

한우 체외성숙·체외수정란의 수정란이식에 관한 연구

황환섭 · 장현용 · 김성곤 · 김종택 · 박춘근 · 정희태 · 김정익 · 양부근[†]

강원대학교 동물자원과학대학

Studies on the Embryo Transfer of *In Vitro* Matured/ *In Vitro* Fertilized Embryo in Hanwoo

H. S. Hwang, H. Y. Jang, S. K. Kim, J. T. Kim, C. K. Park, H. T. Cheong,
C. I. Kim and B. K. Yang[†]

College of Animal Resources Science, Kangwon National University

SUMMARY

These studies were carried out to improve the reproductive efficiency through embryos transfer of Hanwoo IVM/IVF embryos. Following routine IVM/IVF procedure, oocytes and zygotes were cultured for 40 to 44 h in CR1aa medium with BSA. Then 2 to 8-cell embryos were removed the cumulus cell and were cultured in CR1aa medium containing 10% fetal bovine serum and 2.5 mM taurine in 5% O₂ and 5% CO₂ at 38.5°C.

The fresh embryos of the morulae and blastocysts cultured for 6 to 9 days *in vitro* or the frozen-thawed embryos were transferred into recipients.

The pregnancy rates of the blastocyst produced for 6, 7, 8, and 9 days in *in vitro* culture were 59.4, 68.2, 66.0 and 100%, respectively. In the developmental stage, pregnancy rates of early blastocysts(61.1%), blastocysts(64.7%) and expanded blastocysts(69.5%) were higher than that of morulae stage(20.0%). The pregnancy rates according to the corpus luteum grades of A, B and C in recipients were 73.6, 62.9 and 50.0%, respectively. Effects of donor-recipients synchrony of after day 2, 1 and 0, before day 1 and 2 on the pregnancy rates were 35.7, 65.5, 72.6, 67.9 and 60.0%, respectively. Pregnancy rates of the body condition score of recipients ≤2(71.3%) were higher than those of ≥3.0 score(40.0%). The pregnancy rates according to the parity of recipients when embryo was transferred to cow(70.6%) was higher than in heifer(59.1%). The pregnancy rates according to hormone treatment before embryo transfer were 69.9% in hCG + GnRH administration group and 63.0% in control group. Fresh and frozen-thawed embryos on the pregnancy rates were 70.6 and 36.4%, respectively. Pregnancy rates in single and AI+single was 90.0% and 64.8%. Pregnancy rates in twin induction was better than in single.

These results indicate that pregnancy rates after transfer were affected on the embryo ages, donor-recipient synchrony, body condition score of recipients, corpus luteum status, parity and hormone treatment to recipients.

(Key words : embryo transfer, Hanwoo IVM/IVF embryo, pregnancy rates, synchrony, body condition score)

[†] Correspondence : E-mail : bkyang@kangwon.ac.kr

서 론

우리나라 축산업에서 가장 중요한 농가소득원으로 자리 잡고 있는 한우 사육 사업에 있어서 번식 효율증대와 능력개량은 생산성 향상과 국제 경쟁력이 있는 사육기반을 구축하기 위한 선결해야 할 필수 과제이다. 우리나라의 한우산업은 최근 생우 수입, 광우병, 구제역 등과 같은 요인에 의한 사육 불안 심리와 고급육 선호 추세에 의한 지나친 한우 암소 도축으로 IMF 이전인 '97년 한우 사육 두수 274만두에서 2003년 12월 현재 148만두로 급격히 줄어 한우 사육기반이 위축되어 있다.

우리나라에서 한우 개량을 위한 수단으로 인공 수정기술이 보급되어 한우 개량과 번식효율 증대에 크게 기여하였으나, 인공수정 기술은 종모축 중심의 가축 개량이라는 기술의 한계성이 있다. 이를 보완하는 방안으로 최근에는 수정란 이식 기술이 이용되고 있으나, 우리나라에서 수정란 이식 기술이 실용화되지 못하고 있는 실정이다.

수정란 이식 기술의 성공 여부는 회수되는 체내 수정란 또는 체외에서 생산되는 수정란의 발육단계와 질(quality), 공란우와 수란우의 선발, 발정 동기화, 수란우의 신체충실도 및 요소태질소와 같은 생리적 상태, 수정적기 판정 등 많은 요인에 의해 좌우된다(Putney 등, 1988; Wright 등, 1985; Looney 등, 1984).

