

초음파 유도 난포란 채란에 의한 적소 및 한우의 체외수정란과 송아지 생산†

조성근·심보용·조상래·박준규·송상현·박성재*·노규진**·공일근***·박희성****·정기화*
박대오****·손동수*·이효종**·최상용**·박충생
경상대학교 축산과학부

Production of *In Vitro* Fertilized Bovine Embryos and Calves by Ultrasound-guided Ovum Pick-up in Holstein and Hanwoo

S. K. Cho, B. W. Sim, S. R. Cho, J. K. Park, S. H. Song, S. J. Park*, G. J. Rho**, I. K. Kong***,
H. S. Park****, K. H. Chung*, D. O. Kwack****, D. S. Son*, H. J. Lee**, S. Y. Choi** and C. S. Park
Department of Animal Science, Gyeongsang National University

SUMMARY

The objective of this study was to produce calves by transfer of embryos derived from slaughter house (SHD) and ultrasound-guided ovum pick-up (OPU). At 60 hrs after injection of 400 mg FSH dissolved in 25% polyvinylpyrrolidone (PVP) by single dose, ultrasound-guided follicular oocyte aspiration was performed. Day-7 and day-8 blastocysts produced by *in vitro* maturation (IVM), fertilization (IVF) and culture (IVC) of the oocytes derived from SHD and OPU were nonsurgically transferred into recipients. The results obtained were as follows:

The cleavage rate and the developmental rate to blastocysts were not significantly ($P < 0.05$) different between the oocytes obtained by SHD (72.9% vs. 34.1%) and OPU (75.9% vs. 38.4%).

The oocyte recovery rate from the number of follicles by ultrasound-guided aspiration were not significantly ($P < 0.05$) different between Holstein (61.7%) and Hanwoo (60.1%), but the rate of oocytes useful for IVF was significantly ($P < 0.05$) higher in Hanwoo (69.3%) than Holstein (59.6%).

The cleavage rate and the developmental rate to blastocysts was not significantly ($P < 0.05$) different between Holstein (74.9% vs. 39.2%) and Hanwoo (77.9% vs. 40.9%).

The transfer of 114 fresh SHD-IVF embryos into 38 recipients on day 8 of estrus cycle resulted in 13 pregnancies (34.2%). One of them was sacrificed during gestation period

† 본 연구는 1995~1998년도 농림수산특정연구과제 현장으로 기술개발사업 연구비와 (주) 메디슨에서 기증해 준 초음파 진단기에 의하여 연구되었음.

* 농촌진흥청 축산기술연구소(National Livestock Research Institute, Rural Development Administration)

** 경상대학교 수의학과(Department of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University)

*** 순천대학교 동물자원학과(Department of Animal Sciences, Suncheon National University)

**** 진주산업대학교 축산학과(Department of Animal Sciences, Chinju National University)

***** 경상대학교 생물교육학과(Department of Biology Education, Gyeongsang National University)

due to mastitis and another was aborted spontaneous. The resulting 14 calves were morphologically normal at birth.

Seventy eight fresh OPU-IVF embryos were transferred into 21 recipients on day 8 of estrus cycle, resulting in pregnancy of 12 recipients (41.4%). Two of them were sacrificed during gestation period due to mastitis and the other two were aborted. Nevertheless, the 11 OPU-calves have been born normally.

(Key words : OPU, IVF, bovine embryos, embryo transfer)

서 론

종축의 개량 효과를 높이기 위하여 최근 수정란 이식 기법이 널리 이용되고 있으며, 수정란이식 기술이 실용화 되기 위해서는 먼저 우수한 유전 능력을 보유하고 있는 수정란의 다량 확보가 필수적이다. 따라서 이러한 목적을 달성하기 위해 실험실에서 수정란의 다량 생산이 가능한 체외 수정란 생산 체계의 적용이 적극적으로 검토되어지고 있다.

지금까지의 체내수정란의 이용 기법은 과배란 처리 후 수정시켜 외과적 혹은 비외과적 방법으로 수정란을 채란하고 있는데 과배란 유기를 위하여 4일간 고가의 FSH제제 호르몬을 1일 2회씩 주사해야 하는 번거로움과 많은 수의 수정란을 회수하기도 어려울 뿐 아니라, 과배란 유기후 난소낭종 등 부작용도 염려되고 있다.

