

Original Article

후대의 육질등급이 우수한 한우 암소의 수정란 생산 및 이식에 관한 연구

이해이¹, 박재희², 김용수¹, 김종국^{2,*}

¹전라북도동물위생시험소 축산시험장, ²전북대학교 동물자원과학과

The Studies on Embryo Production from Hanwoo Cows with High Offspring Meat Quality Grade and Embryo Transfer

Hae-Lee Lee¹, Jae-Hee Park², Yong-Su Kim¹ and Jong-Gug Kim^{2,*}

¹Livestock Experiment Station, Jeollabuk-do Institute of Livestock and Veterinary Research, Jinan 55460, Korea

²Department of Animal Sciences, College of Agriculture & Life Science, Chonbuk National University, Jeonju 54896, Korea

Received February 21, 2019

Revised March 5, 2019

Accepted March 18, 2019

*Correspondence

Jong-Gug Kim

Department of Animal Sciences, College of Agriculture & Life Science, Chonbuk National University, 567 Baekje-daero, Deokjin-gu, Jeonju 54896, Korea

Tel: +82-63-270-2509

Fax: +82-63-270-2612

E-mail: jonggugkim@jbnu.ac.kr

ORCID

<https://orcid.org/0000-0002-3287-6838>

ABSTRACT These studies were conducted to evaluate developmental competence of follicular oocyte collected from the ovaries of Hanwoo cows with the high offspring meat quality (1++ and 1+ grade). Cumulus oocyte complexes from individual cows were matured, fertilized and cultured using protocols of *in-vitro* maturation (IVM), *in-vitro* fertilization (IVF) and *in-vitro* culture (IVC). The rates of blastocyst development from Hanwoo cows with the offspring meat quality grades of 1++ and 1+ were 18.6 and 21.2%, respectively. The rates of blastocyst development were 26.3, 20.7, 20.7, 17.2 and 31.2% from Hanwoo cows with the meat quality grades of 1++, 1+, 1, 2 and 3, respectively. Fiftyseven transferable embryos were recovered from 11 Hanwoo donor cows (5.2/head) with the high offspring meat quality grades of 1++ and 1+ *in vivo*, and the pregnancy rate after embryo transfer was 61.1%. In conclusion, these results suggest that *in vitro* embryo production from the ovaries of cows with the high meat quality grades using individual culture system can be used an efficient method for livestock improvement. In addition, for the successful industrialization of embryo transfer, conception rate should be improved.

Keywords: blastocyst, cumulus oocyte complexes, individual protocol, meat quality, transferable embryos

서 론

FTA 확대 등 축산물 시장 개방 압력이 점차적으로 증가함에 따

라 국내에서 생산되는 축산물의 가격은 경쟁력이 약화되고, 소비자는 양 보다는 품질에 대한 기호가 높아져서, 한우를 사육하는 농가는 우량 송아지 생산을 통하여 우수한 종자를 확보하고 경제

성이 높은 고급육을 생산하고자 한다. 국내에서 생산되는 쇠고기는 육량과 육질 등급으로 구분하여 축산물품질평가원에서 판정한다. 특히 육질 등급은 배최장근 단면적에 분포된 지방의 상태에 따라 1++, 1+, 1, 2, 3등급으로 판정하며, 이는 고급육의 품질 기준이다. 현재까지 한우의 개량은 수소의 정액을 이용하는 인공수정 방법을 중심으로 진행 되었으나, 이 방법은 아버의 유전능력만을 자손에게 전달하므로 개량의 한계가 있고(황 등, 2004), 최근 개량속도가 둔화되고 있는 실정이므로, 개량을 가속화하기 위해서는 암소의 유전 형질도 효율적으로 활용하는 방법이 필요하다. 즉 고급육 생산을 위한 암소 축군의 조성을 위해서는 고능력 한우 중모우의 정액을 이용하여 인공수정을 실시하는 것과 우수한 수정란을 이식하여 암·수를 동시에 개량하는 체계가 필요하다. 김 등(2015)은 한우의 경쟁력 제고를 위해서는 육량이나 육질과 같은 경제적 형질이 우수한 개체를 선발하고 관리하는 측면과 이러한 개체를 계획 교배를 통해 유전적으로 개량하는 등 다양한 관점에서의 연구가 필요하다고 지적하였다. 가축개량의 효율을 증대할 수 있는 수정란이식은 체내 또는 체외에서 생산된 수정란을 수란우에 이식하여 착상, 임신, 분만케 하는 생명공학 기술이다. 체내수정란을 생산하기 위하여 유전적으로 우량한 암소에 호르몬을 처리하여 과배란을 유도한 후 인공수정 7일째에 양 자궁각에서 수정란을 회수하여 이용하고(Andrade, 2003; Ax 등, 2005; 김 등, 2006; 정 등, 2012), 체외수정란 생산을 위해서는 도축하는 암소의 난소에서 난자를 채취한 후 체외에서 성숙시켜 체외수정 후, 7-9일간 배양하여 발달하는 수정란을 이용한다(Hasler, 2000; Ward 등, 2002; 황 등 2004; 최 등, 2008; 김 등, 2015). 도축장 유래 체외수정란은 개체정보를 확인하지 않고 난소를 채취하여, 수정란 생산에 이용함으로써 유전형질을 알 수 없는 단점이 있었다. 그러나, 최근에는 도축 암소의 개체 정보를 확인한 후 개체별로 난소에서 난자를 채취하는 개체배양 기법(설 등, 2006)을 활용함으로써, 우수한 유전형질을 가진 개체를 체외수정란 생산에도 이용함에 따라 가축개량의 효율성을 높일 수 있을 것으로 사료된다. 도축암소의 개체정보는 한국중축개량협회와 축산물품질평가원으로부터 개체유전능력, 당·후대 도체성적, 후대 및 형매정보 등을 확인할 수 있으며, 공란우의 능력을 가장 정확하게 판단할 수 있는 지표 중의 하나는 후대의 도체성적이다.