수정란 이식 기술에 의한 수태율 향상을 위하여는 건강한 종번우를 이용한 양질의 체내 수정란 확보, progesterone, hCG, GnRH 또는 intravaginal progesterone releasing device(PRID 또는 CIDR)와 같은 hormone 투여에 의한 수란우와 공란우의 발정 동기화 및 정확한 발정유도에 의한 수정적기 판정 등으로 수태율 향상을 도모하고 있으나(Walton 등, 1986 ; Ellington 등 1991 ; Looney 등, 1999), 팔복할 성적을 거두지 못하고 앞으로 더욱 연구되어야 할 과제로 남아있다.

수정란 이식 기술을 이용하여 한우사육 두수를 증가시키고 유전적으로 우수한 한우를 대량 생산할 수 있는 기술이 확립된다면, 한우 가격의 불안정과 사료가격의 상승으로 불안해 있는 양 축가의 사기증진과 농가 소득 증대에 기여할 것

이다.

본 실험은 도축장에서 손쉽게 구할 수 있는 난소를 이용하여 한우 체외 수정란을 다양 생산하고, 한우 체외수정란을 Holstein 암소에 이식한 후 수태율에 미치는 영향을 조사하고, 수정란 이식기법을 확립하여 수정란이식 기술을 실용화하고자 실시하였다.

재료 및 방법

1. 한우 난포난의 체외성숙 및 수정

도축장에서 회수한 소의 난소를 2시간 이내에 멸균 생리식염수에 침적하여 실험실로 운반한 후 미성숙난자를 채취하였다. 채취된 난포란의 성숙 배양을 위하여 성숙배양액(TCM-199)에 10%의 Fetal bovine serum(FBS, Gibco)과 호르몬(FSH 0.5 μ g/ml, LH 5 μ g/ml 및 Estradiol 1 μ g/ml, Sigma)이 첨가된 성숙 배양액에서 20~22시간 동안 성숙배양시켰다.

체외성숙 후 체외수정액은 Brackett와 Oliphant 배양액(BO 배양액, Brackett와 Oliphant, 1975)에 20 μ g/ml heparin과 20 mg/ml bovine serum albumin (BSA ; Sigma)을 첨가한 배양액으로 50 μ l의 소적을 만들고 체외 성숙된 난포란(10~15개)을 소적배양액에 옮겼다. 체외 수정용 정자의 준비는 동결정액을 이용하여 용해후 BO 배양액에 10 mM Caffeine이 함유된 배양액과 혼합하여 2회 원심분리(1,500 rpm, 10분)하여 정자농도가 2.5×10^6 정자/ml가 되도록 정자부유액을 준비하였다. 준비된 정자부유액 50 μ l를 난포란이 있는 소적내에 첨가하여 체외수정을 실시하였다.

2. 체외수정란의 체외배양

체외 수정란의 체외배양은 CR_{1aa} 배양액(Rosenkrans와 First, 1911)에 10% FBS와 2.5 mM taurine을 첨가하여 이용하였다. 체외수정 6~8시간 후에 CR_{1aa} 배양액으로 4~5회 세척한 후 40~44시간 동안 체외배양을 실시하여 2~8세포기로 발육이 진행된 수정란 만을 선별하여 15개씩 100 μ l 소적에 옮긴 후 48시간마다 배양액을 교환하면서 6~9일 동안의 체외배양을 실시한 후 생산된 상설배 이상

의 체외수정란을 수정란 이식 실험에 이용하였다.

3. 체외수정란의 동결보존

체외배양 6~9일째의 체외수정란을 vitrification 방법을 이용하여 동결을 실시하였다(Saito 등, 1994). 기본 동결액으로 D-PBS를 이용하여 A 동결액은 기본동결액에 10% Glycerol(GL), 0.125 M Sucrose, 0.125 M Glucose, 20%의 Calf serum (CS)을 첨가, B 동결액은 10% GL, 10% Ethylene Glycol(EG), 0.25 M Sucrose, 0.25 M Glucose, 20% CS를 첨가하였고, C 동결액은 20% GL, 20% EG, 0.375 M Sucrose, 20% CS를 첨가하여 만들었다.

체외 수정란의 동결은 실온(22~28°C)에서 수정란을 D-PBS로 2~3회 세척후 A 및 B 동결액에서 5분, C 동결액에서 1분간 침지시킨 후 0.25 ml straw에 주입하여 1분 이내에 액체질소에 침적하여 동결을 실시하였다.

동결된 수정란의 융해는 20°C 항온수조에서 10~15초간 융해 후 D-PBS에 0.5M, 0.25M Sucrose 융해액을 만들어 각각 5분씩 침적 후 회복되는 수정란을 수정란 이식에 이용하였다.

