

한우에 있어서 체내수정란의 생산과 이식에 관한 연구  
II 한우 수정란 이식이 수태율에 미치는 요인

김덕임 · 서상원 · 정재경 · 이규승<sup>1</sup> · 서길웅<sup>1</sup> · 박창식<sup>1</sup> · 정영채<sup>2</sup> · 박병권<sup>3</sup>  
농협중앙회 가축개량사업소

**The Studies on *In Vivo* Embryo Production and  
Transfer in Hanwoo**

**II. Factors Influencing Pregnancy Rate after Embryo Transfer**

D. I. Kim, S. W. Seo, J. K. Chung, K. S. Lee<sup>1</sup>, K. W. Seo<sup>1</sup>, C. S. Park<sup>1</sup>,  
Y. C. Chung<sup>2</sup> and B. K. Park<sup>3</sup>

*Livestock Improvement Main Center, NACF*

**SUMMARY**

These studies were carried out to establish an effective *in vivo* embryo transfer methods in Hanwoo by analyzing several factors that influence this process.

In an embryo transfer, recipients with grade A corpus luteum of the right ovary and that of grade B of the left one showed a higher pregnancy rate( $p<0.1$ ) than others.

The pregnancy rates of frozen embryos were significantly lower( $P<0.01$ ) than those of fresh ones; the former resulting in 35% and the latter resulting in 56.2%.

Transfer of embryos according to the estrus cycle(6.0~9.0days) did not show a significant difference in pregnancy rate with fresh embryos recording 45.4~65.7% and frozen ones recording 22.0~50.0%.

According to the status of corpus luteum and embryo freezing or not, the pregnancy rate was higher on grade A corpus luteum with 40.8~67.9% than B and C which ranged from 25.0~56.0%.

The results of embryo transfer according to the development stage and grade of embryos showed that regardless of the embryo's grade, transfer of morula recorded an average pregnancy rate of 46.3%. This results higher than the transfer of blastocyst which was 34.1%.

서론

과거 국내 축산업은 한우의 개량을 위한 수단으로서 선발 및 교배를 이용해 왔으며 그런 노력의 하나가 우수 종모축의 번식 기회를 증가시킬 수

있는 인공 수정기술이다. 그러나 이러한 기술은 종모축 중심의 개량으로써의 한계점을 가지고 있다.

수정란 이식은 우수한 종빈축으로부터의 과배란을 통한 다량의 수정란 회수를 통한 방법으로써 우량종으로부터 회수된 수정란을 보통소의 자궁에 이식하여 우수한 모계로부터 우량한 유전자를 물

<sup>1</sup> 충남대학교 농과대학(College of Agriculture., Chung-Nam National University)

<sup>2</sup> 중앙대학교 축산학과(Dept. of Animal Science, Chung-Ang University.)

<sup>3</sup> 공주대학교 영상보건대학 특수동물학과(Dept. of Laboratory and Companion Animal, Kong-Ju University)

려받은 송아지를 일시에 다수 생산할 수 있게 되었다.

수정란 이식에 관한 보고는 소(Seidel, 1981; Wright, 1985; Seidel 등, 1990), 면양(Armstrong 등, 1983), 산양(Schiewe 등, 1984) 및 돼지(Day, 1979) 등 여러 축종에 걸쳐 매우 다양하게 이루어졌다. Seidel(1991)은 이미 약 10년 전에 향후 100년 동안의 수정란이식 기술에 대하여 형질전환, 재조합 DNA, PCR을 이용한 기술, 소의 간세포를 배양하는 기술의 개발 등에 많은 발전이 있으리라 전망했는데 오늘날 이러한 기술들이 그대로 반영되고 있다.

우리나라의 소 수정란이식은 1979년부터 고 등(1981)에 의해 한우에서 비외과적으로 수정란의 채취와 이식시험이 이루어졌다. 그 이후로 1980년대 초 과배란 유기에 대한 난소의 반응, 비외과적 수정란 회수와 이식시험이 집중적으로 이루어져 왔다.

수정란 이식시의 수태율에 대하여 Hasler 등(1992)은 육우에서 경산우는 57%, 미경산우는 49%라고 하였고, 젖소의 경우는 미경산우에서 63%의 수태율을 얻었다고 보고하였다.