최근의 국외 연구결과(Pieterse 등, 1988, 1991a, 1991b, 1992; Walton 등, 1993; Fry 등, 1994; Gibbons 등, 1994, 1995; Kruip 등, 1994; Loony 등, 1994; Van Soom 등, 1994; Bungartz 등, 1995; Hasler 등, 1995; Meintjes 등, 1995; Stubbings와 Walton, 1995; Bols 등, 1996; Duby 등, 1996; Boni 등, 1997)에 의하면 초음파유도 난포란을 체외수정시키는 기법으로는 연간 두당 약 100여개 이상의 이식 가능한 수정란을 생산할 수 있다. 초음파유도에 의한 난포란 채취기법은 임신우(Meintjes 등, 1995)와 미성숙 송아지(Brogliatti와 Adams, 1996; Duby 등, 1996; Presicce 등, 1997)에서도 난포란 채취가 가능한 만큼 실재로는 더 많은 수정란을 확보 이용할 수도 있다.

또한 이 기법의 확립은 쌍자생산, 복제동물의 생산, 성감별된 정자의 수정에 의한 송아지의 성조절 기술 및 형질전환동물 생산 등 여러 가지 생명공학

적 기술발전의 기초를 구축하는데 이용될 수도 있게 되므로 연구개발이 매우 필요한 것으로 생각된다.

초음파유도 체외수정란 이용 기법이 확립되면 수정란이식이 조속히 실용화될 것이며 따라서 장래에 대하여 불안해하고 있는 양축 농민들이 이를 통하여 종축개량에 대한 희망을 조속히 갖게 하고 번식 관리에도 더욱 세심한 주의를 하게 되어 영농의욕도 고취시켜 줄 것이다.

따라서 Holstein 젖소와 한우를 이용하여 초음파유도에 의해 채란된 난포란으로부터 생산된 체외수정란을 이식하여 송아지를 생산하게 된다면, 한우와 젖소의 송아지 가격이 현저히 차이가 날 경우는 한우에서 젖소 송아지를 생산하거나 젖소에서 한우 송아지를 쌍자생산케 하는 등 한우 혹은 젖소 사육 농가에게 장래에 대한 불안감을 해소시켜 줄 수도 있을 것으로 기대되어 본 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 공란우의 선정

본 실험에 공시한 젖소 및 한우는 번식장애가 없는 건강하고 정상적인 발정주기를 보이는 Holstein 젖소 육성우 10두 및 한우 경산우 5두를 각각 사용하였다. 실험우의 사양은 경상남도 산청군 신안면 소재 셋별목장에서 사양표준에 준하여 위탁 관리하였으며, 정기적으로 질병과 건강상태 유무를 검진하였다.

2. 호르몬처리

공시동물의 호르몬처리에는 FSH(Folltropin®-V, Vetrepfarm Co., Canada)를 이용하였으며, 호르몬 처리방법은 single dose로 400 mg FSH를 25% PVP에 첨가하여 1회 근육주사하였으며, 각각 FSH

처리 후 60시간에 난포발달 조사 및 난포란 채란을 실시하였다.

3. 난포란의 채란

1) 도축우의 난소를 이용한 난포란의 채란

본 실험에 공시된 난소는 도축장에서 도살직후 난소를 적출하여 18-G needle이 부착된 50 ml tube를 이용하여 75~85 mmHg의 vacuum pump(Thomas®-V, Vetrepharm Co., Canada)를 이용하였으며, 호르몬 처리방법은 single dose, U.S.A.)를 이용하여 난포란을 채란하였다.

2) 초음파를 이용한 난포란의 채란

난포란 채란을 위한 초음파장비는 SONOACE-600(Medison Co., Korea)을 사용하였고 탐촉자는 6.5 MHz convex scanner를 사용하였다. Needle guide는 Medison사에서 제작한 탐촉자와 함께 장착하도록 되어 있고, needle(Cook®-V, Vetrepharm Co., Canada)를 이용하였으며, 호르몬 처리방법은 single dose, Australia)은 17 gauge, 50 cm 길이의 50 ml tube를 장착하고, 몇 차례 반복적으로 채란에 사용할 수 있도록 하였다. Vacuum pump(Thomas®, U.S.A.)는 75~85 mmHg의 vacuum pressure(분당 흡입량: 27~29 ml)를 유지하도록 조절하여 사용하였다(Gibbons 등, 1994).