4. 한우 체외수정란의 젖소에 이식

체외성숙, 체외수정에 의해 생산된 한우 체외수정란은 인공수정기법과 동일한 방법으로 황체가 형성된 쪽의 자궁각 또는 반대편 자궁각에 1~2개의 수정란을 이식하였다.

5. 수란우에 호르몬 처리

발정일(0일)에 hCG 1500IU(Chorulon, Intervert)를 근육주사한 후, 다음 날(1일)에 GnRH (Receptor, Intervert)를 5 ml 근육주사하여 황체의 기능을 원활하게 한 후 수정란을 이식하여 임신율을 증대시켰다.

6. 임신감정

임신감정은 1차적으로 이식후 20~21일에 발정이 발현되지 않으면 수태로 인정하고, 45~60일 후에 직장촉진법으로 임신을 확인하였다.

결 과

Table 1. Effects of embryo ages on the pregnancy rates after transfer of bovine IVM/IVF embryos

In vitro culture periods (days)	No. of recipients	
	Transferred	Pregnant(%)
6	32	19(59.4)
7	88	60(68.2)
8	53	35(66.0)
9	2	2(100)

1. 수정란의 체외배양일수에 따른 수태율
체외 수정란의 체외배양일수에 따른 수태율에 대한 성적을 Table 1에 요약하였다.

Table 1에 나타난 바와 같이 발육 단계에 관계 없이 체외배양 7일째에 생산된 수정란의 수태율이 68.20%(60/88)로서 6일(59.4%)과 8일(66.0%) 보다 우수한 결과를 얻었다. 체외배양 9일의 경우 이식 두수가 적어 다른 실험구와 비교하기가 곤란하였다.

2. 수정란의 발육상태에 따른 수태율

체외 수정란의 발육단계가 이식 후 수태율에 미치는 효과를 Table 2에 나타내었다.

Table 2에 요약한 것과 같이 발육단계에 따른 수태성적은 상실배, 초기 배반포, 배반포 및 확장 배반포 수정란에서 각각 20.0%, 61.1%, 64.7% 및 69.5%로서 확장 배반포기 수정란이 가장 좋은 수

Table 2. Effects of developmental stage of embryos on the pregnancy rates after transfer of bovine IVM/IVF embryos

Developmental stages	No. of recipients	
	Transferred	Pregnant(%)
Morulae	5	1(20.0)
Early blastocysts	18	11(61.1)
Blastocysts	34	22(64.7)
Expanded blastocysts	118	82(69.5)

Table 3. Effects of transfer site on the pregnancy rates after transfer of bovine IVM/IVF embryos

Corpus luteum	Transfer site	No. of recipients	
		Transferred	Pregnant(%)
R	R	48	34(70.8)
R	L	45	28(62.2)
L	L	39	27(69.2)
L	R	43	27(62.8)

태 성적을 나타냈다.

3. 수정란의 이식 위치와 수태율

체외 수정란의 이식시 황체가 형성된 자궁쪽과 반대편 자궁에 이식한 수정란이 수태율에 미치는 효과에 대한 성적은 Table 3에 요약하였다.

Table 3에 나타난 바와 같이 황체가 형성된 자궁각에 수정란을 이식한 결과 수태율이 70.1% (61/87)로서 황체가 형성된 반대편 자궁각에 이식한 수태율 62.5%(55/88)보다 우수한 성적을 나타냈다.

4. 황체 상태에 따른 수정란 이식 수태율

황체상태가 수정란 이식후 수태율에 미치는 효과를 Table 4에 요약하였다.

Table 4에서 나타난 바와 같이 황체의 직경이 1.5 cm 이상이고, 명확한 crown을 형성하고 있는 것(Good)이 이식 후 수태율이 73.6%로서 황체의 직경이 1.5 cm 이하이고 crown이 확인되지 않은 것(Fair)의 수태율 62.9%와 황체가 낭종식으로 축진

Table 4. Effects of corpus luteum grades on pregnancy rates after transfer of bovine IVM/IVF embryos

CL grade	No. of recipients	
	Transferred	Pregnant(%)
A	87	64(73.6)
B	62	39(62.9)
C	26	13(50.0)

A : Good, B : Fair, C : Poor.

되어 있지 않는 것(Poor)의 수태율 50.0%보다 우수한 수태성적을 나타냈다.

5. 발정동기화에 따른 수태율

수란우와 공란우의 발정동기화가 이식 후 수태율에 미치는 효과를 Table 5에 요약하였다.

Table 5에 나타난 바와 같이 공란우와 수란우의 발정이 일치하는 경우(0일) 이식 후 수태율이 72.6 %였으며, 발정동기화의 1일 차이가 나는 경우는 수태율이 66.3%(55/83), 2일 차이가 나는 경우는 수태율이 42.1%(8/19)로서, 공란우와 수란우의 발정이 일치할 경우 수태성적이 향상되는 것으로 나타났다.

