

한우에서 수정란 이식의 효율 증진에 관한 연구

II. 수란우의 조건이 이식 후 수태율에 미치는 영향

김홍률 · 김덕임 · 박노형 · 김창근* · 정영채* · 윤종택** · 전광주**

축협중앙회 개량사업본부

Studies on the Improvement of

Embryo Transfer Efficiency in Korean Cattle

II. Effect of Recipient Conditions on Pregnancy Rate after Embryo Transfer

H. R. Kim, D. I. Kim, N. H. Park, C. K. Kim*, Y. C. Chung*, J. T. Yoon** and G. J. Jeon**

Livestock Improvement Main Center, NLCF

SUMMARY

This study was carried out to establish an effective system for embryo transfer techniques by analyzing several factors affecting *in-vivo* embryo transfer in Korean cattle. Embryos produced *in-vivo* were transferred into a total of 301 recipients.

The results obtained in studies on the factors affecting pregnancy rate after embryo transfer by condition of recipients were as follows :

1. The pregnancy rate by age and parity of recipients showed high in 5~8 and over 12 years old(72.7~73.9%), and 3rd~4th parity(82.1%) for fresh embryos($P < 0.05$). The pregnancy rate did not differ by age and parity of recipients in frozen embryos. The pregnancy rate of frozen embryos tended to be similar to that of fresh embryos(38.5% and 25.0~36.7%).
2. The number of observation for normal estrus cycles of recipients did not differ in pregnancy rate between one and 2 times in fresh embryos(64.9%, 69.8%). The pregnancy rate by transferred frozen embryos showed significantly higher after 2 times of observation($P < 0.05$, 16.3%, 37.5%). The pregnancy rate by days open did not differ between fresh and frozen embryos. But the pregnancy rate was slightly higher in 12 months and 6 months of days open for fresh and frozen embryos, respectively(70.1~71.1% and 24.5%, respectively).
3. The pregnancy rate of transferred fresh and frozen embryos into right and left side of uterine horn did not differ(62.1% : 65.9% ; 25.0% : 24.3%, respectively). The pregnancy rate by the grade of CL was not different in fresh embryos, but the pregnancy

*중앙대학교 축산학과(Dept. of Anim. Sci., Chung-Ang University)

**안성산업대학교 축산학과(Dept. of Anim. Sci., Anseong National University)

rate was significantly higher in the grade A than B for frozen embryos ($P < 0.01$, 43.2%, 16.2%).

(Key words : embryo transfer, recipients, pregnancy rate, frozen embryos)

서 론

현재 수정란 이식 기술의 효율이 크게 향상되고 있지만 더욱 산업적으로 활용되기 위해서는 각 단계별로 해결되어야 할 문제점들이 많이 남아 있다. 수정란을 이식하여 다수의 송아지를 생산하기 위해서는 수정란의 이식 후 수태율을 높이는 것이 필수적이며 가장 중요한 과제이다. 그러나 수태율이 인공수정에 의한 것보다 낮을 뿐만 아니라 동결 용해 수정란의 수태율에서 더욱 낮은 실정이다.

수정란 이식시 수태율에 영향을 미치는 요인들이 여러가지 측면으로 고려되어 왔으며, 수태율의 증진을 위하여 수란우의 선택도 중요한 요인이 되고 있다. 수란우의 조건으로서 나이와 산차 그리고 황체상태 등을 들 수 있다.

Wright(1981)는 경산우와 미경산우 간에 수태율에 큰 차이가 없었다고 하였으나, Elsden 등(1982)과 오 등(1986)은 미경산우 또는 초산우를 수란우로 선정하는 것이 좋다고 하였다. 한편 Donaldson(1982)은 미경산우에서 더 유리한 조건은 없다고 하여, 현재 보고자들 간에 일치된 견해를 보이고 있지 않다. 수란우의 나이는 조산과 관계가 있으며 4 산 이하에서 조산이 많다는 보고도 있다(King 등, 1985).

