

소의 수정란 이식에 있어서 수란우의 조건에 따른 수태율에 관한 연구

이 정 호 · 박 향 균

경북대학교 농과대학 낙농학과

Studies on the Effects of some Factors affecting the Recipients to the Pregnancy Rate in Bovine Embryo Transfer.

Lee, Jung Ho · Park, Hang Kyun

Dept. of Dairy Sci., Coll. of Agric., Kyungpook Natl. Univ.

Summary

In order to study the changes of pregnancy rates according to the factors, age, season, repeated utilization, synchrony, of recipients (29 holstein heifers, one Korean native heifer and 3 holstein cows) were transferred one embryo (from morulae stage to advanced blastocyst) to each, and the results are as follows :

1. The effect of age of recipient on pregnancy rate in cows and 18-24 months of aged group are 100% and 78%, respectively. Under 14 months of aged group recorded the worst, 67%.
2. In winter (Nov.-Jan.) and spring (Feb.-Apr.), the pregnancy rate were better than others 100%, 83%, respectively. In the autumn (Aug.-Oct.), it was only 50%, the worst.
3. Among 31 recipients which were utilized at the first, 25 were pregnant (80.7%), but in the second utilization after the failure of the first transferring, 2 heifers, none of pregnancy was obtained.
4. Pregnancy rates related to synchronization of estrus between donor and recipients are:-(before donor) 12 hrs. (100%), -6 hrs. (86%), +(after donor) 6 hrs. (67%), +12 hrs. (79%), and +over 12 hrs. (50%), respectively.
5. Differences in the pregnancy rate of the recipients +over 12 hrs. were significantly large, so in order to get good pregnancy rate in embryo transfer, the differences of the synchronization must be reduced inner ± 12 hrs.

In general, recipients estrus before donor showed better pregnancy rate than estrus after donor.

서 론

요즈음 선진국에서의 수정란이식 및 관련분야의 연구와 실적은 점차 놀라운 결과를 보고하고 있다. 국내에서도 차츰 연구에 열을 올리고 있어 모든 일련

의 산업의 근본적이고 기초단계인 수정란이식술의 정착 및 보급은 시급히 요구되고 있다.

본 연구는 수정란이식의 한 단계인 수란우의 선정 시 미치는 요인 즉, 계절, 연령, 반복사용, 발정동기화의 공란우와의 시차 등에 따른 수태율의 변화를

다루어 보다 적절한 수란우의 선정과 관리로 수정란 이식술의 발전 및 성공적인 보급에 기여코자 한다.

이때 1975년에 Sreenan 등⁹⁾의 소의 수정란이식 논문에서 수란우의 선정 및 관리의 중요함을 발표했고, 1979년 Newcomb 등¹⁰⁾ 1980년 Newcomb과 Rowson 그리고 Schneider 등¹¹⁾의 연구 및 1981년 Wright¹²⁾의 연구보고에서도 수란우의 상태 및 선택의 중요함을 보고하고 있다. 수정란이식에 있어 수란우의 올바른 선별은 공란우처리 및 수정란 선별과 같은 비중의 중요한 성공의 요인으로 생각된다.

재료 및 방법

1. 공시축

본 시험에 사용하기 위한 수란우는 생후 14~24개월의 젖소 처녀우 29두와 한우 처녀우 1두 및 젖소 경산우 3두로 총 33두였으며 수란우의 발정 동기화는 발정주기 7~14일(발정일=0일)때 Estrumate[®] (ICI) 2 ml를 근육주사하고 발정발현을 관찰하여 이식직전 황체의 위치 및 상태를 확인하였다.