6. 수란우의 영양상태에 따른 수태율

수란우의 신체 충실 지수, 즉 영양상태가 수태율에 미치는 효과에 대한 결과를 Table 6에 요약하였다.

Table 5. Effects of donor-recipients synchrony on the pregnancy rates after transfer of bovine IVM/IVF embryos

Synchrony (days)	No. of recipients	
	Transferred	Pregnant(%)
+2	14	5(35.7)
+1	55	36(65.5)
0	73	53(72.6)
-1	28	19(67.9)
-2	5	3(60.0)

Table 6. Effects of body condition scores on pregnancy rates after transfer of bovine IVM/IVF embryos

Body condition score	No. of recipients	
	Transferred	Pregnant(%)
≤2.0	87	62(71.3)
2.5~3.0	73	48(65.8)
≥3.0	15	6(40.0)
Total	175	116(66.3)

Table 7. Effects of parity on pregnancy rates after transfer of bovine IVM/IVF embryos

Parity	No. of recipients	
	Transferred	Pregnant(%)
Heifer	66	39(59.1)
Cow	109	77(70.6)
Total	175	116(66.3)

Table 6에 성적을 보면 영양상태 2.0 미만 즉, 가벼운 축진으로 대략적인 짙은 갈비뼈가 감지되는 다소 야원 형태의 수란우의 수태율이 71.3%(62/87)로서 다소 살이 찌거나(2.5~3.0; 65.8%) 또는 많이 살이 찐 (3.0 이상; 40.0%) 수란우 보다 수태성적이 양호한 것으로 나타났다.

7. 산차에 따른 수정란 이식 후 수태율

수란우의 산차에 따라 체외수정란을 이식한 후 산차가 수태율에 미치는 영향에 대한 결과를 Table 7에 요약하였다.

Table 7에 나타난 바와 같이 경산우(2~5산차)는 109마리에 수정란을 이식하여 77두가 수태되어 70.6%의 수태율을 나타냈으며, 미경산우의 경우 66마리에 이식하여 39두가 수태되어 59.1%의 수태성적을 얻어, 경산우가 미경산우 보다 수태성적이 높은 것으로 나타났다.

8. 수란우에 Hormone처리에 의한 수정란 이식 후 수태율

Table 8. Effects of hormone treatments on pregnancy rates after transfer of bovine IVM/IVF embryos

Treatment	No. of recipients	
	Transferred	Pregnant(%)
Control	92	58(63.0)
Hormone	83	58(69.9)

수정란 이식 후 수태율을 향상시키기 위하여 수란우에 Hormone 처리가 수태율에 미치는 효과를 Table 8에 나타내었다.

Table 8에 나타난 바와 같이 수란우에 수정란을 이식하기 전에 hCG와 GnRH Hormone을 투여한 결과 Hormone 처리구의 수태율이 69.9%(58/83)로서 무처리구의 수태율 63.0%(58/92)보다 양호한 결과를 얻었다.

9. 신선 및 동결란에 따른 이식 후 수태율

수란우에 신선란 또는 동결란을 이식하는 경우 수정란의 상태에 따른 이식 후 수태율에 대한 성적을 Table 9에 요약하였다.

Table 9에 나타난 바와 같이 신선란을 이식한 경우 70.6%(108/153)의 수태율을 나타냈으며, Vitrification 방법으로 동결시킨 동결란을 융해시킨 후 이식한 경우 36.4%(8/22)의 수태 성적을 나타냈다.

10. 단태와 쌍태유도에 따른 수정란 이식 후 수태율

한쪽 자궁각에 1개의 수정란을 이식시켜 임신케

Table 9. Effects of fresh and frozen embryos on pregnancy rates after transfer of bovine IVM/IVF embryos

Source	No. of recipients	
	Transferred	Pregnant(%)
Fresh	153	108(70.6)
Frozen	22	8(36.4)
Total	175	116(66.3)

Table 10. Effects of the number of embryos transferred on pregnancy rates after transfer of bovine IVM/IVF embryos

No. of embryos	No. of recipients	
	Transferred	Pregnant(%)
1	165	107(64.8)
2	10	9(90.0)
Total	175	116(66.3)

하는 단태 임신법과 한쪽 자궁각에 인공수정을 실시한 후 반대편 자궁각에 1개의 수정란을 이식시킨 쌍태 임신법이 수정란 이식 후 수태율에 미치는 영향에 대한 결과를 Table 10에 요약하였다.