또한 수정란 이식 부위 즉, 황체가 존재하는 좌우 자궁각에 따라서 수태율이 다소 차이가 있다는 보고도 있다(Bowen 등, 1978 ; 이 등, 1986). 수란우의 황체상태에 대하여 Niemann 등(1985)은 수태율과 관계가 있음을 보고하였고, 국내에서 김(1986)도 수정란 이식시 수란우가 중요하기 때문에 적절한 수란우의 준비 및 관리에 대하여 강조한 바 있다.

따라서 본 연구에서는 한우에서 체내 수정란 이식 수태율에 영향을 미치는 요인들 중에서 수란우의 나이, 산차, 발정, 공태기간 및 황체기능과의 관계를 조사하여 수태율 향상을 위한 수란우의 준비 조건을 찾고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 공시 한우

1992년 11월부터 1995년 12월까지 약 3년 2개월 간에 축협중앙회 개량사업본부 한우개량부에서 사육된 종번우 301두를 수란우로 선정하여 공시하였다.

2. 이식 수정란

다배란처리 후 회수한 수정란 중에서 본 연구에 공시된 수정란은 수정란의 질을 평가한 다음 수정란의 발생단계에 따라 상실배기와 배반포기로 구분하여 이식하였으며, 신선 또는 동결 수정란을 이식하였다.

3. 수정란의 동결 및 융해

채란된 수정란 중에서 A, B등급의 수정란만을 선별하여 동결하였다. 회수된 수정란을 D-PBS+20% FCS 용액으로 3회 세정하고 3, 6, 10%의 glycerol이 첨가된 동결배양액으로 4-well dish(Nunc, USA)에서 5단계로 5분씩 탈수를 유도한 후 0.25ml의 straw(IMV, France)에 수정란을 충전시켰다.

충전된 수정란은 세포동결기(Cryomed, USA)를 이용하여 실온에서 -7°C 까지는 $3^{\circ}\text{C}/\text{분}$, -7°C 에서 -28°C 까지는 $0.3^{\circ}\text{C}/\text{분}$, -28°C 에서 -35°C 까지는 $0.1^{\circ}\text{C}/\text{분}$ 으로 하강시켰으며, -7°C 에서 자동 식빙하고 15분간 정치시킨 다음 -35°C 까지 하강시켜 수정란을 액체질소에 침지하였다.

수정란의 융해는 공기 중에 5초간 노출시키고 30°C 의 온수에서 10초간 급속 융해를 한 후 수정란으로부터 glycerol을 제거하기 위하여 0.3M의 sucrose과 10% glycerol이 첨가된 배양액에서 역순으로 D-PBS+20%FCS에 이르기까지 5분씩 거쳐 glycerol을 제거하였다.

Glycerol이 제거된 수정란은 신선 배양액에서 3회 세정 과정을 거친 후 A, B, C등급에 속하는 수정란만을 이식에 이용하였다.

단부에 주입하였다.

4. 수란우의 발정동기화

수란우의 발정동기화는 주로 자연발정으로 동기화된 수란우를 이용하였으며 그 외의 수란우는 황체가 존재하는 대상축을 선정한 후 PGF_{2α}의 유사체인 Lutalyse 25mg을 1회 주사하여 발정을 유도하였다. 발정동기화 정도는 ±2일 이내에 있는 수란우에 이식하였으며 이중 ±1일인 수란우는 84%였다.

5. 수정란 이식 및 임신 감정

1) 수정란 이식

정상 발정 상태를 나타내고 발정주기 6~8일째인 수란우 중에서 직장검사로 황체검사를 실시한 후 이식하였다.

황체의 상태는 A, B, C등급으로 분류하였으며 황체의 크기가 정상이고 좋은 형태로 crown을 지닌 것을 A급, 정상 크기이지만 crown이 없는 것을 B급, 미약하게 황체가 감지되는 것을 C급으로 하였다.

수정란은 비외과적 방법으로 이식하였으며 이식 전에 수란우를 2% lidocain 5ml로 후구 부위 국소마취를 시키고, 수정란이 충전된 straw를 주입기에 장전하여 플라스틱 피복제(Sheath, IMV, France)를 씌우고, 질을 통과할 때 오염물질이 자궁 내로 주입되는 것을 방지하면서 이식하였다.

