

受精卵移植에 있어서 受卵牛와 受精卵의 相互作用이 受胎率에 미치는 영향

이정호 · *박항균 · **조민희
수정란이식동물병원, *경북대학교 농과대학
**경상북도 가축위생시험소

Interactions between Recipients and Embryos affecting Pregnancy Rates in Bovine Embryo Transfer

Jung Ho Lee, *Hang Kyun Park and **Min Hee Cho
Korea embryo Transfer-Veterinary Clinic.

Summary

This study was carried out to investigate the interactions between recipients and embryos to compare pregnancy rates in bovine embryo transfer, such as synchrony and stage of embryos, synchrony and quality of embryos, synchrony and side of uterine horn, and preservation time and stage of embryos. Fifty-two embryos were transferred surgically to 42 Holstein heifers, 3 Holstein cows and 7 Korean native heifers from Feb., 1985 to June, 1986.

The results were as follows:

1. In the trial of interactions between synchrony and embryo stage, recipients synchronized from - hours to + 12 hours in synchrony and embryos from morulae stage to advanced blastocyst stages showed reasonable pregnancy rate.
2. Excellent (A) and good (B) grade embryos showed good pregnancy rate, 81.8% and 73.3% respectively, but fair (C) grade embryos showed poor, 25% only at the same boundary of recipient synchrony.
3. More recipients had corpus luteum on the right ovary than the left, and also had better pregnancy rate (26/32 vs 13/20, 81.3% vs 65%).
4. A good pregnancy rates (over 60%) were obtained with the embryo transferred 17hrs after flush at room temperature or field condition in culture medium.

서론

최근 종축개량과 능력향상에 대한 욕구가 증진되면서 수정란이식에 대한 관심도 크게 고조되고 있다. 수정란이식 사업에 대한 실용화가 가능하게 되기 위해서는 수태율향상이 무엇보다 선행되어야 할 조건이라 생각된다.

Rowson(1972), Sreenan(1975), Newcomb(1979), Wright(1981) 이와 박(1986) 등의 지금까지의 연구

동향을 보면 대부분이 수란우와 수정란 별로 따로 따로 분리하여 수태율에 미치는 영향을 조사한 것들이 많다.

높은 수태율을 얻는 요건으로는 이식할 수정란의 상태와 그 수정란을 이식받을 수란우의 자궁상태와의 조화가 중요하다.

따라서 본 연구는 수태율에 영향을 주는 수정란과 수란우간의 상호관계를 검토하고자 실시하였다.

* College of Agriculture, Kyung Pook University

** Kyung Bok Animal Health Experimental Institute

재료 및 방법

1. 수정란

이식에 이용한 수정란은 이와 박(1986)방법에 준하여 채란하였다. 과배란처리후 12일째에 2-way catheter를 사용 관류하여 회수된 수정란 126개중에서 이중 사용이 가능한 수정란 59개를 이식용으로 사용하였다.

채란된 수정란은 morula, tight morula, blastocyst, advanced blastocyst, 4 group으로 분류하여 이식하였다. 4 group으로 분류된 수정란은 다시 그 질에 따라 각각 A(excellent), B(good), C(fair)의 3등급으로 구분하였다. 각 발육단계에 있어서 결함이 없는 우수한 최상의 것을 A로, 할구세포중에서 몇개의 사멸세포가 분리되어 있기는 하나 비교적 양호한 상태이면 B로, 사멸세포가 비교적 많이 있지만 대부분의 분할세포가 정상발육을 했을 때는 C로 구분하였다.

2. 수란우

수란우는 16개월령 전후의 처너우중 발정주기가 정상적인 것을 선택하여 사용하였으며 공란우와 수란우간의 발정동기화의 시차가 24시간 이내의 것만을 공시수란우로 이용하였다.

수란우의 발정기록은 Standing estrus개시 시간을 기준으로 공란우와의 발정발현시차를 면밀히 관찰 기록하였다. 수란우는 수정란이식전에 직장검사에서 황체형성의 상태가 불량한 경우는 수란우에서 제외하였다.

발정동기화 시차에 있어서 수란우의 발정발현이

공란우보다 먼저 온 것은 “-”로, 늦게 온 것은 “+”로 표기하였다.