Table 10의 결과에서 보면 쌍태의 경우 10두 중 9두가 수태되어 90.0% 수태율을 얻었으며, 단태의 경우는 165두 중 107두가 수태되어 64.8%의 수태율을 얻었다.

고 칠

약 80년 전에 소 수정란 이식에 의한 산자 출생이 보고되었고(Willett 등, 1951), 동결 소 수정란에 의한 산자 출생(Wilmut와 Rowson, 1973)이 보고된 이후 1970년대 초부터 북미 지역을 중심으로 수정란 이식 사업이 상업적인 산업으로 발전되기 시작하였다(Hasler, 2003). 국내의 경우 1980년대 한우의 수정란 이식에 대한 연구가 시작되었으나, 그 당시는 대학의 연구진들에 의해 실험실적 연구가 많이 이루어졌으며(남 등, 1985; 정 등, 1983) 일부에서는 젖소의 동결 수정란을 외국으로부터 도입하여 수정란 이식을 실시하여(석 등, 1984; 오 등, 1986) 젖소의 능력 개량을 도모하였다.

그러나 한우에서는 유전적으로 능력이 우수한 공란우로부터 수정란을 채취하여 한우의 증식과 개량을 위한 수단으로 수정란 이식 기술이 활용되고 있으나, 농가에 보급될 만큼 실용화 기술까지는 개발 되지 못하고 있는 실정이다.

본 실험에서 체외수정란의 체외배양일수에 따른 수태율은 발육단계에 관계없이 체외배양 7일째

생산된 수정란이 68.2%의 수태성적을 나타내어 6일(59.4%), 8일(66.0%) 및 9일(100%)보다 높은 결과를 나타냈다. 이상의 성적은 체외배양 7일에 생산된 체외수정란의 이식 후 수태성적이 좋았다는 Wurth 등(1994)과 Hasler 등(2003)의 성적과 일치하는 경향을 나타냈다.

또한 수정란 발육단계에 따른 수태율은 확장배반포기 수정란이 69.5%로서 가장 높은 수태성적을 나타냈다. 이러한 결과는 Hasler 등(2003)이 보고한 확장배반포기 수정란이식이 여타 발육단계보다 높은 성적을 얻었다는 보고와 일치하는 경향을 나타냈으나, Wurth 등(1994)은 체외수정란을 수란우에 이식하여 상실배기 수정란이 79%의 수태율을 나타내어 초기배반포(38%), 배반포(40%), 확장배반포(34%)가 수정란에 비하여 높은 수태성적을 나타냈다는 보고와는 상반된 결과를 나타냈다.

Remsen과 Rousell(1982)의 보고에 의하면 수란우의 황체상태는 혈중 progesterone 농도를 가늠할 수 있어서 수정란 이식 할 당시의 중요한 지표가 된다고 하였다.

본 연구에서는 황체가 형성된 자궁각에 수정란을 이식한 결과 수태율이 70.1%로서 황체가 형성된 반대편 자궁각에 이식한 수태율 62.5%보다 높은 성적을 나타냈다. 이상의 결과는 황체가 형성된 쪽에 수정란을 이식하였을 때 수태율이 좋았다고 보고한 Sreenan 등(1976), Tervit 등(1977) 및 Newcomb(1979)의 결과와 유사한 경향을 나타냈다.

따라서 자궁 내에서 황체가 있는 자궁각의 환경이 반대측보다 수정란이 발육하기 적합하기 때문에 황체가 존재하는 자궁각에 이식하는 것이 수태율 향상에 도움이 될 것으로 생각된다.

또한 황체상태 A, B 및 C등급을 각각 수란우에 이식한 결과, 73.6%, 62.9% 및 50.0%를 나타냈다. 이상의 결과는 석 등(1983)이 보고한 양질의 황체 형성이 이식 후 수태율을 증진시킨다는 연구 결과와 일치하는 경향을 나타냈으나, Niemann 등(1985)은 황체상태 A, B 및 C등급에서 각각 54.2, 42 및 60%의 수태율을 나타냈다고 보고하여 본 실험과는 상이한 결과를 나타냈다. 본 연구의 결과로 볼 때 황체가 뚜렷하게 형성되는 것은 progesterone 분비가 왕성하여 수태율을 향상시키는 것으

로 생각된다.

수란우의 자궁내 환경은 발정주기에 따라 자궁환경이 달라지기 때문에 수태율을 높이기 위해서는 공란우의 수정란 일령과 수란우의 자궁내 환경이 적합하게 발정이 동기화되어야 한다(Hafez 등, 1977).