수정란의 이식부위는 황체가 존재하는 자궁각 선

2) 임신 감정

수정란 이식 후 발정재귀에 따라 임신 여부를 1차적으로 확인하였으며 2~3개월 이후 직장검사법에 의하여 임신 여부를 최종 확인하였다.

6. 통계 분석

수정란의 종류(신선란 및 동결란)에 따라 각 요인별의 수태율 차이를 SAS(1985)를 이용한 χ^2 -test로 유의성 검정을 실시하였다.

결과 및 고찰

1. 수란우의 나이

수란우의 나이에 따라 신선란과 동결란 이식으로 얻어진 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다.

신선란 이식의 경우는 5~8세와 12세 이상에서 수태율이 월등히 높았고, 2~4세와 9~11세에서 수태율이 낮아졌으며 나이간에 수태율에 유의적인 차이가 있었다($P<0.05$). 동결란 이식의 경우는 수태율이 5~8세에서 역시 가장 좋았고, 9~11세에서 가장 낮았다. 그러나 통계적으로 유의성이 인정되지 않았다.

본 연구 결과는 오 등(1986)이 가급적 나이가 적은 수란우를 사용하는 것이 바람직하다고 한 결과와는 다소 차이가 있었으나 유사한 결과였다.

그리고 본 연구의 신선란 이식에서 12세 이상 수

Table 1. Effect of ages on pregnancy rate in fresh and frozen embryos

State of embryos	Age of recipients(yr)	No. of recipients		Pregnancy rate (%)
		Transferred	Pregnant	
Fresh ¹⁾	2~4	50	25	50.0
	5~8	65	48	73.9
	9~11	33	19	57.6
	≥12	22	16	72.7
Frozen ²⁾	2~4	45	10	22.2
	5~8	34	12	35.3
	9~11	35	3	8.6
	≥12	17	3	17.7

¹⁾ $\chi^2=8.24$ ($P<0.05$).

²⁾ $\chi^2=7.49$ ($P>0.05$).

란우의 수정란 이식 결과가 좋았던 것은 12세 이상 까지 종빈우로 양호하게 이용된 수란우에 이식하였기 때문인 것으로 사료되었다.

따라서 수정란 이식시 수란우의 나이는 5~8세 사이의 수란우를 이용하는 것이 좋으며, 동결란에서는 특히 9세 이상의 경우 가급적 수란우에서 제외하는 것이 바람직한 것으로 사료되었다.

2. 수란우의 산차

신선란 및 동결란으로 이식하였을 때 수란우 산차에 따른 임신 결과는 Table 2에서 보는 바와 같다.

신선란의 이식은 3~4산에서 82.1%로 수태율이 가장 좋았고, 8~10산, 5~7산, 1~2산, 처녀우의 순으로 수태율이 낮아졌으며 이들 간에 통계적 유의성이 인정되었으며 나이에 따른 수태율과 유사한 결과였다($P<0.05$).

동결란의 이식은 1~2산에서 36.7%로 수태율이 가장 좋았으며, 5~7산에서 5.3%로 가장 낮았다. 그러나 수태율은 산차 간에 유의성이 인정되지 않았으며 신선란의 경우와 다소 다르게 1~2산에서 가장 좋은 수태율을 나타냈다.

이러한 결과는 김 등(1993)이 한우 수정란을 육우에 이식하였을 때 산차에 따른 수태율이 경산우가 미경산우보다 좋다고 한 결과와 Donaldson (1982)이 미경산우에서 유리한 조건이 별로 없다고 보고한 결과와는 유사한 경향을 나타냈다.

그러나 Elsden 등(1982)이 수란우로 미경산우 혹은 초산우를 선정하는 것이 좋다고 한 것 그리고 오등(1986), Wright(1981), 석 등(1983)이 미경산우와 경산우 간에 수태율에 있어서 차이가 없다고 한 결과는 달랐다.