초음파를 이용한 난포란의 채란은 호르몬 처리우에서 중난포(직경 4~10 mm) 이상의 난포에서 주 1회 실시하였다. 채란우를 보정틀에 고정시킨 후 진정시키고, 질벽의 긴장을 완화시키기 위해서 1 mg/100 kg의 detomidine hydrochloride(Domosedan®-V, Vetrepharm Co., Canada)를 이용하였으며, 호르몬 처리방법은 single dose, SmithKline Beecham, Canada)를 미정맥에 주사하였다. 또한 복부의 긴장을 방지하기 위해서 2% lidocain 3~6 ml을 미근부의 제 1, 2 미추간에 주사하여 진정을 유도하였다.

탐촉자를 질을 통해 삽입하여 난소의 위치를 파악하고 채란 가능한 난포의 유무를 확인한 후, 채란 가능한 난포가 모니터상으로 나타나면 puncture line 부위로 난포를 이동시키고 needle의 끝부분이

모니터 상에 약간 비치도록 이동시킨 후 난포내로 needle을 진입시키고 동시에 vacuum pump의 음압을 이용하여 난포액과 난포란이 함께 흡입되도록 하였다. 작업이 완료된 후 탐촉자와 needle을 후퇴시키고, needle은 10 IU/ml Heparin이 첨가된 기본배양액(D-PBS+10% FBS)으로 세척하여 needle속에 남아 있는 난포액을 완전히 흡입하였다. 채란작업은 가능한 정확하고 신속하게 작업을 완료하도록 하였다.

4. 체외수정란의 생산

도축우의 난소로부터 채란된 난포란과 초음파유도에 의해 채란된 난포란의 선발은 난구세포의 부착 정도와 세포질의 충실도에 따라 Wiemer 등(1991)의 방법에 준하여 실시하였으며, 최소한 1층 이상의 난구세포층으로 되어 있고, 세포질이 균일하고 충실한 것을 선발하여 실험에 공시하였다.

체외성숙용 배양액 Ham's F-10에 hormones으로 LH(10 µg/ml), FSH(35 µg/ml), estradiol-17β(1 µg/ml)를 첨가하고 0.01 µg/ml EGF(Epidermal Growth Factor, Sigma, U.S.A.)를 첨가하여, 체외성숙 배양액을 100 mm dish에 100 µl씩 drop분주하여 18 시간 이상 전 배양을 실시하여 평형을 유도한 다음, 체외성숙용 배양액에 등급별로 15~20 개의 난포란을 넣고 5% CO₂, 98~99% 습도, 39°C CO₂ incubator에서 24 시간 동안 체외성숙을 유도하였다.

체외수정에 필요한 정자를 준비하는데 있어서는 Percoll density gradient 방법을 이용하여 sperm-TALP medium으로 활력이 높은 정자를 채취한 후 수정용 IVF-TALP medium으로 CO₂ incubator에서 10~15분간 처리하여 수정능획득을 유도하였다. 체외수정은 체외성숙된 난포란을 수정용 IVF-TALP medium으로 3~4회 세척한 후 수정용 IVF-TALP medium에 100 µl drop당 15~20개의 난자를 옮긴 다음 수정능이 획득된 활력도가 높은 정자의 최종농도가 2×10⁶ sperms/ml이 되도록 조절하여 24시간 동안 39°C, 5% CO₂ incubator에서 수정을 유도하였다.

체외배양액으로 HECM-6를 사용하여 11종의 아미노산 이외에 0.1 mg/ml PVA를 첨가하여 drop

당 적정 수정란의 비율과 함께 3일 또는 4일간 HE-CM-6에서 배양한 후, 10% FCS가 첨가된 TCM-199 배양액으로 체외수정란을 옮겨 7~9일 까지 배양하여 후기배로의 배 발달을 유도하였다.

5. 수정란이식 및 임신 확인

수정란의 이식은 비외과적방법으로 발정 후 7~8일이 경과한 수란우를 이용하여 Cassou rod(0.25 ml)에 2~4개의 체외수정란이 주입된 straw를 장착하고, 자궁경관을 통과한 후에는 배란이 확인된 자궁쪽으로 Cassou rod를 유도하여 가능한 한 자궁각 심부에 삽입하여 수정란을 주입하였다.