본 연구에서는 공란우와 수란우의 발정이 일치하는 경우(0일) 이식 후 수태율이 72.6%로서, 공란우와 수란우의 발정이 일치할 경우 수태성적이 향상되는 것으로 나타났다. 이와 같은 결과는 Newcomb(1979)와 Sreenan 등(1979)이 수란우와 공란우의 발정동기화가 일치할수록 수태성적이 좋았다고 보고한 결과와 일치하는 경향을 보였으나, Putney 등(1988)이 보고한 수란우와 이식한 수정란 사이의 발정동기 -1일 때 가장 높은 수태율을 얻었다는 결과와는 상이한 결과를 보였다.

따라서 양호한 수태율을 얻기 위해서는 이식 받은 수정란과 수란우의 발정동기화는 필수적이라 생각된다.

수란우 선정은 건강, 수태성적, 크기, 성질 및 체형 등 수태율에 좌우하는 여러 여건 등을 고려하여 선정하여야 한다. 수정란이 착상 후 태아의 성장에 필요한 영양분을 모체로부터 공급되어지므로 영양상태가 나쁜 수란우는 태아의 성장과 임신유지를 최적의 상태로 유지할 수 없기 때문에 수정란 이식효율에 나쁜 영향을 미친다(Dunn, 1980).

Mapletoft 등(1986)은 신체충실지수가 3일 때 55%의 수태율과 2일 때 53%의 수태율을 나타내어 1과 4이상의 신체충실지수의 수태율보다 유의하게 높은 성적을 나타냈다고 보고하여, 본 실험의 결과와 유사한 성적을 나타냈다.

따라서 수란우를 선정할 때에는 너무 여위거나 과비된 소는 제외하는 것이 수태율 향상에 도움이 될 것이라 생각된다.

수란우의 산차에 따른 수태율에서 미경산우가 경산우보다 높은 것은 자궁의 상태가 양호하고 경산우에 비해 영양적인 스트레스를 적게 받기 때문인 것으로 알려져 있다.

그러나 본 실험의 결과 경산우 70.6% 및 미경산우 59.1%의 수태성적을 얻어, 경산우가 미경산우보다 수태율이 높은 것으로 나타났다. 이러한 성적

은 Broadbent 등(1991)이 보고한 경산우보다 미경산우가 수태율이 높았다고 보고한 결과와는 상반된 결과를 나타냈다.

소 수정란이식 후 조기 수정란사망은 수정란의 형태학적 저질의 수정란이식, 공란우와 수란우의 발정주기 불일치, 고온의 환경에서의 소 사육, 수란우의 황체기능 부족 등으로 많이 발생한다(Donaldson 등 1985; Nelson 등, 1982; Stubbings 등, 1986). 또한 수란우의 황체기능의 부족으로 인한 혈중 progesterone 농도 감소는 수정란이식 후 수태율을 떨어뜨리는 가장 중요한 원인이다. 따라서 황체의 발육을 촉진시켜 주고, 수태율을 증진시켜 주기 위해서 hCG를 투여하는 연구가 시도되고 있다.

본 실험에서는 수란우에 수정란을 이식하기 전에 hCG와 GnRH Hormone을 투여한 결과 Hormone처리구의 수태율이 69.9%으로서 무처리구의 수태율 63.0%보다 다소 높은 성적을 얻었다. 이상의 결과는 수정란 이식 전 hCG 1500 IU을 근육주사 한 경우 수태율이 51.7%로서 무처리구 34.5%보다 우수하였다는 Nishgai 등(2002)의 결과와 유사한 경향을 보였다.

본 실험에서는 수란우에 신선란과 동결란을 이식하여 각각 70.6%와 36.4%의 수태성적을 보여, Hasler 등(2003)이 보고한 동결란을 이식하여 42%의 수태율과 Wurth 등(1994)이 보고한 동결란 수태율 24%와 비슷한 수태율을 나타냈다. 이와 같은 성적을 얻은 것은 동결란이 동결융해과정에서 손상을 입어 수태율이 저하되고 또한 동결융해에 따른 수정란 세포의 감소로 신선란에 비하여 embryonic signal이 적어서 수태율이 떨어지는 것으로 생각된다.

최근 한우 암소의 급감으로 쌍태유기 방법으로 짧은 시간내 한우를 증식하고 송아지 생산비를 절감하고자 많은 연구가 진행되고 있으며, 특히 체형이 크고 유량이 많은 Holstein에 인위적으로 한우 쌍태를 유기하여도 무리가 없다고 생각된다.