2. 이식용 수정란

수정란을 얻기 위한 과배란처리는 공란우의 발정주기 9~13일에 FSH-P[®] (schering)를 1일 2회 4일간 decreasing method로 36~44 mg까지 근육주사하고 발정발현후 12시간 뒤에 12시간 간격으로 2~3회 인공수정하였다. 배란을 촉진하기 위해 GnRH 250 mg을 주사하였다. 수정후 7일 또는 8일째 비외과적인 방법(Kilmer식³⁾)으로 foley valved catheter를 사용하여 채란하였다. 이때 사용한 flush medium은 Dulbecco사의 PBS[®]액 1ℓ에 사용직전 fetal bovine serum 5%와 10만 I.U.의 penicillin G potassium을 첨가하여 사용하였다. 채란병에 받은 medium은 stand에 옮겨져 20~30분간 침전시킨 후 실체현미경(M5A Wild Leitz) 25×~50×로 수정란을 검출했다. 일단 발견된 ova는 작은 petri-dish로 옮겨 culture medium에 부유시켜 이식용으로 사용가능 여부를 검사했다. 이식이 가능하다고 판단된 morulae, tight morulae, early blastocyst 또는 advanced blastocyst stage의 embryo로 사용하였다. 채란이 끝난 공란우는 임신

방지와 난소퇴축을 위해 Estrumate[®] (ICI) 2 ml를 근육주사하였다.

3. 수정란 이식

이식은 외과적인 방법으로 실시하였다. 황체가 확인된 수란우는 2% lidocaine 2 ml로 경막외마취를 실시한뒤 견부 수술부위의 털을 깎고 소독한 다음 요추측마취를 실시하고 주머니 들어갈 정도의 질이로 절개하고 자궁광인대를 잡아올려 바늘뿔로 자궁각을 천공하고 가는 pipette로 수정란을 자궁각에 주입하였다. 주입이 끝난 다음 절개부를 봉합하고 착유중인 수란우를 제외하고는 항생제를 주사하였다.

4. 임신진단

수란우는 수정란이식을 받은 후 60일간 우사내에서 사양관리하였으며 40일, 60일에 임신감정을 하였다.

결과 및 고찰

1. 수란우의 연령에 따른 수태율

수란우의 연령에 따른 수태율을 보면 Table 1.과 같으며 경산우 3두는 수태율이 100%로 가장 좋았고, 다음이 생후 19~24개월 사이, 15~18개월, 14개월이내의 처녀우의 수태율로 각각 78%, 73%, 67%였으며 생후 월령이 많을 수록 수태율이 좋았다. 따라서 수란우는 정상적인 발정주기를 갖는 경산우나 생후 18개월 이상인 성숙우가 완숙한 개체를 선정하는 것이 보다하겠다. 1981년 Wright¹²⁾의 연구에서도 경산우의 수태율이 59%로 처녀우의 58%보다 약간 높은 수태율을 보였다. 그러나 Kilmer³⁾의 성적은 처녀우에서의 80%, 성우에서 76%의 수태율로 오히려 처녀우에서의 수태율이 높다고 했는데 이는 본 시험의 결과와는 달랐다.

Table 1. Effect of Age of Recipient on Pregnancy Rate

Age of recipient	No. of transfer	No. of pregnancy	Pregnancy rate (%)
under 14 months	6	4	67
15-18 "	15	11	73
19-24 "	9	7	78
cow	3	3	100
Total	33	25	76

2. 계절에 따른 수란우의 수태율

수란우가 받은 환경적 요인, 특히 계절에 따라 수태성적이 영향을 받는 가를 고찰하기 위해 봄(2월~4월), 여름(5월~7월), 가을(8월~10월), 겨울(11월~1월)로 나누어 그 수태율을 조사하였다. 그 결과는 Table 2.와 같다.

Table 2. Effect of Season of Transfer on Pregnancy Rate

Season of transfer	No. of transfer	No. of pregnancy	Pregnancy rate (%)
Spring (Feb.-Apr.)	12	10	83
Summer (May-July)	16	12	75
Autumn (Aug.-Oct.)	4	2	50
Winter (Nov.-Jan.)	1	1	100