임신확인 은 이식 후 약 21일이 경과하여도 발정이 발현되지 않는 소는 일단 임신 가능성을 가지고 이식 후 약 60일까지 예의 주시하면서 발정관찰을 실시하였다. 이식 후 25~30일에는 초음파를 이용하고, 이식 후 약 60일경에 직장촉진에 의한 임신감정을 실시하였다.

6. 통계학적 분석

실험결과의 통계학적 분석은 SAS package를 이용하여 실시하였으며, GLM(General Linear Model) procedure를 적용하여 각 요인의 least square mean을 구하여 요인간의 유의차를 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 도축장 난소 및 초음파 유래 난포란을 이용한 체외수정란의 생산

도축장(김해 덕성산업 및 태강산업)에서 도축되는 한우의 난소에서 채란된 난포란과 초음파유도에 의해 쪼트소와 한우의 난소에서 채란된 난포란을 각각 이용하여 체외성숙, 체외수정 및 체외배양에 의한 체외수정란의 생산 결과는 다음과 같다. Table 1에서는 도축장에서 도축되는 한우의 난소를 이용하여 채란된 난포란과 초음파유도에 의해 채란된 쪼트소의 난포란에 있어서 수정율은 각각 72.9%와 75.9%로 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 배반포기배의 발달율에 있어서도 각각 34.1%와 38.4%로 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

지금까지의 체외수정란은 주로 도축우의 난소에서 채란된 난포란을 이용하여 체외성숙, 수정 및 배양을 통해 생산하였으므로, 초음파 유도에 의해 생축으로부터 채란된 난포란을 이용하여 생산되는 체외수정란의 배양기법에 있어서도 도축 난소로부터 채란된 난포란을 이용한 배양기법과 같은 과정을 통하여 양질의 체외수정란을 생산할 수 있을 것으로 사료된다.

Table 1. Development of bovine embryos derived from oocytes collected by SHD and OPU

Group	Replicates	No. of oocytes used	No. (%) of oocytes cleaved	No. (%) of embryos developed to blastocysts
SHD	40	1,452	1,058(72.9) ^a	361(34.1) ^b
OPU	42	357	271(75.9) ^a	104(38.4) ^b

† Values with same superscripts in the column were not significantly different(P<0.05).

* SHD group: Slaughterhouse-driven(SHD) ovaries.

* OPU group: Ovum Pick-Up by ultrasound-guided.

Table 2. Oocytes recovery from the follicles by ultrasound*

Breed of cows	Sessions	No. of follicles aspirated	No. (%) of oocytes recovered	No. (%) of oocytes used for IVF
Holstein	39	639	394(61.7) ^a	235(59.6) ^b
Hanwoo	12	271	163(60.1) ^a	113(69.3) ^a

† Different superscripts in the same column indicate a significant difference(P<0.05).

* Aspirated at 60 hrs after injection of 400 mg FSH single dose.

2. 젖소 및 한우의 초음파 유도 난포란의 채란율 및 후기배로의 발달율

초음파유도 난포란 채취를 위하여 FSH를 전처리하는 방법으로 400 mg FSH를 25% PVP에 혼합하여 1회 근육주사하고 60시간에 채란하는 방법이 가장 효율적이고 간편하였기 때문에(박 등, 1997), 젖소와 한우를 이용하여 위의 방법으로 호르몬을 처리하여 초음파 유도 난포란 채란율과 체외수정에 공시할 수 있는 난포란의 회수율을 각각 비교한 결과는 Table 2와 같다. 즉 젖소와 한우의 채란율에 있어서는 각각 61.7% 및 60.1%로 나타나 두 품종간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 채란된 난포란 중 체외수정에 공시할 수 있다고 평가되는 Grade II 등급 이상의 회수율을 보면 젖소에서는 59.6%로 나타났으나, 한우에 있어서는 69.3%로 나타나 두 품종간에 유의적($P < 0.05$)인 차이를 나타내었다.

위의 결과들을 미루어 채란율에 있어서는 한 연구자가 계속적으로 난포란 채란을 실시하였기에 차이가 나타나지 않는다 하더라도, Kruip 등(1994)과 Van Soom 등(1994)은 초음파유도 난포란 채란을 위하여 사용되는 공란우들 사이에 있어서는 체외수정란의 생산을 위한 채란된 난포란들의 능력에 있어서 개체간의 차이가 심하다고 보고하였다. 따라서 본 연구에 있어서는 두 품종이 다르다 하더라도 공시된 동물들에 있어서는 개체차이가 충분히 나타날 수 있을 것으로 사료된다.