본 실험의 인공수정 후 황체반대측에 체외수정란 1개를 추가 이식한 수태율은 90%로서 Lu와 Rolge(1991)가 보고한 수태율 75%와 Suzuki 등(1994)이 보고한 69.6%의 수태율보다는 높은 성적

을 얻었으나, 이식두수가 적어 본 실험의 결과만을 볼 때 단태 유기법과 쌍태 유기법의 수태 성적을 비교하기에는 다소 무리가 있는 것으로 생각된다.

적  요

본 연구는 1997년 IMF 이후 급격히 감소된 한우의 두수를 증가시키고, 최근 젖소 송아지 가격이 현저히 낮게 형성되고 있어 양축가의 사기가 떨어지고 있는데 가임 젖소 암소에 한우 수정란을 이식시켜 한우 송아지를 생산케 함으로서 농가 소득을 증대시키고 실시하였다.

1. 체외수정 후 6, 7, 8 및 9일째의 수정란을 이식하여 59.4%, 68.2%, 66.0% 및 100%의 수태율을 나타냈으며, 상실배기(20.0%) 수정란이 배반포기(61.1%~69.5%) 수정란보다 낮은 수태율을 나타내었다.
 2. 수란우의 영양상태는 과비가 되지 않고 약간 애원 듯한 체형을 선별하는 것이 좋은 것으로 나타났다.
 3. 황체가 형성된 자궁각에 수정란을 이식한 결과 수태율이 70.1%로서 황체가 형성된 반대편 자궁각에 이식한 수태율 62.5%보다 높은 성적을 나타냈다.
 4. 수란우에 수정란을 이식하기 전 hCG 1500 IU 와 GnRH 5 ml 투여한 결과 69.9%를 나타내어 무처리구 63.0%보다 다소 높은 성적을 나타내었다.
 5. 수란우와 공란우의 발정이 일치할 경우(0일) 이식 후 수태율이 72.6%로서 여타구보다 높은 성적을 나타내었다.
 6. 수란우 산자에 따른 수정란 이식 후 수태율은 미경산우가 59.1%로서 경산우 70.6%보다 낮게 나타났다.
 7. 수정란 상태에 따른 이식 후 신선란 및 동결란 수태율은 각각 70.6%와 36.4%를 나타내어 신선란이 높은 수태율을 나타내었다.
- 본 연구의 결과를 요약하면 체외 수정란은 체외 배양 7일에 생산된 배반포 및 확장배반포기 수정란을 공란우와 수란우의 발정을 정확히 동기화시키고, 수란우의 황체가 뚜렷하게 형성된 경산우를

이용하며, 이식 전 수란우에 Hormone을 처리하는 것이 수태율을 향상시키는 것으로 나타났다.

참고문헌

- Brackett BG and Oliphant G. 1975. Capacitation of rabbit spermatozoa *in vitro*. *Biol. Reprod.*, 12:260-274.
- Broadbent PJ, Stewart M and Dolman DE. 1991. Recipient management and embryo transfer. *Theriogenology*, 27:125-139.
- Dunn TG. 1980. Relationship of nutrition to successful embryo transplantation. *Theriogenology*, 13:27-39.
- Donaldson LE. 1985. Matching of embryo stage and grades with recipient oestrus synchrony in bovine embryo transfer. *Vet. Rec.*, 9:489-491.
- Ellington JE, Foote RH, Farrell PB, Hasler JF, Webb J, Henhderson WB and McGrath AB. 1991. Pregnancy rate after the use of a gonadotropin releasing hormone against in bovine embryo transfer recipients. *Theriogenology*, 36: 1035-1042.
- Hafez ES, Fadel HE, Noonan SM, Oshima M, Okamura H, Watson JH, Zaneveld LJ and Steger RW. 1977. Scanning electron microscopy of human female reproductive tract and amniotic fluid cells. *Int. J. Fertil.*, 22(4):193-205.
- Hasler JF. 2003. The current status and future of commercial embryo transfer in cattle. *Theriogenology*, 79:245-264.
- Looney CR, Oden AJ, Massey JM, Johnson CA and Godke RA. 1984. Pregnancy rates following hCG administration at the time of transfer in embryo-recipient cattle. *Theriogenology*, 21 (1):246.
- Looney CR, Roberts JW, Jones M, Day ML, Anderson JC, Hafs HD and Forrest DW. 1999. Synchrony and conception to insemination or embryo transfer in beef females treated with an