본 연구에서는 첫째, 경제적 가치가 높은 후대의 육질이 1+등급 이상인 우량 암소를 도축할 때, 개체별로 난소에서 난포란을 채취하고, 체외성숙 및 체외수정, 체외배양 후 배반포 발달율을 확인하였으며, 도축하는 우량 암소 당대의 육질에 따라서도 배반포 발달율을 분석하였다. 두 번째는 전라북도 축산시험장 또는 농가가 보유하고 있는 암소 중에서 후대의 육질이 1+등급 이상인 공란우를 선발하여 과배란처리 후 인공수정을 실시하고, 7일째에 자궁각에서 수정란을 회수하여 이식 가능한 수정란의 수를 조사함으로써 후대의 육질등급이 수정란 생산에 미치는 영향을 연구하였다.

재료 및 방법

체외수정란 생산

한우 개체별 난소 채취

전라북도 내의 A도축장과 B도축장에서 도축되는 한우 암소를 대상으로 한국중축개량협회의 개체정보조회를 이용한 등록 상태와 축산물품질평가원의 당·후대도체성적을 확인하였으며, 부모 이상의 계대가 혈통으로 확인된 개체의 난소를 채취하였고, 후대도체성적이 1+등급이상인 우량 개체를 실험에 공시하였다. 체외수정란 생산을 위해서 30회 반복실험을 실시하였다. 난소는 개체별로 구분한 후 항생제(Penicillin G 100 IU/mL + streptomycin 100 µg/mL, Sigma)가 첨가된 멸균 생리식염수에 침지하여 3시간 이내에 실험실로 운반하였으며, 난포란 채취를 위하여 멸균 생리식염수로 세척하였다.

난포란의 체외성숙

난자의 채취는 18 gauge 주사침이 장착된 주사기에 5% fetal bovine serum (FBS, Gibco)이 첨가된 Dulbecco's phosphate buffer saline (D-PBS, Gibco)을 흡입하여 난소 실질내로 주사침을 넣은 후 7 mm 이하 크기의 난포에서 난포액을 흡입하여 실험현미경(Leica, Germany)하에서 난포란을 채취하였다. 채취한 난포란을 10% FBS가 첨가된 Tissue culture medium (TCM) 199 배양액(Gibco)으로 2-3회 세정한 후, follicle stimulating hormone (FSH, Sigma) 0.5 µg/mL, luteinizing hormone (LH, Sigma) 0.5 µg/mL, β-estradiol (Sigma) 1 µg/mL이 첨가된 TCM 199 배양액 100 µL drop에 난자를 15-20개씩 넣어, 38.5°C와 5% CO₂ 조건의 배양기(Forma, USA)에서 20-22시간 동안 배양하여 체외성숙을 유도하였다.

체외수정

한우 동결정액을 38°C의 온수에서 20초간 용해한 후 용해된 정액에 Brackett & Oliphant's solution (BO액)을 첨가하고 1,000 rpm에서 5분간 원심분리하여 상층액을 제거하였다. 상층액을 제거한 정액 pellet에 BO액을 혼합하여 2차 원심분리를 하였으며, 상층액을 제거하고, 최종 정자 농도가 5×10^6 /mL가 되도록 IVF100 배양액(IFP, Japan)을 첨가하여 희석하였다. 22시간 체외 배양한 난자를 IVF100 배양액으로 2-3회 세정한 후, 각각의 정자 drop에 넣어, 38.5°C와 5% CO₂ 조건의 배양기에서 5-6 시간 동안 체외수정을 실시하였다. 체외수정을 위한 정자처리에 사용한 IVF100 배양액(IFP, Japan)은 BO액의 성분을 일부 변경한 배양액으로서 25 mM sodium pyruvate, 0.5 mM cysteine, 5 mg/mL bovine serum albumin (BSA), 5 mM caffeine, 7.5 mg/mL heparin을 포함한다.