특히 Putney 등(1988)은 육우의 경우 경산우가 다소 좋은 반면 젖소에서는 오히려 처녀우가 다소 좋았다고 하여 산차의 영향이 육우와 젖소 간에 차이가 있음을 보고한 바 있다.

본 연구 결과와 이를 여러 보고를 고려해 볼 때 수란우는 경산우로서 산차가 4산 이하의 것을 대상으로 이용하는 것이 바람직한 것으로 사료되었다.

3. 수정란 이식전 수란우의 발정주기 확인 회수

수란우에서 정상 발정주기의 확인 회수에 따른 이식 후 수태율은 Table 3과 같다.

신선란 이식에서 발정주기를 3회 확인 후 이식한 경우가 69.8%의 수태율로 가장 좋았고 처음 발정이 확인된 후 이식한 경우는 52.5%로 낮았다. 그러나 수태율 간에 유의성은 인정되지 않았다.

동결란 이식시는 발정주기를 3회 확인 후 이식에서 수태율이 37.5%로서 1~2회 확인 후 이식한 경우보다 수태율이 유의성 있게 훨씬 높았다($P<0.05$).

수란우의 발정주기 확인 후 이식에 따른 수태율에 관한 보고 예가 없기 때문에 직접 비교할 수 없

Table 2. Effect of parities on pregnancy rate in fresh and frozen embryos

State of embryos	Parity of recipient	No. of recipients		Pregnancy rate (%)
		Transferred	Pregnant	
Fresh ¹⁾	Heifer	34	15	44.1
	1~2	26	15	57.7
	3~4	39	32	82.1
	5~7	43	26	60.5
	8~10	28	20	71.4
Frozen ²⁾	Heifer	30	6	20.0
	1~2	30	11	36.7
	3~4	20	5	25.0
	5~7	19	1	5.3
	8~10	32	5	15.6

¹⁾ $\chi^2=12.62$ ($P<0.05$).

²⁾ $\chi^2=7.93$ ($P>0.05$).

Table 3. Effect of estrus cycles on pregnancy rate in fresh and frozen embryo

State of embryos	Estrus cycle	No. of recipients		Pregnancy rate (%)
		Transferred	Pregnant	
Fresh ¹⁾	1st	40	21	52.5
	2nd	77	50	64.9
	3rd	53	37	69.8
Frozen ²⁾	1st	48	6	12.5
	2nd	43	7	16.3
	3rd	40	15	37.5

¹⁾ $\chi^2=3.07 (P>0.05)$.²⁾ $\chi^2=9.10 (P<0.05)$.

었으나, 본 연구 결과에 따르면 신선란 이식시는 발정주기가 정상우라고 판단되면 이식이 가능하나 동결란의 경우는 가능한 3회의 발정주기를 확인하고 이식하는 것이 양호한 임신 결과를 기대할 수 있는 것으로 사료되었다.

4. 수란우의 공태기간

계절번식 조건에서 수란우 중 경산우의 공태기간에 따른 수정란 이식 후 결과는 Table 4에서 보는 바와 같다.

신선란 이식시는 12개월 이내의 공태기간에서 수태율이 13개월 이상의 수태율 50.0%보다 높았으나 유의성은 인정되지 않았다.

동결란 이식에서는 공태기간이 6개월 이하인 경우가 수태율이 다소 높았으나 공태기간이 수태율에 영향을 미치지 않았다.

본 연구에서 계절 번식에 의한 공태기간이 7~12개월이면 1회 교배기 동안 수태되지 않은 경우이고,

13개월 이상이면 2회의 교배기를 거친 기간임을 고려해 볼 때 신선란의 경우는 적어도 공태기간이 12개월 이하가 바람직한 것으로 사료되었다.

Mauer와 Echternkamp(1982)도 육우에서 수란우 선발이 수태가 잘 되는 소와 분만 후 수태까지 소요 시간이 짧은 것이 좋다고 보고한 바 있다.

5. 수정란 이식 자궁각

황체가 존재하는 좌, 우측 자궁각에 이식한 수정란의 수태 결과는 Table 5와 같다.