초음파유도에 의해 젖소와 한우의 난소에서 채란된 난포란을 각각 이용하여 후기배로의 발달율에 있어서 두 품종간의 차이점이 나타나는지를 규명하기 위하여 체외성숙, 체외수정 및 체외배양에 의한 후기배로의 배발달율을 조사한 결과는 Table 3과

같다. 수정율에 있어서 젖소와 한우에서 각각 74.9%와 77.9%로 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 배반포기배로의 발달율에 있어서는 각각 39.2%와 40.9%로 유의적인 차이를 나타내지 않았다. 따라서 초음파 유도 난포란 채란을 위해서 사용되는 젖소 및 한우의 체외수정란 생산에 있어서 두 품종간에 차이점은 나타나지 않았으므로 초음파에 의해서 채란된 난포란을 이용하여 체외수정란을 생산하기 위해서는 상황에 따라서, 즉 한우와 젖소의 송아지 가격이 현저히 차이가 날 경우에는 한우에서 젖소 송아지를 생산하거나 젖소에서 한우 송아지를 생산케 하는 등 젖소와 한우를 충분히 활용할 수 있을 것으로 사료된다.

3. 도축장 유래 체외수정란의 이식에 의한 수태율 및 송아지 생산

도축장에서 도축되는 한우의 난소에서 채란된 난포란을 이용하여 생산된 체외수정란을 수란우(젖소 및 한우)에 각각 이식하여 얻어진 수태율과 송아지 생산의 결과는 Table 4에 나타난 바와 같다.

도축 한우의 난소에서 채란된 난포란을 이용하여 생산된 114개의 체외수정란을 14두의 한우 수란우와 24두의 젖소 수란우에 이식하여 각각 한우 수란우 4두(28.6%)와 젖소 수란우 9두(37.5%)가 수태하였으며, 송아지의 생산은 한우 수란우 4두와 젖소 수란우 5두에서 각각 7마리씩 총 14마리의 한우송아지(Single: 5, Twins: 6, Triplets: 3)를 생산하였다. 그러나, 임신된 젖소 수란우 9두 중에서 1두는 유방염으로 인하여 도태되었으며, 3두는 유산하였다.

4. 초음파 유도 체외수정란의 이식에 의한 수태율 및 송아지 생산

Table 3. Development *in vitro* of embryos derived from follicular oocytes aspirated by ultrasound

Breed of cows	Sessions	No. of oocytes used	No.(%) of oocytes cleaved	No.(%) of embryos developed to blastocysts
Holstein	39	235	176(74.9) ^a	69(39.2) ^b
Hanwoo	12	113	88(77.9) ^a	36(40.9) ^b

[†] Values with same superscripts in the same column were not significantly different ($P < 0.05$).

Table 4. Pregnancies and calves production by transfer of SHD-IVF embryos[†]

Embryo donor breed	Embryo recipients		No. (%) of cows pregnant	No. of cows aborted (fetuses)	No. of calves born				
	Breed	No. of cows used			No. of embryos transferred	Single	Twins	Triplets	Total
Hanwoo	Hanwoo	14	42	4(28.6)	0	2	2	3	7
	Holstein	24	72	9*(37.5)	3 (1 single 2 twins)	3	4	0	7
Total		38	114	13(34.2)	3 (1 single 2 twins)	5	6	3	14

[†] All of the donor embryos were derived from Hanwoo slaughterhouse ovaries.

* One of them was sacrificed during gestation period from mastitis.

초음파 유도에 의해 채란된 한우의 난포란을 이용하여 생산된 20개의 체외수정란을 1두의 한우 수란우와 6두의 젖소 수란우에 이식하여 6마리의 한우 송아지(Single: 1, Twin: 2, Triplets: 3)를 생산하였다. 그리고 초음파 유도에 의해 채란된 젖소의 난포란을 이용하여 생산된 58개의 체외수정란을 22두의 젖소 수란우에 이식하여 8두(36.4%)의 수태율을 얻었다. 이들 임신된 8두의 수란우 중에서 2두는 유방염으로 인하여 도태되었고, 1두는 유산하였으며(Triplets), 5두는 각각 1두씩 정상 송아지 5

마리를 분만하였다.