수정란의 이식에 있어서 Sediel(1980)은 이식 시술자의 숙련도에 따라 26%에서부터 67%까지의 수태율을 나타냈다고 보고하였으며, Takeda 등(1986)은 수정란의 외과적 이식방법과 비외과적 이식방법을 비교 연구하였는데, 710개의 1 및 2등급 수정란을 외과적으로 이식한 결과는 79%의 수태율을 나타내어 비외과적 이식의 경우보다 10~30% 높은 수태율을 나타냈다고 보고하였다. Misra 등(1999)은 buffalo를 대상으로 91두에 비외과적 이식을 실시한 결과 24두가 임신되어 26.3%의 수태율을 나타냈다고 하였다.

수란우의 난소에 존재하는 황체의 크기와 수태율간의 관계에 대하여 Misra 등(1999)은 황체 크기가 5~10mm인 경우가 5mm 이하인 경우보다 수태율이 2배 정도 높았다고 보고하였으며, Elsdon(1992)은 황체를 1, 2 및 3등급으로 구분하였을 때 3등급 또는 등급외의 작은 황체를 가진 경우에는 임신률이 저하된다고 보고하였다. 또한, Newcomb 등(1975)과 Hasler 등(1987)은 수란우의 황체 위치

를 확인하는 것은 자궁각의 편측이식을 선택하는 요인이 되고, 황체의 상태에 따라 동기화 정도를 가늠하는 중요한 단서로서 이식할 수정란의 발육단계와 발정주기를 일치시킬 수 있는 방법이 있다고 하였다. Seidel(1980)은 수정란을 황체가 존재하는 쪽에 이식하였을 때가 반대쪽의 경우보다 수태율이 43~55% 정도 높았다고 보고하여 황체의 기능적 중요성을 강조하였고, Tervit 등(1977)도 황체가 인지되는 쪽의 자궁각에 이식했을 때 임신률이 약 14% 정도 높았다고 보고하였다. 그러나, Rowson 등(1971)은 수태율을 높이기 위해서 두 개의 수정란을 양측 또는 편측에 이식하였을 경우 황체의 위치가 수정란의 생존률에 영향을 미치지 않는다고 하였다.

수정란의 동결보존에 관한 연구는 체외수정란의 동결 연구가 선행되어 그 결과를 체내수정란의 동결연구에 이용하는 방향으로 진행되고 있다. 수정란의 동결보존에 관하여는 1970년대 후반부터 1980년대 초반에 매우 많은 연구가 수행되었다. 1980년대 초반까지 동결 수정란을 이식했을 때의 임신률은 50% 전후였는데 대하여 '90년대 초반까지도 60% 정도의 성적을 나타내고 있을 뿐이다.

수정란의 동결·융해 후 생존성에 미치는 영향에 관하여 수정란의 일령(Cseh, 등 1995; Delcampo 등 1993; Myers 등 1996), 발육단계(Carvalho 등, 1996; Cseh 등, 1995; Delcampo 등, 1993; Dinnyes 등, 1995), 수정란의 질(Han 등, 1994; Kuwayama 등, 1995), 동결보호제(Suzuki 등, 1993; Takagi 등, 1994; Voelkel 등, 1992) 및 동결속도(Suzuki 등 1993; Thonon 등, 1995) 등과 같은 여러 요인들을 중점적으로 구명한 연구결과들이 많다. 국제 수정란이식학회의 통계자료에 의하면 수정란이식의 세계적인 규모는 1984년에는 161,844개, 1988년에 299,009개의 수정란이 회수되었고, 신선란의 형태로 140,030두에 이식되었으며, 118,803개가 동결보존되었다고 하였다. Leibo(1986)의 연구결과를 보면, 476개의 동결수정란을 이식하여 평균 42%의 수태율을 나타냈는데, 등급에 따라 1~2등급의 우수한 수정란의 수태율은 46%, 3등급의 경우는 24%로서 수정란의 질이나 발육단계가 동결·융해후의 수태율에 미치는 영향이 매우 크다고 하였으며, 수