- intravaginal progesterone releasing device with or without an injection of estradiol. Theriogenology, 51:266(abstr.).
- Lu KH and Polge C. 1991. Pregnancy and twinning rates after transfer of IVF embryos to the bred recipient. Proc. 7th Con. European Embryo transfer Association(Cambridge), 164.
- Mapletoft RJ, Lindsell CE and Pawlyshyn V. 1986. Effects of clenbuterol, body condition and non-surgical embryo transfer equipment on pregnancy rates in bovine recipients. Theriogenology, 25:172.
- Nelson LD, Elsden RP and Seidel GE Jr. 1982. Effect of synchrony between estrus cycles of donors and recipients on pregnancy rates in cattle. Theriogenology, 17:101(abstr.).
- Newcomb R. 1979. Surgical and non-surgical transfer of bovine embryos. Vet. Rec., 105: 432-434.
- Niemann H, Tenhumserg H, Sacher B and Kruff B. 1985. Pregnancy rates after nonsurgical transfer of cattle embryos frozen and thawed by a field method. Anim. Breed., 53:206-207.
- Nishigai M, Kamomae H, Tanaka T and Kameda Y. 2002. Improvement of pregnancy rate in Japanese black cows by administration of hCG to recipients of transferred frozen-thawed embryos. Theriogenology, 58:1597-1606.
- Putney DJ, Thatcher WW and Drost M. 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.
- Rosenkrans CF and First NL. 1991. Culture of bovine zygotes to the blastocyst stage: Effect of amino acids and vitamins. Theriogenology, 35: 266(Abstr.).
- Remsen LG and Rousse JD. 1982. Pregnancy rates relating to plasma progesterone levels in recipient heifers at day of transfer. Theriology, 18:365-372.
- Saito N, Imai K and Tomizawa M. 1994. Effect of sugar-addition on the survival of vitrified bovine blastocysts produced *in vitro*. Theriogenology, 41:1053-1060.
- Sreenan JM and Beshan D. 1976. Embryonic survival and development at various stages of gestation after bilateral egg transfer in the cow. J. Reprod. Fert., 47:127-128.
- Sreenan JM and McDough T. 1979. Comparison of the embryos survival rate in heifers following artificial insemination, non-surgical blastocyst transfer or both. J. Reprod. Fert., 56:281-284.
- Stubbings RB and Walton JS. 1986. Relationship between plasma progesterone concentrations and pregnancy rates in cattle receiving either fresh or previously frozen embryos. Theriogenology, 26:145-155(abstr.).
- Suzuki T, Gerschi M, Yonai M and Sakaguchi M. 1994. Effects of method of embryo production and transfer on pregnancy rate, embryo survival rate, abortion and calf production in beef cows. Theriogenology, 41:309(Abstr.).
- Tervit HR, Havik DG and Smith JF. 1977. Egg transfer in cattle: pregnancy rate following transfer to the uterine horn ipsilateral or contralateral to the functional corpus luteum. Theriogenology, 7:3-10.
- Walton JS., Martineau NA and Stubbings RB. 1986. Pregnancy rates in Holstein embryo transfer recipient: Effect of treatment with progesterone or clenbuterol and of natural versus induced cycles. Theriogenology, 26: 837-845.
- Willett FL, Black WG, Casida LE, Stone WH and Buckner PJ. 1951. Successful transplantation of a fertilized bovine ovum. Science, 113, 247.
- Wilmut I and Rowson LE. 1973. Experiments on the low-temperature preservation of cow embryos. Vet. Rec., 92(26):686-90.
- Wright JM. 1985. Commercial freezing of bovine

- embryos in straw. Theriogenology, 23:17-29.
- Wurth YA, Reinders JMC, Rall WF and Kruip TH. AM. 1994. Developmental potential of *in vitro* produced bovine embryos following cryopreservation and single-embryo transfer. Theriogenology, 42:1275-1284.
- 남상현, 양부근, 성홍용, 고광두, 김정익. 1985. 우 수정란의 동결보존에 관한 연구. 한국가축연구회보, 9(1):31-35.
- 석호봉, 이광원, 신용식, 김호승, 조윤형, 지석하, 오대균, 임경순, 알피엘스텐. 1983. 소의 동결 수정란이 수태에 미치는 영향. 한국축산학회지, 25(4):369-374.

- 석호봉, 이광원, 오성종, 손동수, 윤충근, 김호중, 조윤연, 오대균, 지설하, 임경순, 지디마흔. 1984. 소의 동결 수정란이 수태에 미치는 영향. 한국축산학회지, 26:429-434.
- 오성종, 양보석, 김희석, 이근상, 김강식, 스피어스. 아우리. 1986. 소 발정 동기화 및 동결 수정란 이식에 관한 연구. 한국축산학회지, 28:468- 473.
- 정길생, 이훈택, 박흠대, 정병현, 유승환, 1983. 수정란 이식에 의한 우의 쌍태유기에 관한 연구. 한국축산학회지, 25:408-412.

(접수일: 2004. 2. 2/ 채택일: 2004. 4. 10)