Kruip 등(1994)과 Van Soom 등(1994)은 초음파 유도 난포란 채란을 위하여 사용되는 공란우들 사이에 체외수정란의 생산을 위한 난포란들의 능력에 있어서 개체간의 차이가 심하다고 보고하였다. 또한 체외수정에 사용된 일부 정액들은 다른 정액에 비해 높은 수정능력을 나타낸 것과 마찬가지로, 일부 특정 공란우의 미성숙 난포란에서도 다른 공란우에서 채란된 미성숙 난포란을 이용한 것보다 높은 체외수정란의 생산율을 나타내었다고 보고하였

Table 5. Pregnancies and calves production by transfer of OPU-IVF embryos[†]

Embryo donor breed	Embryo recipients		No. (%) of cows pregnant	No. of cows aborted (fetuses)	No. of calves born				
	Breed	No. of cows used			No. of embryos transferred	Single	Twins	Triplets	Total
Hanwoo	Hanwoo	1*	2	1(100.0)	0	0	0	3	3
	Holstein	6	18	3(50.0)	1 (twins)	1	2	0	3
Holstein	Holstein	22	58	8**(36.4)	1 (triplets)	5	0	0	5
Total		29	78	12(41.4)	2 (1 twins 1 triplets)	6	2	3	11

[†] All of the donor embryos were derived from OPU.

* OPU-IVF embryos were transferred after artificial insemination.

** Two of them was sacrificed during gestation period from mastitis.

다(Van Soom 등, 1994). Looney 등(1994)은 200두의 공란우를 이용하여 1회 채란에서 두당 평균 6.3개의 난포란을 채란하였고, 배반포기배까지 16.4%의 발달율을 나타내었다. 그리고 813개의 체외수정란을 이식하여 324두(40%)의 수태율을 보고하였다. Hasler 등(1995)은 155두의 공란우를 이용하여 1회 채란에서 두당 평균 4.9개의 난포란을 채란하여 이 중에서 4.1개의 난포란을 체외수정에 공시하였고, 2268개의 체외수정란을 이식하여 1,220두(53.8%)의 수태율을 보고하였다.

Bols 등(1996)은 12두의 Belgian Blue 육우를 이용하여 106회의 자연채란으로 547개의 난포에서 332개(60.7%)의 난포란을 채란하여 1회 채란에서 두당 평균 3.1개의 난포란을 채란하였으며, 채란된 332개의 난포란을 체외수정에 공시하여 55개(16.5%)의 배반포기배를 생산하여 1회 채란에서 두당 평균 0.52개의 배반포기배를 생산하였다고 보고하였으며, 또한 이들은 3두의 공란우를 500 µg pFSH와 100 µg pLH(Stimufol®, Rhone Merieux)를 4일 동안 1일 2회씩 주사하여 6회의 초음파 유도 난포란을 채란하여, 1회 채란에서 두당 평균 난포수 20.8개, 채란된 난포란 수 6.3개 및 배반포기배 1.5개를 생산하였다고 보고하였다. 그리고 이들은 생산된 체외수정란 62개를 이식하여 5마리의 정상 송아지를 생산하였고 7두의 수란우는 임신 중이라고 보고하였다. 국내에서는 이병천 등(1998)이 임신중인 젖소의 난포란을 채란하여 생산된 체외수정란을 이식하여 송아지를 생산하였다고 보고하였다.

실험두수가 충분하지는 않았으나, 앞으로는 초음파 유도에 의하여 채란된 난포란으로부터 생산된 체외수정란은 가급적이면 신선란의 상태에서 이식에 이용하는 것이 수태율 및 송아지 생산에 유리할 것으로 사료된다. 또한 수란우의 엄격한 선발과 임신중인 수란우의 사양관리에 좀 더 세심한 주의가 필요할 것으로 사료된다.

적 요

젖소 및 한우를 이용하여 초음파유도 난포란 채란에 의해 생산된 체외수정란을 이용하여 송아지를 생산하기 위해 본 연구를 실시하였다.