정란 동결·융해에 따라 10~20% 정도의 수정란이 손상을 받는다고 보고하였다

우리나라에서도 1980년대 중반부터는 수정란의 동결시험이 이루어져 국내에서 소에서 채취한 수정란을 동결 보존하였다가 융해하여 이식한 수정란으로 송아지가 생산되기 시작하였다. 회수된 수정란을 체외에서 일정기간 동안 보존하는 기술이 확립되면 별도의 발정주기동기화 과정을 생략할 수 있어 매우 효과적이므로 농가 수준에 산업화할 수 있게 된다. 수정란은 실온이나 저온에서 보존하면 생존율과 수태율이 급격히 저하되기 때문에 동결보존이 최선에 방법이다. 그러나 현재까지의 기술로는 신선 수정란에 비하여 동결보존된 수정란의 생존성과 수태율이 낮다.

수정란 이식에 관하여 많은 연구들이 수행되고 있으나 산업화하기에는 아직 완벽하게 기술체계가 잡혀있지 않으며 동결란의 수태율 저하 이외에도 수정란 이식에 영향을 미치는 많은 요인들이 있다. 특히 한우의 경우 연구성과가 단편적이고 제한적이다.

이에 본 연구는 수정란 이식기술의 체계를 확립하기 위하여 수행하였다

## 재료 및 방법

### 1. 공란우 및 수란우

본 연구에서 공란우 및 수란우는 농협중앙회 가축개량사업소 한우개량부에서 사육하고 있는 한우를 대상으로 하였다.

공란우는 1997년부터 2000년까지 당해년도에 사육중인 암소 모집단 약 1,000여두를 대상으로 6개월 간격으로 종축개량협회 및 한우개량부의 외모심사기준에 준하여 한우로서 결격사유가 없는 암소를 대상으로 자손의 발육성적 및 육종가를 산

정하여 상위 10% 이내의 우량 암소만을 대상으로 하였다. 수정란의 채란은 4년간 연평균 30두 내외의 공란우로부터 총 232회 실시하였다.

수란우는 한우개량부에서 사육중인 한우중에서 도태 예정우를 선발하여 공시하였다. 매 교배기의 수란우 선정은 직장검사를 실시하여 불량한 생식기를 가진 개체나 난소 이상이 발견된 개체는 실험에서 제외시켰다. 1997년 5월부터 2000년 8월까지 매년 100여두 내외의 수란우를 선정하여 총 434두에 수정란을 이식하였다.

### 2. 수정란의 동결 및 융해

수정란의 동결은 이식 가능한 수정란을 이식용 배양액(Agtech, USA)으로 3회 세척한 후, glycerol 이 3%, 6% 및 10% 첨가된 동결용배양액(included with 4mg BSA[fraction-V], 100  $\mu$ g streptomycin, 0.25  $\mu$ g amphotericin-B and 0.02mgkanamycin/ml, pH 7.2 $\pm$ 0.1, Agtech, USA)에 각각 5분간 침지하여 glycerol 평형을 유도한 후 0.25ml 스트로에 Fig. 1 과 같이 충전하였다. 스트로에 충전된 수정란은 곧바로 수정란동결기(Cryopreservation System by Cryologic, programable CL-863, Agtech, USA)에 장착하였다. 수정란동결기는 수정란 장착 전에 동결용 chamber내에 액체질소를 붓고, control box 의 온도 평형을 위해서 약 5분 정도 경과한 후 이용하였다. 수정란동결기의 동결프로그램은 20 $^{\circ}$ C에서 -6 $^{\circ}$ C까지는 3 $^{\circ}$ C/min의 속도로 하였으며, -6 $^{\circ}$ C에서 자동식빙을 위해서 15분간 정치하고, -6 $^{\circ}$ C에서 -32 $^{\circ}$ C까지 0.3 $^{\circ}$ C/min의 속도로, -32 $^{\circ}$ C에서 약 15분간 정치하였으며, 수정란동결기에서 동결과정을 끝낸 뒤에는 액체질소에 침지된 검자 동결기내의 스트로를 하나씩 꺼내 액체질소에 곧바로 넣는 방법으로 실시하였다.