즉, 봄철인 2~4월에는 12두 이식하여 10두 임신으로 수태율이 83%로 양호했고 초여름인 5~7월에는 총 16두 이식하여 그 중 12두가 임신되어 75%의 수태율이었다. 그러나 여름을 거쳐 가을인 8~10월에는 총 4두 이식하여 2두만 임신되어 수태율이 50%에 불과하였다. 겨울인 11월~1월에는 한마리 이식하여 한마리 임신하여 100% 수태율을 보였으나 공시두수가 적어 겨울이 다른 계절보다 수정란이식에 적합하다고는 확인할 수 없다. 다만, 봄과 여름은 계절적으로 보아 기온도 알맞고 광선 조사도 좋아 수란우가 받는 환경적 조건이 수태에 알맞아 수태율이 좋았다는 것을 알 수 있다. 이는 자연상태하에서 소의 번식이 잘되는 계절인 초여름(5월~6월초)과 수정란이식의 결과가 일치함을 입증하고 있다. 8월~10월의 수태율은 50%로 그 결과가 나뉘었는데 이는 8월에는 더위가 혹심하였고 또한 수란우의 사양에 있어 조사료의 질적분량과 양의 부족이 원인이 되어 발정발현 상태가 불량한데 기인한 것 같다. 아울러 발정동기화 처리에 대한 반응도 극히 불량하였다. 그러나 이 기간이라 할지라도 수란우의 환경을 서늘하고 쾌적하게 하고 또한 양질의 조사료를 충분히 공급하여 영양상태를 균형있게 사양한다면 수정란이식에 있어 수태율을 향상시킬 수 있으리라 믿어진다. Hasler²⁾에 의하면 과배란처리 반응의 결과에서도 여름이 가을, 겨울이나 봄에 비해 나쁜 반응을 보인다고 하였다. Betteridge¹⁾의 보고에서도 여름에는 적게나마 수정란 생산이 저하되는 것을 보고하였다. Shea 등³⁾과 Looney 등⁴⁾

의 과배란처리 반응 연구에서는 계절에 따른 차이는 없다고 하여 본인 등과는 차이가 있었다. 본 연구가 이뤄진 대구지방의 여름철 기온 35℃이상의 조건과 상기 연구자들의 장소와의 차이를 비교해볼때 Tuckker¹⁰⁾의 소의 계절성 연구에서의 같은 환경온도 25℃ 이상에서는 수태율 및 난생산능력 등에 큰 영향을 받았을 것으로 판단된다.

3. 수란우의 반복사용에 따른 수태율

제 1차 난자를 이식한 후 수태 못한 수란우를 재차 이용할 수 있는가의 여부를 검토하기 위하여 1회 이식과 재차이식의 수태성적을 조사하였던 바 그 결과는 Table 3.과 같다.

Table 3. Effect of Repeated Utilization of Open Recipient on Pregnancy Rate

	No. of transfer	No. of pregnancy	Pregnancy rate (%)
1st transfer	31	25	80.7
2nd transfer	2	0	0

수란우 첫번 이식에 31두가 사용되어 25두가 임신하여 수태율 80.7%였고, 6두는 수태되지 않았다. 이들 6두중 사용가능한 2두는 약 4개월후에 재차 발정동기화를 실시하여 수정란을 재차 이식하였는데 또다시 모두 수태되지 않았다. 이로 미루어 이들 개체의 불임원인은 이식한 수정란에 원인이 있는 것이 아니라 수란우자체의 원인불명의 요인에 기인한 것으로 생각되며 따라서 수란우 선정에 있어서는 정확을 기해야 하는 점을 일깨우고 있다.

4. 공란우와 수란우의 발정동기화의 시차에 따른 수태율

이식되는 수정란이 착상함에 있어 가장 좋은 자궁의 상태는 공란우의 자궁상태(uterine age)와 수란우의 자궁상태가 똑같은 상태(age)가 바람직하다. 그러나 시령을 동기화 하기는 힘들 때가 많다. 따라서 공란우와 수란우의 발정동기화에 있어 최대 몇시간의 간격까까지 수정란이식을 할때 수태가 가능한 가를 조사하였다. 본 연구에서는 공란우 발정(standing heat)을 기점으로 ±24시간내의 수란우만 대상으로 하였다.