난자/수정란의 체외배양

체외수정 후 난자들을 체외배양액인 10% FBS가 첨가된 TCM

199으로 3-4회 세정하고 체외배양액 100 μ L drop에 난자를 20-30개씩 넣어 배반포 발달을 향상시키기 위하여 난포란 배양시 난자에서 유래한 난구세포와 공배양하였으며, 38.5°C 와 5% CO₂ 조건의 배양기에서 7-9일간 배양하였다. 수정 후 2일째에 분할율과 수정 후 7-9일째에 생산된 배반포율을 확인하였으며 48 시간마다 체외배양액을 교체하였다.

체내수정란 생산

공란우 공시

전라북도동물위생시험소 축산시험장에서 사육중인 한우 암소 2두와 전라북도 C지역 농가 보유의 한우 암소 9두를 체내수정란 생산에 공시하였으며, 공란우는 축산물품질평가원에서 후대의 도체성적을 확인하여 육질등급이 1+등급이상인 개체를 선발하였다.

공란우 과배란처리 및 수정란 회수

공란우의 과배란을 유도하기 위하여 발정 발현과 관계없이 progesterone releasing intravaginal device인 controlled internal drug release (CIDR, 한국화이자동물약품)를 질내에 삽입하고 4일째부터 follicle stimulating hormone (FSH)인 Antorin R-10 (Kawasaki mitaka K.K, Japan) 28AU를 감량법으로 4일간 12시간 간격으로 근육 주사하였다. FSH 투여 5회와 6회째에 PGF₂ α (한국조에티스)를 근육에 주사하였고 6회째에 CIDR을 제거하고 CIDR 삽입 8일과 9일째에 3회에 걸쳐 인공수정을 실시하였다. 인공수정 7일째에 2-way (또는 3-way) 카테타를 이용하여 비외과적인 방법으로 양 자궁각에서 수정란을 회수하였다. 체내수정란 생산을 위해서 5회 반복실험을 실시하였다.

수정란 이식

수란우는 자연 발정우로서 발정 7-8일째에 신선 체내수정란 30개를 16두에 이식하였고, 동결 체내수정란은 4개를 용해한 후 2두에 이식하였다. 수정란 이식은 7회 반복실험으로 실시하였다. 임신여부는 수정란이식 90일경에 직장검사법으로 판단하였다.

통계분석

본 실험에서 통계분석은 SPSS 23.0을 이용하였고, 분석방법은 독립 표본 t-검정(independent t-test) 및 일원배치 분산분석(one-way ANOVA)을 실시하였으며, 체외수정 후 분할율과 배반포 발달율의 비교와, 신선 수정란과 동결 수정란의 이식에 따른

수태율에 대한 유의성 검정을 위해 카이제곱 검정(Chi-squared test)을 실시하였다.

결 과

도축 한우 암소의 등록 현황

공시된 도축한우 암소의 혈통등록 현황은 전라북도 내의 A도축장과 B도축장에서 도축되는 한우를 대상으로 하였으며, 한국종축개량협회의 개체정보조회를 이용하여 등록 상태를 확인하여, 등록이 되지 않은 무등록과 기초등록, 혈통등록, 고등등록으로 구분하였다(Table 1). 2개소의 도축장에서 공시된 한우 암소는 1,587두이었으며, 한국종축개량협회에 혈통등록이 된 개체는 1,512두(95.3%)이었고, 등록되지 않은 개체는 75두(4.7%)이었다. 등록된 개체 1,512두 중에서 기초등록은 460두(30.4%)이었고, 혈통등록은 985두(65.1%), 고등등록은 67두(4.4%)이었다.

이 중에서 공란우(체외수정 수정란 생산)의 자격 기준에 부합되는 부모 이상의 계대가 확인된 암소의 비율은 42.7% (678/1587두) 이었다. 계대가 확인된 암소들 중에서 송아지를 생산한 비율은 60.2% (408/678두) 이며, 추가로 후대의 도체성적도 확인된 비율은 11.4% (77/678두) 이었다. 당대의 체형 및 심사성적이 확인된 암소의 비율은 6.6% (45/678두) 이었다.

도축 한우 암소의 후대와 당대의 육질등급에 따른 체외수정 및 배반포 발달

도축 한우 암소 후대의 육질 등급이 1+등급 이상인 개체 38두에서 난포란을 채취하여 TCM 199 (10% FBS, FSH, LH, β -estradiol 포함)배양액으로 체외성숙을 시킨 후, 한우 동결정액을 IVF100 배양액으로 정자수가 5×10^6 /mL가 되도록 조절하여, 5-6시간 동안 체외수정 하였다. 체외수정 후 난자들을 체외배양액인 TCM 199 (10% FBS)에서 난구세포와 공배양 하였으며, 38.5°C 와 5% CO₂ 조건에서 7-9일간 배양하였다. 수정 후 2일째에 분할율과 수정 후 7-9일째에 배반포율을 확인하였다.