동결수정란의 융해는 액체질소중에 보관중이던

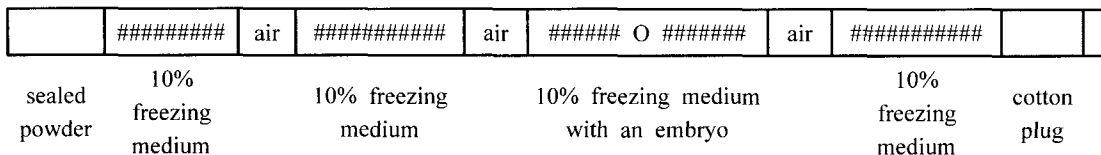


Fig. 1. Shape of loading with the embryo in a 0.25cc straw on freezing.

동결수정란 스트로를 꺼내어 실온에서 약 3초간 정치한 후 30℃의 항온수조에 20초간 침지하였다. 용해된 수정란 스트로는 표면의 수분을 완전히 제거하고, 용해된 수정란을 패트리접시로 밀어내 현미경 하에서 수정란의 상태를 확인한 후, 곧바로 1단계 용해용 배양액으로 옮겨서 약 5분간 정치하는 방법으로 수정란내의 glycerol을 제거하였다. 용해된 수정란은 이식용 배양액으로 옮겨 3회 세척하면서 수정란의 질을 평가하였다.

### 3. 수정란의 이식

수란우는 이식 전일에 난소를 촉진하는 방법으로 발정주기를 확인하고, 그 결과에 따라 이식 여부를 결정하였다. 수란우는 정상 발정주기의 6~9일차의 것을 대상으로 하였고, 대상이 된 소는 황체의 등급에 따라 분류하였는데, 황체의 직경이 1.5cm 이상인 경우를 A등급, 1.5cm 이하인 경우를 B등급, 난포를 동반한 작은 황체조직이 있는 정도를 C등급으로 하였다. 난소의 검사결과 불량한 황체를 지닌 수란우는 이식에서 제외하였다. 이식에 이용된 수정란은 공란우의 체란일별로 신선란 위주로 이식을 실시하였으며, 경우에 따라 동결보존된 수정란을 용해하여 이식하였다. 동결·용해한 수정란은 이식을 위하여 0.25cc 스트로에 Fig. 3과 같이 충전한 후 sheath(21 inch, IMV, French)를 포함한 이식기에 장착하였다. 또한, 질 및 자궁경관 입구 부분에서 문체시 될 수 있는 세균 등의 감염을 방지하기 위하여 슬리브(Oversleeve, IMV)를 사용하였다. 이 때 슬리브는 자궁경관 입구를 통과하는 즉시 벗겨내고, 이식기만 자궁경관을 통과할 수 있도록 유도하여 자궁체를 지나 황체가 존재하

는 쪽의 자궁각 선단부로 최대한 유도한 후 수정란을 주입하였다.

### 4. 임신감정

수란우의 임신감정은 이식 후 90~100일령에 직장검사법으로 실시하였으며, 자궁축진이 불가능한 경우 또는 자궁하수로 인하여 임신자궁을 확인할 수 없는 경우에는 초음파측정기(FHK, Japan)를 이용하여 중자궁동맥의 혈류속도를 측정하여 임신 여부를 확인하였다.

### 5. 통계분석

본 실험의 결과는 SAS통계(1996)의 일반선형모델(GLM; General Linear Model)을 이용하여 분석하였다.

## 결과 및 고찰

### 1. 수란우의 황체등급에 따른 수정란의 이식

수정란이식 전일 수란우의 발정주기를 확인하기 위하여 황체의 상태를 등급별로 조사한 결과는 Table 1과 같다. 황체는 직장검사에 의한 난소촉진으로 황체의 직경이 1.5cm 이상인 경우 A등급, 1.5cm 이하인 경우 B등급 및 난포를 동반한 작은 황체조직이 있는 정도를 C등급으로 분류하여 확인하였다.

즉, 수란우의 발정주기 6~9일령 난소를 확인한 결과 좌측보다 우측 난소에서 훨씬 많은 빈도(R 62.4 : L 37.6)로 배란이 이루어졌음을 확인할 수 있었다.