도축장에서 도축되는 한우의 난소를 이용하여 채란된 난포란과 초음파유도에 의해 채란된 젖소의 난포란에 있어서 수정율은 각각 72.9%와 75.9%로 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 배반포기배의 발달율에 있어서도 각각 34.1%와 38.4%로 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

젖소와 한우를 공란우로 이용하여 초음파 유도에 의한 난포란 채란율에 있어서는 각각 61.7% 및 60.1%로 나타나 두 품종간에 유의적인 차이는 나타나지 않았다. 그러나 채란된 난포란 중 체외수정에 공시할 수 있다고 평가되는 Grade II 등급 이상의 회수율을 보면 젖소에서는 59.6%로 나타났으나, 한우에 있어서는 69.3%로 나타나 두 품종간에 유의적($P < 0.05$)인 차이를 나타내었다.

초음파유도에 의해 채란된 난포란을 이용하여 체외수정란을 생산하는데 있어서 젖소와 한우의 수정율은 각각 74.9%와 77.9%로 유의적인 차이를 나타내지 않았으며, 배반포기배로의 발달율에 있어서도 각각 39.2%와 40.9%로 유의적인 차이를 나타내지 않았다.

도축 한우의 난소에서 채란된 난포란을 이용하여 생산된 114개의 체외수정란을 14두의 한우 수란우와 24두의 젖소 수란우에 이식하여 각각 한우 수란우 4두(28.6%)와 젖소 수란우 9두(37.5%)의 수태율을 얻었으며, 송아지의 생산은 한우 수란우 4두와 젖소 수란우 5두에서 각각 7마리씩 총 14마리의 한우송아지(Single: 5, Twins: 6, Triplets: 3)를 생산하였다. 그러나, 임신된 젖소 수란우 9두 중에서 1두는 유방염으로 인하여 도태되었으며, 3두는 유산하였다.

초음파 유도에 의해 채란된 한우의 난포란을 이용하여 생산된 20개의 체외수정란을 1두의 한우 수란우와 6두의 젖소 수란우에 이식하여 6마리의 한우 송아지(Single: 1, Twin: 2, Triplets: 3)를 생산하였다.

그리고 초음파 유도에 의해 채란된 젖소의 난포란을 이용하여 생산된 58개의 체외수정란을 22두의 젖소 수란우에 이식하여 8두(36.4%)의 수태율을 얻었다. 이들 임신된 8두의 수란우 중에서 2두는 유방염으로 인하여 도태되었고, 1두는 유산하였으며, 5두는 각각 1두씩 정상 송아지 5마리를 분만하였다.

위의 결과에서 나타난 바에 의하면, 수란우의 엄격한 선발과 임신중인 수란우의 사양관리에 좀 더 세심한 주의가 필요할 것으로 사료된다. 추후에도 초음파를 이용하여 고능력 젖소와 한우의 난포란 채란을 지속적으로 수행하여, 본 연구실에서 다년간 축적된 체외수정란의 생산기술을 바탕으로 하여 생산된 체외수정란을 이식하여 우수한 송아지의 생산을 향상에 기여하고자 한다.

사 사

본 연구를 수행함에 있어서 초음파 진단기를 기증하여 주신 (주) 메디슨사의 이민화 대표이사님과 임직원 여러분께 감사의 말씀을 드리며, 또한 수정란의 이식에 많은 도움을 주신 부산우유조합의 이영환, 강구일, 배상영, 진종인 선생님과 경남수정란이식연구회의 강상원, 정경일, 권혁용 선생님과 그리고 공시동물의 사육에 협조하여 주신 셋별농장의 가족 여러분께도 깊은 감사를 드립니다.