수란우는 공란우보다 12시간 앞서 Estrumate[®]를 주사하였으며 공란우의 발정발현을 0로 하고, 그

Table 4. Effect of Recipient Synchrony on Pregnancy Rate

donor/recipient Synchrony	No. of transfer	No. of pregnancy	Pregnancy rate (%)
Estrus +over 12hrs.	2	1	50
after donor 6~12hrs.	14	11	79
0~6hrs.	9	6	67
Estrus befeor donor 0~6hrs.	7	6	86
6~12hrs.	1	1	100

보다 수란우의 발정발현이 늦은 것을 +군 : 자궁상태가 공란우보다 어리다 (young), 로 하고 공란우보다 수란우가 먼저 발정발현한 것을 -군 : 수란우의 자궁상태가 공란우보다 오래다 (old),으로 표시하여 그 성적을 보면 Table 4.와 같다. 수란우의 발정은 공란우가 발정한 후 6시간이내가 + (0~6 hrs) 9두, + 6~12hrs가 14두, +12시간 이상이 2두로 수란우가 공란우보다 발정이 늦게 온 것이 총 25두였고, 공란우보다 발정이 빨라 온 수란우는 총 8두로 공란우보다 발정이 늦은 경우가 더 많았다. 수태율에서는 +군은 총 25두 중 18두가 수태되어 72%의 수태율을 보였고, -군은 8두중 7두가 수태하여 88%로 +군보다 훨씬 높았다.

(+) 0~6시간의 수란우의 수태율은 67%, (+) 6~12시간의 수란우는 79%, (+) 12시간 이상의 수란우에서는 50%였으며 (-) 0~6시간의 수란우는 86%, 그리고 (-) 6~12시간의 수란우는 100%로 나타났다. (+) 12시간 이상에서 50%의 낮은 수태율을 보였으나 (+) 0~6시간의 67%는 기대한 수태율보다 낮게 나타났다. 대체적으로 수란우의 자궁의 시령이 ± 12시간내에서 오래 (old)된 것일 수록 높은 수태율을 보인다고 할 수 있다. 따라서 수정란이식을 위한 발정동기화의 공란우와 수란우의 시차는 ± 12시간 이내로 된것이라야 기대한 성과를 얻을 수 있을 것으로 판단된다. Wright¹¹⁾의 연구에서는 - 36시간, - 24시간, - 12시간, 0, + 12시간, + 24시간, + 36시간의 수태율이 각각 59%, 61%, 68%, 59%, 61%, 58% 그리고 41%였는데 이는 본 연구결과와 같은 추세였다. Sreenan 등⁹⁾의 양쪽 자궁각의 쌍태이식 연구에서는 day 0, day - 1, day + 1,의 수태율이 82%, 66.7%, 61.5%로 역시 비슷하였다. Schneider 등⁷⁾의 연구에서는 - 12시간, 0, + 12시간의 수태율이 66%, 67%, 61%로 역시 본인 등과같은

경향이였으나 Newcomb⁵⁾의 연구에서는 day - 1, day + 1의 수태율이 각각 38.5%와 50%로 비수술적인 방법이긴 하지만 본인들의 결과와는 달리 +군의 수태율이 높게 나타났다.

한편, 자연발정한 수란우와 홀몬투여에 의해 발정 유도된 수란우를 사용하여 이들간의 수태율을 조사 하였던 바, 그 결과는 Table 5.와 같다.

Table 5. Effect of Drug Induced Recipient Synchronization on Pregnancy Rate

	No. of transfer	No. of pregnancy	Pregnancy rate (%)
Induced	27	19	70.3
Natural	6	6	100

자연발정우군은 6두이식하여 6두 모두 수태되어 수태율이 100%였고, 홀몬처리된 우군은 수태율이 70.3%로 자연발정우군의 수태율이 훨씬 높았다. 따라서 앞으로 냉동수정란이식이 실용화 되었을때 자연발정우를 수란우로 이용하면 수태율을 높일 수 있는 한 방법이라 하겠다. 그러나 Wright¹¹⁾의 연구에서 자연발정우군과 투약군의 수태율이 각각 58%와 59%로 양자간에 별다른 차이가 없다고 하였다.

한편 발정발현이 미약한 수란우를 1일 2회 PG (Prostaglandin F_{2α}주사)한 수란우와 1회만 주사한 수란우의 수태성적을 비교하였던 바, 그 결과는 Table 6.과 같다.