도축 한우 암소 후대의 육질 등급에 따라서 난자의 수, 두당 난자의 수, 체외수정 후 분할율, 배반포 발달율을 비교하였다(Table 2). 후대의 육질 등급이 1++등급인 도축 한우 암소 5두에서 총 220개의 난포란을 채취하였으며, 1+등급인 33두에서 총 1,080개의 난포란을 채취하였다. 도축 한우 암소 후대의 육질 등급에 따른 두당 난포란 수는 1++등급인 경우 44.0개 였고, 1+등급인

Table 1. Registration status of slaughtered Hanwoo cow

Slaughter house	No. of slaughtered Hanwoo cow	No. of Registered			No. of Unregistered (%)
		Total (%)	Basic	Pedigree	
A	1,075	1,030 (95.8)	310	677	43 (4.2)
B	512	482 (94.1)	150	308	24 (5.9)
Total	1,587	1,512 (95.3)	460	985	67 (4.7)

Table 2. *In vitro* fertilization and blastocyst development rate from Hanwoo cows according to offspring meat quality grade

Meat quality grade	No. of cows	No. of oocyte	No. of oocyte/head	No. of cleaved oocyte(%)	No. of blastocyst(%)
1++	5	220	44.0	141 (64.1)	41 (18.6)
1+	33	1,080	32.7	652 (60.4)	229 (21.2)
Total	38	1,300	34.2	793 (61.0)	270 (20.8)
t/χ^2			-0.997	1.063	0.732
p			0.325	0.302	0.392

*p < 0.05.

Table 3. *In vitro* fertilization and blastocyst development rate of oocyte from Hanwoo cows according to meat quality grade

Meat quality grade	No. of cows	No. of oocyte	No. of oocyte/head	No. of cleaved oocyte (%)	No. of blastocyst (%)
1++	2	80	40.0	46 (57.5)	21 (26.3)
1+	6	188	31.3	125 (66.5)	39 (20.7)
1	14	561	40.1	321 (57.2)	116 (20.7)
2	13	378	29.1	245 (64.8)	65 (17.2)
3	3	93	31.0	56 (60.2)	29 (31.2)
Total	38	1,300	34.2	793 (61.0)	270 (20.8)
t/χ^2			0.409	8.500	10.525*
p			0.800	0.075	0.032

*p < 0.05, **p < 0.01.

Table 4. Recovery rate of *in vivo* embryos from Hanwoo donor cows

No. of donor	No. of recovered embryos	No. of recovered embryos/head	No. of transferable embryos	No. of transferable embryos/head
11	116	10.5	57	5.2

경우 32.7개로, 유의수준 5%하에서 통계적으로 유의한 차이가 없었다(p = 0.325). 체외수정 후 분할된 난자의 수는 도축 한우 암소 후대의 육질 등급이 1++등급인 경우 141개(64.1%)였고, 1+등급인 경우 652개(60.4%), 유의수준 5%하에서 도축 한우 암소 후대의 육질 등급에 따라 분할율은 유의한 차이가 없었다(p = 0.302). 또한 7-9일째에 배반포로 발달한 수정란은 도축 한우 암소 후대의 육질 등급이 1++등급인 경우 41개(18.6%)였고, 1+등급인 경우 229개(21.2%)로, 도축 한우 암소 후대의 육질 등급에 따라 배반포 발달율은 통계적으로 유의한 차이가 없었다(p = 0.392).

위 Table 2에서 도축 한우 암소 후대의 육질 등급에 따라 분석한 분할율과 배반포 발달율의 결과를 도축 한우 암소 당대의 육질 등급을 총 5개의 범주인 1++등급, 1+등급, 1등급, 2등급, 3등급으로 구분하여 난자의 수, 두당 난자의 수, 체외수정 후 분할율, 배반포 발달율을 추가로 분석하였다(Table 3). 두당 회수된 난포란의 수는 1++등급인 경우 40.0개, 1+등급인 경우 31.3개, 1등급인 경우 40.1개, 2등급인 경우 29.1개, 3등급인 경우 31.0개였으며, 유의수준 5%하에서 도축 한우 암소 당대의 육질 등급에 따른 두당 난포란 수는 통계적으로 유의한 차이가 없었다(p = 0.800). 체외수정 후 분할된 난자의 수는 도축 한우 암소 당

대의 육질 등급이 1++등급인 경우 46개(57.5%), 1+등급인 경우 125개(66.5%), 1등급인 경우 321개(57.2%), 2등급인 경우 245개(64.8%), 3등급인 경우 56개(60.2%)였고, 이는 통계적으로 유의한 차이가 없었다(p = 0.075). 반면 7-9일째에 배반포로 발달한 수정란은 도축 한우 암소 당대의 육질 등급이 1++등급인 경우 21개(26.3%), 1+등급인 경우 39개(20.7%), 1등급인 경우 116개(20.7%), 2등급인 경우 65개(17.2%), 3등급인 경우 29개(31.2%)였으며, 유의수준 5%하에서 유의한 차이가 있었다(p = 0.032). 따라서 도축 한우 암소 당대의 육질 등급이 1++등급, 3등급인 경우가 그 이외의 등급에 비해 상대적으로 배반포 발달율이 높았다.