전체적으로 황체가 존재하는 좌, 우측의 비율을 살펴보면 36.3% : 63.7%로 우측에 많이 존재하는 경향이 있었다. 신선란과 동결란의 이식에서 이식되는 쪽의 자궁각에 따라서 수태율은 유의성이 인정되지 않았다.

이 등(1986)은 황체가 존재하는 쪽의 비율은 38.5% : 61.5%로 오른쪽이 다소 많았고, 수태율에서도 오른쪽 자궁각 이식의 수태율이 높다고 하였다.

Table 4. Effect of days open on pregnancy rate in fresh and frozen embryos

State of embryos	Days open (month)	No. of recipients		Pregnancy rate (%)
		Transferred	Pregnant	
Fresh ¹⁾	≤6	87	61	70.1
	7~12	38	27	71.1
	≥13	10	5	50.0
Frozen ²⁾	≤6	53	13	24.5
	7~12	27	5	18.5
	≥13	19	3	15.8

¹⁾ $\chi^2=1.81 (P>0.05)$.²⁾ $\chi^2=0.80 (P>0.05)$.

Table 5. Effect of transfer side into uterine horn on pregnancy rate in fresh and frozen embryos

State of embryos	Uterine hone (Side)	No. (%) of recipients		Pregnancy rate (%)
		Transferred	Pregnant	
Fresh ¹⁾	Right	91(61.1)	60	65.9
	Left	58(38.9)	36	62.1
Frozen ²⁾	Right	74(67.3)	18	24.3
	Left	36(32.7)	9	25.0

¹⁾ $\chi^2=0.23$ ($P>0.05$).²⁾ $\chi^2=0.01$ ($P>0.05$).

Bowen 등(1978)도 오른쪽과 왼쪽의 수태율 간에 유의성은 없었으나 오른쪽이 다소 좋은 결과였다고 하였다.

본 연구에서는 이식하는 쪽에 따라 수태율의 차이는 없었으나, 이식시 황체가 존재하는 쪽 자궁각에 이식하는 것은 수태율 향상에 중요하게 영향을 미친다고 사료되었다.

6. 수란우의 황체 상태

수란우의 황체 상태(A, B, C등급)에 따른 수정란 이식의 결과는 Table 6에서 보는 바와 같다.

신선란 이식시 수란우의 황체 등급에 따라 수태율 간에 통계적 유의성이 인정되지 않았다. 그러나 동결란 이식에서는 황체 상태가 A등급인 경우 수태율이 43.2%로 월등히 좋았다($P<0.01$).

Niemann 등(1985)은 직장 검사에서의 황체 상태에 따른 임신 결과가 A, B, C등급에서 각각 54%, 42%, 60%로서 황체 상태와 수태율 간에 차이가 있음을 보고하였고, 본 연구 결과와도 다소 차이가 있

었다.

본 연구에서 신선란 이식에서는 수란우의 황체 등급에 관계없이 황체의 유무에 따라 이식이 가능하였으나, 동결란의 경우는 황체 등급이 A등급 상태일 때 이식하는 것이 바람직한 것으로 사료되었다.

적 요

본 연구는 한우의 체내 수정란 이식에 영향을 미치는 요인을 분석하여 효과적인 수정란 이식 체계를 정립하고자 실시하였으며, 체내 수정란을 301두의 수란우에 이식하였다.

수란우의 조건이 수정란 이식 후 수태율에 미치는 영향을 살펴 본 결과는 다음과 같다.

1. 수란우의 나이와 산차 간의 수태율은 신선 수정란에서 5~8세와 12세 이상(72.7~73.9%) 그리고 3~4산(82.1%)에서 유의적으로 좋았으며($P<0.05$), 동결란에서 유의적인 차이는

Table 6. Effect of grade of corpora lutea on pregnancy rate in fresh and frozen embryos

State of embryos	Grade of CL	No. of recipients		Pregnancy rate (%)
		Transferred	Pregnant	
Fresh ¹⁾	A	60	39	65.0
	B	44	29	65.9
	C	33	21	63.6
Frozen ²⁾	A	37	16	43.2
	B	37	6	16.2
	C	10	0	0

¹⁾ $\chi^2=0.04$ ($P>0.05$).²⁾ $\chi^2=11.02$ ($P<0.01$).