3. 이식방법

발정후 7~8일째에 발정된 수란우의 배란측 자궁각에 수정란 1개를 외과적방법으로 이식하였다.

4. 임신감정

수정란이식후 45~50일에 직장검사에 의하여 임신감정하였다.

결과 및 고찰

1. 수란우의 발정동기화와 수정란의 상태별 수태율

수란우의 동기화는 Table 1과 같이 5단계로 나누고 수정란의 상태는 4단계 즉, 상실배, 충실한 상실배 (kight morulae), 배반포, 확장배반포 (advanced blastocyst)로 구분한 것으로서 이들 조건에 따른 수태율은 Table 1에서 보는 바와 같다.

상실배이상 확장배반포에 도달된 수정란에서는 수정율이 평균수준인 75%이었다. 또한 상실배부터 확장배반포시기의 수정란을 -6~+12시간까지의 발정시차를 보인 수란우에 이식하여 비교적 양호한 성적을 얻을 수 있었다.

Williams 등(1984)도 역시 배반포시기의 수정란 이식에서 높은 수태율을 얻은바 있다.

2. 수란우의 발정동기화 시차와 수정란의 질에 따른 수태율

Table 1, Interaction between Synchrony of Recipient and Embryo Age in Embryo Transfer

Embryo age Synchrony	Morulae	Tight morulae	Blastocyst	(Pregnancy rate, %)	
				Advanced blastocyst	Total
Over +12hrs	0 / 1	1 / 1	0	1 / 2	2 / 4 (50%)
+ 6 ~ + 12hrs	3 / 3	2 / 3	2 / 4	6 / 9	13 / 19 (66.7%)
+ 0 ~ + 6 hrs		1 / 2	2 / 2	9 / 12	12 / 16 (73.3%)
- 0 ~ - 6 hrs		1 / 1	2 / 2	8 / 8	11 / 11 (100%)
- 6 ~ - 12hrs		1 / 2			1 / 2 (50%)
Total	3 / 4 (75%)	6 / 9 (66.7%)	6 / 8 (75%)	24 / 31 (77.4%)	39 / 52 (75%)

수란우와 공란우와의 발정시차와 수정란의 질에 따른 수태율은 Table 2에서 보는 바와 같다. 공란우보다 발정이 빠른 수란우가 13두, 늦은 수란우가 39두였는데 이들의 수태율은 92.3%와 69.3%였다. 발정이 빨리 온 수란우에서 수태율이 높았다. 이는 오등(1986)의 결과와는 상반된 결과였으며 Wright(1981), Linder 등(1983) 그리고 동결수정란의 Leibe(1984)와는 유사한 결과였다. Table 2의 결과를 발정시차별로 보면 0~6시간이 100%의 수태율로 가장 높았고 0~+6시간에서는 75%, +6~+12시간에서 68.4%로서 발정동기화가 일치될 때 가장 수태율이 높았다. 이는 Sreenan 등(1975)과 Schneider 등(1980)의 결과와 거의 일치된 성적이었다.

수정란의 질에 따른 수태율을 보면 A, B, C 급 수

정란의 경우 수태율이 각각 81.8%, 73.3%, 25%로서 A급수정란의 수태율이 역시 가장 높았다. 본 연구에서 수정란이식 과정에서 수정란을 A, B, C 급 순으로 발정동기화가 잘된 수란우에 배정하였기 때문에 수태율의 차이가 더욱 현저한 것으로 생각된다.

AB급의 수정란을 공란우보다 6시간 빨리 발정 온 수란우로부터 12시간 늦게 발정 온 수란우까지의 범위에 이식한다면 비교적 양호한 결과를 얻을 수 있을 것으로 본다.

이러한 결과는 Leibe(1984), Niemann 등(1985), Wright(1985)에서도 보고된 바 있다. 또한 Baker 등(1983)의 결과에서도 AB급간에는 비슷한 수태율을 보였고 C급은 현저히 저하됨을 알 수 있었다.