체내수정란 회수 및 수정란이식 후 수태율

후대의 육질 등급이 1+등급 이상인 공란우 11두를 과배란 처리하고 인공수정을 실시한 후, 7일째에 2-way (또는 3-way)카테타를 이용하여 자궁각을 관류하여 수정란을 회수하였다(Table 4). 공란우 11두에서 116개의 수정란을 회수하였으며, 두당 회수한 수정란 수는 10.5개 이었고, 이식가능한 수정란 수는 57개로서 두당 이식가능한 수정란 수는 5.2개 이었다.

축산 농가의 수란우 총 18두를 대상으로 신선 수정란 30개를 16두에 이식하였고, 융해한 동결 수정란 4개를 2두에 이식하였

Table 5. Pregnancy rate after transfer of Hanwoo embryos produced *in vivo*

	Embryos	No. of recipients	No. of pregnancy (%)
Fresh	30	16	11 (68.8)
Frozen	4	2	0 (0.0)
Total	34	18	11 (61.1)

다. 그 결과 수태율은 신선 수정란의 경우 68.8% 이었으나, 동결 수정란의 경우 임신이 되지 않았으며(0.0%) (Table 5), 이는 유의 수준 5%하에서 통계적으로 유의한 차이가 없었다($p = 0.137$).

고 찰

국내에서는 현재까지 씨수소 중심의 한우 개량 체계를 바탕으로 한우의 육량 등 생산성을 향상 시켰으나, 최근 한우 개량 속도의 둔화 추세로 인해 생산성 향상의 한계를 드러냄에 따라 가축을 효율적으로 개량하기 위한 다방면의 육질 향상 연구도 진행하고 있다. 정 등(2010)은 육질등급이 1++ 와 1+ 인 도축 암소의 난소를 이용하여 수정란을 생산하고 수정란이식으로 태어난 수송아지를 거세하여 키웠을 때, 육질 등급이 1+등급 이상이 90%로, 암소의 유전능력이 고급육 생산에 영향을 준다고 보고하였다. 이와 같은 보고들을 바탕으로 본 연구는 육질등급 1+이상인 암소의 당대/후대의 육질 등급을 포함한 우수 유전형질이 체내 및 체외수정란을 생산할 때 채취된 난자수와 배반포 발달율에 어떤 영향을 미치는지를 확인하기 위하여 수행하였다.

전라북도내 2개소에서 도축된 한우 암소 1,587두 중에 등록된 개체는 1,512두(95.3%)이었으며, 그 중 기초등록은 460두(30.4%), 혈통등록은 985두(65.1%), 고등등록은 67두(4.4%)이었다. 도축된 암소 중에서 공란우(체외수정 수정란 생산)의 자격 기준이 되는 부모 이상의 계대가 혈통으로 확인된 개체는 678두(42.7%)이었고, 그 중에서 태어난 송아지의 능력을 판단할 수 있는 후대 정보를 가진 암소는 408두이었으며, 도축 당시 후대의 육질 등급도 확인할 수 있었던 개체는 77두 이었는데, 당대의 체형 및 심사성적이 확인된 개체는 45두 이었다. 도축된 암소의 난소에서 채취 가능한 마리당 난포란 수를 Mermillod 등(1992)은 평균 14.1개로 보고하였고, 김 등(2015)은 공란우 육질등급을 1++, 1+, 1, 2, 3등급으로 구분하여 1++ 와 1+등급에서 채취한 난포란 수가 1, 2, 3등급보다 유의적으로 많았다고 보고하였으며, 평균 17.6개의 난포란을 채취하였다. 본 연구에서는 평균 난포란 수가 34.2개로서 김 등(2015)보다 높았으며, 육질 등급에 따른 두당 난포란 수는 통계적으로 유의한 차이가 없었으나, 1++과 1 등급의 암소에서 난포란 수가 가장 많고 2등급의 암소에서 적은 경향이 있었다. 이 결과는 김 등(2015)과 유사한 면이 있었다. 또한 설 등(2006)은 기초등록우에서 평균 24.7개, 혈통등록우에서는 평균 26.7개의 난포란을 채취하였고, 육질등급을 1++, 1+, 1로 구분하여 채취한 난포란 수는 서로 비슷했다.

