子宮動脈의 特異搏動이나 그 動脈과 外腸骨動脈의 크기를 比較하여 診斷하는데 授精後 30日頃에 90%以上의 通過率을 보이는데 熟練되어야 한다.

3. 分娩誘起(分娩時刻의 人爲的調整)

豚의 分娩時刻을 自由로 하 調節할 수 있으며 分娩管理가 容易한 뿐더러 畫面分娩에 따른 省力과 仔豚의 損耗防止와 休日分娩의 回避가 可能하다. 從來는 陳痛微弱에 Oxytocin을 使用하였으나 1970年以後는 Prostaglandin F₂ α 의 黃體退行作用과 分娩誘起機能이 있다고 報告되어 一部 實用化되고 있다. FGF₂ α 는 基素 20個로 構成된 特殊多肽環構造을 갖는 Prostaglandin酸을 母核으로 하는 不飽化脂肪酸의 誘導體의 總稱으로서 最近天然型 PG나 各種 PG類緣物質이 畜畜産領域에 넓리 應用되고 있다. 著者等이 妊娠 110~113日의 妊娠豚 55頭에 依해 PGF₂ α 10mg/5ml/(DF-4541) 또는 PGF₂ α 類緣物質 ICI 80,996(Cloprostenol) 175 μ g/2ml을 筋注하여 分娩誘起를 試圖한 바 有効하여 112日以後處置하였을 때 良好하였다. 處理後에서 分娩開始까지는 32~34時間이었는데 ICI 80,996의 處理에서는 112日에서 平均 28時間 56分 113日에서는 24시간 20분에 分娩이 誘起되었다. 또한 PGF₂ α 處理豚의 末梢血中의 Progesterone Level은 處理後 經過와 더불어 含量이 急速低下되었다. 其外 微弱發精이나 持續性發精에도 利用된다. 그리고 性機能의 人爲的調整에 있어서도 人工受胎(受精卵移植)와 性成熟期의 促進 및 性支配의 研究等이 있으나 今後의 研究課題로서 期待되고 있습니다.