Table 2은 Table 1를 근거로 수란우에 수정란을

Table 1. The classification type of corpus luteum at normal estrus and ovulation in recipients

Site of ovary	No.(%) of corpus luteum*			Total
	A	B	C	
Right	102 (37.6)	58 (21.4)	111 (41.0)	271 (62.4)
Left	63 (38.7)	35 (21.5)	65 (39.8)	163 (37.6)
Total	165 (38.0)	93 (21.4)	176 (40.6)	

\* Grade of corpus luteum : A( $\geq$ 1.5cm diameter), B( $<$ 1.5cm diameter), C(particle CL with follicles).

Table 2. Effects on pregnancy rate to the corpus luteum location and grade in embryo transfer

Location of CL	Grade of CL*	No. of recipients		Pregnancy rate
		Transferred	Pregnant	
Right	A	102	56	54.9 <sup>a</sup>
	B	58	23	39.7 <sup>b</sup>
	C	111	44	39.6 <sup>b</sup>
	Sub total	271	123	45.3 <sup>b</sup>
Left	A	63	30	47.6 <sup>b</sup>
	B	35	18	51.4 <sup>b</sup>
	C	65	27	41.5 <sup>b</sup>
	Sub total	163	75	46.0
Total		434	198	45.7

\* Grade of corpus luteum : A( $\geq 1.5$ cm diameter), B( $< 1.5$ cm diameter), C(particle CL with follicles).

<sup>ab</sup> Different superscripts within the same column differ significantly ( $P < 0.1$ ).

이식한 결과이다. 수란우의 황체가 우측 난소에 A 등급으로 존재할 때 54.9%로 가장 높은 임신율을 나타냈다. 황체가 우측 난소의 B 및 C등급 그리고 좌측 난소에 존재하는 모든 등급의 황체상태에서는 임신율이 39.6~51.4%로 처리간에 유의성이 인정되지 않는 낮은 성적을 나타냈다. 이에 관한 연구로, Niemann 등(1985)은 수란우의 황체 등급을 조사한 결과 A, B 및 C등급의 경우 각각 54, 42 및 60%의 임신율을 나타내서 처리간에 유의성이 인정되었다고 하여, 본 실험의 결과와 상이한 결과를 나타냈다. 이와 같은 결과를 종합해 볼 때, 황체에서 분비되는 프로게스테론은 자궁의 생리학적 변화와 임신의 유지 및 환경을 제공해 주는 중요한 역할을 하는 것으로 판단되며, 수정란이식 전의 황체 검사는 소의 발정주기를 확인하는 것으로 이식 후 수태율을 향상시킬 수 있는 중요한 요인이라 판단된다.

## 2. 신선 및 동결 수정란의 이식

Table 3는 1997년부터 2000년 6월까지 434두에 신선란 및 동결·융해 수정란을 이식한 결과이다. 총 434두의 수란우 중에서 198두가 임신되어 45.6%의 임신율을 나타냈으며, 동결하지 않은 신선란을 이식한 경우와 동결란을 융해후 이식한 결과는

임신율이 각각 56.2 및 35.0%로 처리간에 유의성 ( $P < 0.01$ )이 매우 높은 차이를 나타냈다. 수정란이식 후 임신률에 관하여 김(1996)은 45.2%, 정 등(1983d)은 48%, Callesen 등(1995)은 46%의 임신률을 보고하였는데 이러한 보고들은 본 실험의 결과와 매우 유사한 것이었다. 신선 수정란의 이식에 관하여는 Leibo(1986)가 476개의 수정란을 이식하여 42%, Farin 등(1999)이 7일령의 신선란을 이식하여 65%, 김(1996)은 63.5%, Elsdon 등(1982)이 74%의 높은 임신률을 보고하고 있어서 본 실험 결과와 비슷한 성적이었다.

동결 수정란의 이식에 관하여는 여러 연구자들이 동결·융해과정에서 수정란이 손상되어 동결란

Table 3. Effects on pregnancy rate in fresh and frozen embryos transfer

Status of embryo	No. of recipients		Pregnancy rate
	Transferred	Pregnant	
Fresh	217	122	56.2 <sup>a</sup>
Frozen	217	76	35.0 <sup>b</sup>
Total	434	198	45.6

<sup>ab</sup> Different superscripts within the same column differ significantly ( $P < 0.01$ ).