- 없었으나 신선란과 같은 경향이었다(35.8%와 25.0~36.7%).
2. 수란우의 정상 발정주기 확인 회수에 따른 수태율은 신선란의 경우 회수(2~3) 간에는 차이가 없었으나(64.9% : 69.8%), 동결란에서는 3회 확인 후 이식에서 수태율이 유의적으로 높았다($P < 0.05$, 16.3% : 37.5%). 공태기간에 따른 수태율은 신선란과 동결란에서 모두 유의적인 차이는 없었으나, 신선란은 12개월 이내, 동결란은 6개월 이내의 공태기간에서 다소 높았다(70.1~71.1%와 24.5%).
 3. 신선 및 동결 수정란을 좌우 자궁각에 이식했을 때 수태율은 차이가 없었다(62.1% : 65.9%, 25.0% : 24.3%). 황체상태에 따른 수태율은 신선란에서 차이가 없었으나, 동결란은 B 등급보다 A등급에서 유의적으로 높았다($P < 0.01$, 43.2% : 16.2%).

참고문헌

- Bowen JM, Elsden RP and Seidel GE Jr. 1978. Non-surgical embryo transfer in the cow. *Theriogenology* 10(1):89-95.
- Donaldson LE, 1982. Embryo transfer in cattle. Rio Vista International Inc. San Antonio Texas. pp. 54-65.
- Elsden RP, Seidel GE Jr, Takeda T and Farrand GD. 1982. Field experiments with frozen-thawed bovine embryos transferred nonsurgically. *Theriogenology* 17:1-10.
- King KK, Seidel GE Jr and Elsden RP. 1985. Bovine embryo transfer pregnancies. II. Lengths of gestation. *J. Anim. Sci.* 61:758-765.
- Maurer RR and Echternkamp SE. 1982. Hormonal asynchrony and embryonic development. *Theriogenology* 17:11-22.
- Niemann H, Tenhumberg H, Sacher B and Kruft B. 1985. Pregnancy rates after nonsurgical transfer of cattle embryos frozen and thawed by a field method. *Anim. Breed. Abstr.* 53:206-207.
- Putney DJ, Thatcher WW, Drost M, Wright JM and DeLorenzo MA. 1988. Influence of environmental temperature on reproductive performance of bovine embryo donors and recipients in the southwest region of the United States. *Theriogenology* 30:905-922.
- SAS. 1985. User's Guide :Statistics. SAS Institute Inc., Cary, NC.
- Wright JM. 1981. Non-surgical transfer in cattle:embryo-recipient interaction. *Theriogenology* 15:43-46.
- 김일화, 손동수, 이동원, 류일선, 이광원, 전기준, 손삼규. 1993. 한우 수정란의 육우 이식에 관하여. *한국수정란이식학회지* 8(2):105-109.
- 김창근. 1986. 수정란 이식에 있어서 수란우의 준비와 관리. *한국수정란이식연구회지* 1(1):35-49.
- 석호봉, 이광원, 신용식, 김호중, 지윤행, 오대균, 지설하, 임경순, 알피에스텐. 1983. 소의 동결수정란의 수태에 미치는 영향. I. 글리세롤 부유액에 의한 6단계 평형의 영향. *한축지* 25(4):369-374.
- 오성종, 양보석, 김희석, 이근상, 김강식, 스피어스, 아우리. 1986. 소의 발정 동기화 및 동결수정란 이식에 관한 연구. *한축지* 28:468-473.
- 이정호, 박항균, 조민희. 1986. 수정란 이식에 있어서 수란우와 수정란의 상호작용이 수태율에 미치는 영향. *한국수정란이식연구회지* 1(1):76-80.

(접수일자 : 1998. 1. 6 / 채택일자 : 1998. 2. 27)