설 등(2006)은 체외에서 성숙시킨 난포란을 체외수정 후 배반포 발달율이 29.8%이었으며, 공란우의 육질 등급이 좋을수록 배반포 발달율이 더 높다고 보고하였다. 그러나, 김 등(2015)은 배반포 발달율이 15.9%이고, 공란우의 육질 등급이 좋을수록 배반포 발달율이 더 낮아서, 설 등(2006)과 반대의 경향을 보였다. 본 연구에서 20.8%의 배반포 발달율은 김 등(2015)보다는 높았으나, 설 등(2006)보다는 낮았고, 육질등급이 높은 1++ 와 육질 등급이 낮은 3등급의 암소에서 평균 배반포 발달율이 높아 위의 보고들과 경향이 달랐다. 이와 같이 육질 등급에 따른 두당 난포란 수와 배반포 발달율의 결과들은 체지방이 번식에 미치는 영향에 대한 추가적인 연구의 필요성을 제기한다. 본 연구는 도축 한우 암소의 능력을 판단하는 기준으로 도축 한우 암소 후대의 육질등급을 조사하였고, 육질등급이 1+등급 이상인 개체를 우량 암소로 규정하여 체외수정란을 생산하였다. 분할율은 1+등급과 1++등급에서 각각 60.4%, 64.1%이었고 배반포 발달율은 각각 21.2%, 18.6%로 서로 비슷한 성적을 나타내었다. 한편 박 등(2000)은 도축한 암소에서 채취한 난포란과 초음파 유래, 즉 ovum pick-up (OPU) 기법에 의한 난포란의 분할율과 배반포 발달율이 비슷한 성적을 보였고, 배반포로의 발달율은 10%정도라고 보고하였다. OPU 기법에 의한 수정란 생산은 생체에서 반복적으로 채취할 수 있다는 장점이 있지만, 1회 회수할 수 있는 난포란 수가 아직까지는 제한적이고 배반포 발달율도 도축한 암소에서 채취한 난포란을 이용한 수정란의 생산에 미치지 못하여, OPU에 기법에 의한 공란우 당 채취 가능한 난포란의 수를 증가시키며, 채취된 난포란의 배반포 발달율을 향상 시키는 체외 배양기술이 필요하다. 이런 점에서 볼 때 육질등급이 고려된 우수 도축 암소의 유전자원을 이용하여 체외수정란을 생산하는 것이 가축개량의 측면에서 효율적이며 긍정적인 것으로 사료된다.

공란우에서 다수의 체내수정란을 안정적으로 생산할 수 있는 효율성을 높이기 위하여 성선자극호르몬의 농도 및 투여 방법, 체란 반복 횟수, 사양관리, 연령, 품종, 산차, 계절 요인 등의 연구가 진행되어 왔다(Barros 등, 2003; 최 등, 2005; Bader 등, 2005; 김 등, 2006; 송 등, 2012; 정 등, 2012). 본 연구는 기존의 연구 결과를 바탕으로 발정주기와 관계없이 공란우의 질내 CIDR 삽입, FSH 28AU 감량 투여, 그리고 4일간 12시간 간격의 근육주사 등을 진행하여, 보다 많은 체내수정란의 생산과 효율성을 높이는 방법으로 수행되었다. 공란우 후대의 육질 등급이 1+등급 이상인 한우 11두를 선발하여 체내수정란을 회수한 결과, 116개의 수정란이 회수되어 공란우 두당 회수란 수는 10.5개이었으며, 이식 가능한 수정란 수는 57개로서 공란우 두당 이식가능한 수정란 수는 5.2개이었다. 이 결과는 같은 호르몬 처리 방법으로 수행된 김 등(2006)의 한우와 제주 흑우에서 이식가능한 수정란이 각각 5.0개와 3.5개씩 회수된 결과와 정 등(2012)이 BCS에 따라 4.6-5.7개의 수정란을 회수한 결과와, 그리고 송 등(2012)은 5.5개의 수정란을 회수한 결과와 유사하다고 판단된다. 한편 손 등(2006)이 3.9개의 이식가능 수정란을 회수한 결과 보다는 약간 높은 수치였

다. 이와 같이 본 연구와 같은 방법으로 수행 하였으나, 결과가 다른 것은 공란우의 사양관리, 호르몬의 투여량과 투여방법 등이 영향을 미친 것으로 사료된다. 임 등(2000)은 CIDR 등 progesterone 제제를 사용하지 않고 황체에 성선자극호르몬을 투여하여 이식가능 수정란을 4.2개 회수하였다고 보고함으로써, progesterone 제제를 활용하지 않고도 이식가능한 수정란의 생산이 가능함을 보여주었다. 김 등(2002)은 한우 체내수정란 이식할 때 수태율에 영향을 미치는 요인으로 수란우의 황체등급과 동기화 정도, 수정란의 발육단계, 등급, 동결여부 등을 들 수 있으며, 이에 따라 수태율이 평균 40.2-45.7%라고 보고하였다. 손 등(2006)은 한우 신선 수정란의 수태율이 43.9% 이었고, 염 등(2013)은 신체 충실지수(BCS) 2.5이하, 2.5-3.0, 3.5이상으로 구분하여 수태율이 11.76%, 40.79%, 11.11%로 평균 33.33% 라고 하였다. 김 등(2006)의 제주 한우(39.7%)와 흑우(43.6%) 품종간의 수태율 차이가 없었다고 보고하였고, Stroud와 Hasler (2006)는 수태율을 66.2%로 보고하여 본 연구 결과인 수태율 61.1%와 유사한 성적이었다. 본 연구에서 신선 수정란과 동결수정란을 이식했을 때 수태율이 크게 달랐으나 통계적으로 유의한 차이가 없었던 것은 제한된 동결수정란의 개수(4개)와 대리모의 두수(2두)로 인한 결과 해석의 한계를 내포하고 있어서 추가 연구가 필요하다.