Table 6. Effect of Once and Twice Drug Inlection for Synchronization on Pregnancy Rate

	No. of transfer	No. of pregnancy	Pregnancy rate (%)
Once injected	28	22	78
Twice "	5	3	60

1회 PG한 수란우는 수태율이 78%였고, 2회 PG한 경우는 60%로 2회 주사한 우군의 수태율이 오히려 낮았다. 이는 2회 유도 적용된 수란우가 계절적 요인과 영양불균형 등으로 발정발현상태 등이 근본적으로 불량한 소였으므로 수태율이 낮게 나타난 것은 주사횟수보다는 수란우 자체의 상태에서 기인한 것으로 판단된다. 이들 문제는 금후 연구가 계속되어져 좀더 명확한 결론이 내려질 것으로 본다.

적 요

수정란이식에 있어서 수란우의 조건에 따른 수태율을 조사하기 위하여 생후 14~24개월되는 젖소 처녀우 29두와 한우 처녀우 1두, 그리고 젖소 경산우 3두 계 33두의 수란우에 morulae stage부터 advanced blastocyst stage의 수정란을 각각 1개씩 이식하여 이들 수란우의 연령, 이식된 계절, 반복사용 그리고 공란우와 수란우간의 발정동기화 시차 등에 따른 수태율을 조사하였으며 그 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 수란우의 연령에 따른 수태율은 경산우가 100%로 좋았고 18개월 이상의 처녀우가 78%로 높았다. 14개월 이하의 어린 처녀우가 가장 나쁜 67%를 보였다.

2. 이식한 계절에 따른 수란우의 수태율을 보면 겨울(11월~1월)과 봄(2월~4월)이 각각 100%, 83%로 가을(8월~10월)의 50%보다 좋았다.

3. 1차 이식 후 불임된 수란우의 재사용에 따른 수태율은 1차에 사용된 31두 수란우 중 25두가 수태, 80.7%의 수태율을 보였으나 2차례 이용된 2두는 모두 임신되지 못했다.

4. 공란우와 수란우의 발정동기화의 시차에 따른 수태율은 -(before donor) 12시간, -6시간, +(after donor) 6시간, +12시간, 그리고 +12시간 이상에서 각각 100%, 86%, 67%, 79% 그리고 50%로 공란우보다 빠른편이 수태율이 낮은 우군보다 높았고 ±12시간 이내의 동기화된 우군에서 좋은 수태율을 보였다.

인 용 문 헌

- Betteridge, K. J. : Techniques and results obtainable in embryo transfer Canada Dept. of Agriculture ; Monographic Issues.
- Hasler, J. F. Malaulcy, A.D. Schermerhorn, E. C. and Foote, R. H. : Superovulatory responses of holstein cows. Theriogenology (1983) 19:83-93.
- Kilmer, B. : Triad E. T. Co. Ltd., Canada: Unpublished observation in 1984.
- Looney, C. R. Boutte, B. W. Archbald, L. F. and Godke, R. A. : Comparison of once daily injection and twice daily injections for superovulating beef cattle. Theriogenology (1981) 15:13-22
- Newcomb, R. : Surgical and non-surgical transfer of bovine embryos. Vet. Record. (1979) 105:432-434
- Newcomb, R. and Rowson, L. E. A. : Investigation of physiological factors affecting non-surgical transfer. Theriogenology (1980) 13:41-49
- Schneider Jr, H. J. Castleberry, R. S. and Griffin, J. L. : Commercial aspects of bovine embryo transfer. Theriogenology (1980) 13:73-85
- Shea, B. F. Hines, D. J. Lightfoot, D. E. Ollis, G. W. and Olson, S. M. : The transfer of bovine embryos. In: Egg transfer in cattle; Ed. Rowson, L. E. A. Commission of European Communities, Luxembourg, Eur. 3491. (1976) 145-152
- Sreenan, J. M. Beehan, D. and Mulvehill, P. : Egg transfer in the cow. J. Repr. Fert. (1975) 44:77-85
- Tucker, H. A. : Seasonality in cattle. Theriogenology (1982) 17:53-59
- Wright, J. M. : Non-surgical embryo transfer in cattle. ; Embryo-recipient interaction. Theriogenology (1981) 15:43-56