Table 2. Interaction between Synchrony of Recipient and Quality of Embryo

(Pregnancy rate, %)

Quality of embryo		A	B	C	Total
Synchrony					
Estrus after donor	Over +12hrs	0	2 / 2	0 / 2	2 / 4 (50%)
	+6 ~ +12hrs	7 / 10	6 / 9		13 / 19 (68.4%)
	+0 ~ +6hrs	11 / 14	1 / 2		12 / 16 (75%)
Estrus before donor	-0 ~ -6hrs	9 / 9	2 / 2		11 / 11 (100%)
	-6 ~ -12hrs			1 / 2	1 / 2 (50%)
Total		27 / 33 (80.2%)	11 / 15 (73.3%)	1 / 4 (25.0%)	39 / 52 (75%)

3. 수란우 발정동기화 시차와 이식 자궁각에 따른 수태율

수란우의 발정시차와 이식자궁각별 수태율은

Table 3과 같다.

좌우자궁각을 막론하고 0~-6시간에서의 이식이 가장 수태율이 높아 100%였으며 왼쪽이식인 경우는 0~+6시간 때보다 +6~+12시간에서 다소 높은 수태율을 보였다. 공란우보다 발정이 늦게 온 경우(+) 오른쪽 자궁각이식에서 왼쪽보다 다소 높은 수태율이었다.

총이식수란우 52두중 수태우가 39두로 수태율이 75%였는데 그중 왼쪽자궁각에 이식한 것이 20두, 오른쪽자궁각에 이식한 것이 32두로 오른쪽이 많았는데 수태율에서도 왼쪽이 65%, 오른쪽이 81.3%로서 오른쪽 자궁각의 수태율이 높았다. 이는 자연

임신에 있어서의 수준과 같은 경향이였다. 수정란이식에 있어서 이식부위는 황체가 있는 쪽 자궁각에 이식하는 것이 일반적인 관례이다.

4. 채란후 이식까지의 경과시간에 따른 수태율

채란된 수정란은 가급적 채란후 최단시간에 이식할 것이 좋겠으나 여러사정으로 채란후 이식까지의 시간이 경과되었을 때 수태율이 영향을 주게 될 것이다.

Table 4는 이식까지의 소요시간에 따른 수태율을 보여주고 있다.

이식된 수정란의 발육단계에 따라 다소 차이가 있었으나 채란후 3시간이내, 3~6시간 및 6시간이상 경과후의 수태율은 각각 77.4%, 60% 및 100%

Table 3. Pregnancy Rate according to Synchrony of Recipient and Side of Uterin Horn

(Pregnancy rate, %)

Synchrony	Side of horn	L*	R*	Total
Over +12hrs		0 / 1	2 / 3	2 / 4 (50%)
+ 6 ~ +12hrs		3 / 5	10 / 14	13 / 19 (66.7%)
+ 0 ~ + 6 hrs		4 / 7	8 / 9	12 / 16 (73.3%)
- 0 ~ - 6 hrs		5 / 5	6 / 6	11 / 11 (100%)
- 6 ~ -12hrs		1 / 2	-	1 / 2 (50%)
Total		13 / 20 (65%)	26 / 32 (81.3%)	39 / 52 (75%)

*L : Left side of uterine horn, R : Right side of uterine horn.

Table 4. Pregnancy Rate according to the Preservation Time and Embryo Age

(Pregnancy rate, %)

Preservation time	Embryo age	Morulae	Tight morulae	Blastocyst	Advanced blastocyst	Total
Within 3 hrs		3 / 3	4 / 6	4 / 5	13 / 17	24 / 31 (77.4%)
3 - 6 hrs		1 / 1	2 / 3	2 / 3	5 / 8	9 / 15 (60%)
Over 6 hrs					*6 / 6	6 / 6 (100%)
Total		3 / 4 (75%)	6 / 9 (66.7%)	6 / 8 (75%)	24 / 31 (77.3%)	39 / 52 (75%)

* Preserved during 13-17hrs.

로서 3시간이내의 경우가 3~6시간보다 높았다. 그런데 6시간이상 경과된 수란우 6두에서 모두 수태된 것은 예상외의 결과였다.

수정란의 발육상태가 양호하고 수란우 자궁상태가 양호한 상태조건하에서는 채란후 상당시간(본연구에서는 17시간)까지 경과후 이식하여도 수태율에는 큰 지장이 없다고 사료된다.

한편 Nibart등(1986)은 시간 경과에 따라 이식수정란의 수태율이 저하된다고 하였으며 Leibe등(1986)은 0℃에서 수정란을 보관 수송할 경우 24시간이내에 이식하여야 한다고 보고하였다.