현재 농가마다 수란우에 수정란을 이식한 후 수태되는 비율은 다양하게 나타나고 있으며, 이는 농가별 사양관리와 사육 환경이 다르고, 위에서 언급한 요인 외에도 수정란의 질, 이식기술자의 기술 숙련도, 계절, 산차, 이식부위, 영양상태 등이 작용하는 것으로 보인다. 따라서 수정란이식의 산업화를 위해서는 수태율을 높일 수 있는 사양관리 및 수정란이식 기술에 대한 표준화와 동결수정란의 상용화가 필요할 것으로 사료된다.

결 론

본 연구는 육질등급이 1+이상인 암소에서 당대/후대의 육질 등 우수한 유전형질이 체내 및 체외 수정란을 생산할 때 채취된 난자수와 배반포 발달율에 어떤 영향을 주는지 판정하기 위하여 수행되었으며, 우수 암소에서 생산된 수정란의 이식을 통한 수태율을 조사함으로써 경제성이 높은 고급육 생산이 가능한지 확인하고자 수행되었다.

1. 도축 한우 암소의 등록 현황은 2개소 도축장에서 총 1587두였으며, 공란우(체외수정 수정란 생산)의 자격기준에 부합되는 부모 이상의 계대가 확인된 개체는 678/1587두(42.7%)로, 이 중에서 후대의 도체성적이 확인된 개체는 77/678두(11.4%)이며, 당대의 체형 및 심사성적 확인된 개체는 45두/678두(6.6%)이었다.

2. 도축 한우 암소 후대의 육질 등급에 따른 두당 난포란 수는 1++등급은 44.0개 였고, 1+등급은 32.7개로 두 그룹간의 유의수준 5%하에서 유의성 있는 차이는 없었다($p = 0.325$). 체외수정 후 분할율은 도축 한우 암소 후대의 육질이 1++등급인 경우 64.1% (141/220)였고, 1+등급은 60.4% (652/1080)로 유의수

준 5%하에서 유의성 있는 차이는 없었다($p = 0.302$). 또한 7-9일째 배반포 발달율은 육질이 1++등급인 경우 18.6% (41/220)였고, 1+등급은 21.2% (229/1080)로, 유의성 있는 차이가 없었다($p = 0.392$).

3. 도축 한우 암소 후대의 육질 등급이 1+등급 이상인 개체를 대상으로 얻어진 체외수정의 결과를, 도축 한우 암소 당대의 육질 등급을 총 5개의 범주인 1++등급, 1+등급, 1등급, 2등급, 3등급으로 구분하여 추가로 분석하였다. 두당 평균 난포란 수는 유의한 차이가 없었으며($p = 0.800$), 체외수정 후 분할율도 유의한 차이가 없었다($p = 0.075$). 반면 7-9일째에 배반포로 발달한 수정란은 도축 한우 암소 당대의 육질 등급에 따라 1++등급은 21개 (26.3%), 1+등급은 39개(20.7%), 1등급은 116개(20.7%), 2등급은 65개(17.2%), 3등급은 29개(31.2%)로 이는 유의수준 5%하에서 유의한 차이가 있었다($p = 0.032$).

4. 후대 육질 등급이 1+등급 이상인 공란우 11두에서 회수한 이식 가능한 수정란의 수는 57개였고, 두당 이식가능한 수정란 수는 5.2개였다. 신선 수정란과 동결 수정란을 수란우 총 18두에 이식하였는데, 신선 수정란은 수태율이 68.8% (11/16)였고, 동결 수정란은 2두에 이식하였으나 임신이 되지 않았으며(0.0%), 이는 유의성 있는 차이가 없었다($p = 0.137$).

본 연구의 결과는 제한된 공시두수로 도축 한우 암소 당대 육질 등급에 배반포 발달율에서만 유의성이 있었다. 추가적으로 육질 등급 1++ 와 1+ 이상의 우량 암소에서 더 많은 체내와 체외수정란을 생산하고 농가들이 이들을 수정란이식에 이용하면, 가축개량의 효율성을 증가시키고 더 나아가 농가의 고급육 생산을 증가시켜 소득증대에 도움이 될 것으로 사료된다.

CONFLICTS OF INTEREST

No potential conflict of interest relevant to this article was reported.