참고문헌

- Bols PEJ, Van Soom A, Vanroose G and de Kruif A. 1996. Transvaginal oocyte pick-up in infertile Belgian Blue donor cows: preliminary results. *Theriogenology*, 45:359(abstract).
- Boni R, Roelofsen MWM, Pieterse MC, Kogut J and Kruip ThAM. 1997. Follicular dynamics, repeatability and predictability of follicular recruitment in cows undergoing repeated follicular puncture. *Theriogenology*, 48:277-289.
- Brogliatti GM and Adams GP. 1996. Ultrasound-guided transvaginal oocyte collection in prepubertal calves. *Theriogenology*, 45:1163-1176.
- Bungartz L, Lucas-Hahn A, Rath D and Niemann H. 1995. Collection of oocytes from cattle via follicular aspiration aided by ultrasound with or without gonadotropin pretreatment and in different reproductive stages. *Theriogenology*, 43:667-675.
- Duby RT, Damiani P, Looney CR, Fissore RA and Robl JM. 1996. Prepubertal calves as oocyte donors: Promises and problems. *Theriogenology*, 45:121-130.
- Fry RC, Simpson TL, Squires TJ, Parr RA and Damanik RM. 1994. Factors affecting transvaginal oocyte pick-up in heifers. *Theriogenology*, 41:197(abstract).
- Gibbons JR, Beal WE, Krisher RL, Faber EG, Pearson RE and Gwazdauskas PG. 1994. Effects of once versus twice-weekly transvaginal follicular aspiration on bovine oocyte recovery and embryo development. *Theriogenology*, 42:405-419.
- Gibbons JR, Krisher RL, Carlin SK, Pearson RE and Gwazdauskas PG. 1995. *In vitro* embryo production after microinjection and ovarian dynamics following transvaginal follicular oocyte aspiration. *Theriogenology*, 43:1129-1139.
- Hasler JF, Henderson WB, Hurtgen PJ, Jin ZQ, McCauley AD, Mower SA, Neely B, Shuey LS, Stokes JE and Trimmer SA. 1995. Production, freezing and transfer of bovine IVF embryos and subsequent calving results. *Theriogenology*, 43:141-159.
- Kruip ThAM, Boni R, Wurth YA, Roelofsen MWM and Pieterse MC. 1994. Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. *Theriogenology*, 42:675-684.
- Looney CR, Lindsey BR, Gonseth CL and Johnson DL. 1994. Commercial aspects of oocyte retrieval and *in vitro* fertilization (IVF) for embryo production in problem cows. *Theriogenology*, 41:67-72.
- Meintjes M, Bellow MS, Broussard JR, Paul JB and Godke RA. 1995. Transvaginal aspiration of oocytes from hormone treated preg-

- nant beef cattle for *in vitro* fertilization. J. Anim. Sci., 73:967-974.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruip ThAM, Willemse AH and Taverne MAM. 1988. Aspiration of bovine oocytes during trans-vaginal ultrasound scanning of the ovaries. Theriogenology, 30:751-762.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruip ThAM, Wurth YA, van Beneden TH, Willemse AH and Taverne MAM. 1991a. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. Theriogenology, 35:19-24.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruip ThAM, Willemse AM and Taverne MA. 1991b. Characteristics of bovine estrus cycles during repeated transvaginal, ultrasound-guided puncturing of follicles from ovum pick-up. Theriogenology, 35:401-413.
- Pieterse MC, Vos PLAM, Kruip ThAM, Wurth YA, van Beneden TH, Willemse AH and Taverne MAM. 1992. Repeated transvaginal ultrasound-guided ovum pick-up in eCG-treated cows. Theriogenology, 37:273 (abstract).
- Presicce GA, Jiang S, Simken M, Zhang L, Looney CR, Godke RA and Yang X. 1997. Age and hormonal dependence of acquisition of oocyte competence for embryogenesis in prepubertal calves. Biol. Reprod., 56:386-392.
- Stubbings RB and Walton JS. 1995. Effect of ultrasonically-guided follicle aspiration on estrous cycle and follicular dynamics in Holstein cows. Theriogenology, 43:705-712.
- Van Soom A, Van Vlaenderen I, Mahmoudzadeh AR, Ysebaert MT and de Kruif A. 1994. Salvage of oocytes from sterile genetically valuable cows, resulting in the birth of a calf. Anim. Reprod. Sci., 36:187-196.
- Walton JS, Christie KA and Stubbings RB. 1993. Evaluation of frequency of ultrasonically guided follicle aspiration on bovine ovarian dynamics. Theriogenology, 39:336(abstract).
- 박충생, 조성근, 강태영, 최창용, 손우진, 박성재, 공일근, 이정규, 최민철, 이효종, 최상용. 1997. 젖소의 초음파 유도 채란율에 대한 FSH 전처리 효과의 비교. 한국수정란이식학회지, 21: 147-156.
- 이병천, 윤기영, 김정태, 이강남, 노상호, 신태영, 박종임, 김남렬, 주석천, 백남용, 이은송, 임정묵, 이우근, 황우석. 1998. 초음파 유도에 의한 소 난포란의 채취에 관한 연구. 2. 임신우 유래 난포란으로부터 산자생산에 관하여. 한국수정란이식학회지, 13:77-86.
- (접수일 : 1999. 7. 8 / 채택일자 : 1999. 8. 22)