결 론

본 연구는 소 수정란이식에 있어서 수란우의 발정동기화와 수정란의 발육단계, 수정란의 질, 이식 자궁각 및 채란후 이식까지의 소요시간에 따른 수태율과의 상호관계를 규명하느로서 수태율을 증진시킬 수 있는 방법을 찾고자 수행하였다. 1985년 2월부터 6월까지 젖소 처녀우 42두, 젖소성우 3두 및 한우성우 7두 총 52두를 외과적 방법으로 수정란을 이식하였다. 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. 수란우의 발정동기화와 수정란의 발육단계간의 상호관계는 발정이 -6~+12시간 사이에 이력진 수란우와 상실배에서 확장배반포까지의 수정란에서 양호한 수태율을 보였다.

2. 수란우의 발정동기화 범위가 비슷한 경우 A B 급수정란의 수태율이 81.8%와 73.3%이었고 C 급수정란은 25%로 저조한 수태율을 보였다.

3. 우측자궁각에 이식한 경우의 수태율이 81.3%로서 좌측의 65.0%보다 높았다.

4. 채란후 이식까지 17시간 소요된 경우에서도 수태율이 양호하였다.

參 考 文 獻

1. Baker, A.A., Kobayashi, G. and Jillella, D. (1983). A comparison of the pregnancy rate following nonsurgical and surgical transfer and visual grading of bovine embryos on farms in south-eastern Queensland. *Theriogenology*, 20:111.
2. Leibo, S.P. (1984). A one step method for direct non-surgical transfer of frozen-thawed bovine

- embryos. *Theriogenology*, 21: 767-790.
3. Leibo, S.P. and David, W. (1986). Production of bovine pregnancies from embryo transferred at 0°C by air. *Theriogenology*, 23: 165.
 4. Linder, G.L. and Wright, R.W. Jr. (1983). Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, 20: 407-416.
 5. Newcomb, R. (1979). Surgical and non-surgical transfer of bovine embryos. *Vet. Rec.*, 105: 432-434.
 6. Nibart, M., Florin, B., Merckekour, F., Humblot, P., and Jhibier, M. (1986). Range of the pregnancy rates of surgical transferred bovine embryos. *Theriogenology*, 23: 176.
 7. Niemann, H., Jenhumberg, H., Sacher, B. and Kruff, B. (1985). Pregnancy rates after non-surgical transfer of cattle embryos frozen and thawed by a field method. *Anim. breed. Abstr.*, 53: 206.
 8. Pool, S.H., Blakewood, E.G., Rorie, R.W., McFarland, C.W. and Godke, R.A. (1986). Use of a household refrigerator for short-term storage of bovine embryo. *Theriogenology*, 23: 184.
 9. Rowson, L.E.A., Rawson, R.A.S., Moor, R.M. and Baker, A.A. (1972). Egg transfer in the cow: Synchronization requirements. *J. Reprod. Fert.* 28: 427-434.
 10. Schnider Jr. H.J., Castleberry, R.S. and Griffin, J.L. (1980). Commercial aspects of bovine embryo transfer. *Theriogenology*, 13: 73-85.
 11. Sreenan, J.M., Beehan, D. and Mulvehill, P. (1975). Egg transfer in the cow. *J. Reprod. Fert.*, 44: 77-85.
 12. Williams, T.J., Elsdon, R.P. and Seidel, G.E. Jr. (1984). Effect of embryo age and stage on pregnancy rates from demi-embryos. *Theriogenology*, 21: 276.
 13. Wright, J.M. (1981). Non-surgical embryo transfer in cattle: embryo recipient interactions. *Theriogenology*, 15: 43-56.
 14. Wright, J.M. (1982). Non-surgical embryo transfer in cattle. *Theriogenology*, 17: 53-59.
 15. Wright, J.M. (1985). Commercial freezing of bovine embryos in straw. *Theriogenology*, 23: 17-29.
 16. 오성종, 양보석, 김희석, 이근상, 김강식, 스키어스 아우리(1986). 소의 발정동기화 및 동결 수정란 이식에 관한 연구, *한축지*, 28: 468~473.
 17. 이정호, 박향균(1986). 소의 수정란 이식에 있어서 수란우의 조건에 따른 수태율에 관한 연구, *경북대농학지*. 4: 109~113.