REFERENCES

- Andrade JC, Oliveira, Lima PF, Guido SI, Bartolomeu CC, Tenorio Filho F, Pina VM, Iunes-Souza TC, Paula NR, Freitas JC. 2003. The use of steroid hormones in superovulation of nelore donors at different stages of estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.*, 77:117-125.
- Ax RL, Armbrust S, Tappan R, Gilbert G, Oyarzo JN, Bellin ME, Selner D, McCauley TC. 2005. Superovulation and recovery from peripubertal Holstein heifer. *Anim. Reprod. Sci.*, 85:71-80.
- Bader JE, Kojima FN, Wehrman ME, Lidsey BR, Kerley MS, Patterson DJ. 2005. Effects of prepartum lipid supplementation on FSH superstimulation and transferable embryo recovery in multiparous beef cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 85:61-70.
- Barros CM, Porto LPC, Noqueira MFG. 2003. Dose-response

- trial in *Bos.taurus* vs. *Bos indicus* cows superstimulated with FSH, associated with controlled LH surge and fixed-time artificial insemination. *Theriogenology*, 28:531-540.
- Hasler JF. 2000. In vitro culture of bovine embryos in Menzo's B2 medium with or without co-culture and serum : the normalcy of pregnancies and calves resulting from transferred embryos. *Anim. Reprod. Sci.*, 60:81-91.
- Mermillod P, Wils C, Massip A, Dessy F. 1992. Collection of oocytes and production of blastocysts in vitro from individual, slaughtered cows. *J. Reprod. Fert.*, 96:717-723.
- Stroud B, Hasler JF. 2006. Dissecting why superovulation and embryo transfer usually work on some farms but not on others. *Theriogenology*, 65:65-76.
- Ward F, Enright B, Rizos D, Boland M, Lonergan P. 2002. Optimization of in vitro bovine embryos production : effect of duration of maturation, length of gamete co-incubation, sperm concentration and sire. *Theriogenology*, 57:2105-2117.
- 김강식, 이홍철, 박용수, 김소섭, 박흥대. 2015. 한우 육질등급이 난포란의 배반포 체외생산에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지*, 30:161-170.
- 김덕임, 서상원, 정재경, 이규승, 서길용, 박창식, 정영채, 박병권. 2002. 한우에 있어서 체내수정란의 생산과 이식에 관한 연구. II 한우 수정란이식이 수태율에 미치는 요인. *한국수정란이식학회지*, 17:33-44.
- 김영훈, 고진철, 오창언, 강승률, 양보석, 오성중, 김창능, 송중용, 김일화. 2006. CIDR를 이용한 제주 한우 및 흑우의 체내수정란 생산과 이식. *한국수정란이식학회지*, 21:191-198.
- 박성재, 양보석, 임기순, 성환후, 양병철, 장원경, 정일정, 정기화, 심보용, 박충생. 2000. 한우에 있어서 초음파기기를 이용한 생체 내 개체별 난자 채취 빈도 및 수정란 생산 효율에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 15:1-8.
- 설현석, 정연길, 송해범. 2006. 육질이 우수한 한우의 난소에 서 회수한 난포란의 체외 발생 능력. *한국수정란이식학회지*, 21:183-190.
- 손동수, 한만희, 최창용, 최선호, 조상래, 김현중, 류일선, 최성복, 이승수, 김영근, 김삼기, 김삼희, 신권희, 김일화. 2006. 우수 한우의 수정란 생산 및 이식. *한국수정란이식학회지*, 21:147-156.
- 송상현, 장덕일, 민찬식, 박준규, 주영국, 주영국, 이정규, 정기화. 2012. 과배란처리된 한우의 수정란 생산에 미치는 산차와 계절의 효과. *한국수정란이식학회지*, 27:127-131.
- 염규태, 박해금, 김남태, 김성우, 김현, 도윤정, 김영신, 박수봉, 김재환, 조상래, 조재현, 고응규. 2013. 한우에서 신체충실지수 (BCS)가 다배란처리 시 체내수정란 생산과 수태율에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지*, 28:7-12.
- 임석기, 전기준, 박수봉, 우제석, 최재관, 연성흙, 윤상보. 2000. 한우에서 체내수정란 생산에 영향을 미치는 요인에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 15:181-190.
- 정연길, 설현석, 임여정, 이준영, 송해범. 2010. 육질등급이 우수한 한우의 난자를 개체별 이력추적 시스템으로 수정란 이식하여 생산한 수소의 비육성적. *Proceedings of the 10th International Symposium on Developmental Biotechnology-Korean Soc. Anim. Reprod.* p 100(abstr.).
- 정연섭, 최창용, 조상래, 임현주, 윤호백, 백광수, 권응기, 손동수, 손준규. 2012. 한우 공란우의 영양상태와 이식 가능 수정란과의 관계. *한국수정란이식학회지*, 27:15-20.
- 최선호, 류일선, 손동수, 조상래, 한만희, 김현중, 최창용, 김영근. 2005. 한우 반복 과배란 및 산차가 수정란 생산에 미치는 영향. *한국수정란이식학회지*, 20:185-190.
- 최수호, 박용수, 이준희, 강태영, 김주현, 노규진. 2008. 체외 배양액의 조성과 혈청의 한우 체외 수정란이 발달과 임신율에 미치는 효과. *한국수정란이식학회지*, 23:51-57.
- 황환섭, 장현용, 김성곤, 김종택, 박춘근, 정희태, 김정익, 양부근. 2004. 한우 체외성숙·체외수정란의 수정란이식에 관한 연구. *한국수정란이식학회지*, 19:1-10.