이 신선란보다 수태율이 떨어진다고 보고하였는데, Leibo(1986)가 10~20%, Sreenan & Diskin (1987)이 10~40%의 수정란 손상을 보고하고 있다. 한편, Elsdon 등(1982)은 동결속도, 식빙온도, 동결보호제의 농도, 용해속도, 온도, 액체질소 침지시 온도, 수정란의 발육단계 및 동결보호제의 제거 등의 요인이 수태율에 미치는 영향에 관하여 보고하였는데, 가장 중요한 요인으로 수정란의 동결시 수분을 제거하는 과정보다는 용해시 가수과정을 들고 있는 바, 앞으로 수정란 동결에 관하여는 더 많은 연구가 필요하다고 사료된다.

### 3. 수란우의 발정일차에 따른 수정란의 이식

수란우의 동기화 정도 즉, 수정란 이식시 수란우의 발정주기 일차 및 황체의 존재 및 등급 등이 수태율에 미치는 영향을 조사한 결과는 Table 4와 Table 5와 같다.

수란우의 발정주기 일차에 따른 수태율을 조사한 Table 4와 수란우에서 확인된 황체의 등급에 따른 수태율을 조사한 Table 5은 두 가지 요인에 대

한 상호간에 유의성을 검사함으로써 신선 및 동결란의 가장 효과적인 이식시기를 판단하고자 실시한 결과이다. 수란우의 발정일차(6.0~9.0일)에 따라 수정란을 이식한 결과는 신선수정란에서 45.4~65.7%, 동결수정란에서 22.0~50.0%의 임신율을 나타내서 처리간에 유의성이 인정되지 않았다.

동결 여부에 따라서는 신선수정란의 7.5일차 처리가 65.7%의 임신율을 나타냈고, 동결수정란이 6.5일차 처리에서 50.0%로 가장 높은 성적을 나타냈다.

한편, 발정 7.5일차 이상에서 이식할 경우 수태율이 저하되는 것을 확인할 수 있었다. 따라서 동결란은 발정일차가 비교적 빠른 수란우에 이식하는 것이 바람직하다고 판단되었다.

수란우의 황체등급과 수정란의 동결 여부에 따른 임신율은 Table 5과 같다. 신선 및 동결수정란 모두에서 A등급의 황체일 경우가 40.8~67.9%로 B 및 C등급 황체의 25.0~56.0%보다 양호한 성적을 나타냈다. 이와 같은 결과를 종합해서 비교할 때 신선수정란의 경우는 발정 7.5일차, 오른쪽 난

Table 4. Effects on pregnancy rate to the estrus cycle in fresh and frozen embryo transfer

Status of embryo	Day of transfer*	No. of recipients		Pregnancy rate
		Transferred	Pregnant	
Fresh	6.0	19	10	52.6 <sup>a</sup>
	6.5	14	7	50.0 <sup>a</sup>
	7.0	61	32	52.4 <sup>a</sup>
	7.5	38	25	65.7 <sup>a</sup>
	8.0	53	32	60.3 <sup>a</sup>
	8.5	19	9	47.3 <sup>a</sup>
	9.0	11	5	45.4 <sup>a</sup>
Frozen	6.0	5	2	40.0 <sup>b</sup>
	6.5	10	5	50.0 <sup>b</sup>
	7.0	55	25	45.4 <sup>b</sup>
	7.5	50	11	22.0 <sup>b</sup>
	8.0	60	21	35.0 <sup>b</sup>
	8.5	23	9	39.1 <sup>b</sup>
	9.0	10	3	30.0 <sup>b</sup>

\* Interval from estrus to transfer day.

<sup>ab</sup> Different superscripts within the same column differ significantly (P<0.1).

Table 5. Effects on pregnancy rate to corpus luteum location and grade in fresh and frozen embryo transfer

Status of embryo	Corpus luteum		No. of recipients		Pregnancy rate
	Location	Grade	Transferred	Pregnant	
Fresh	Right	A	53	36	67.9 <sup>a</sup>
		B	30	15	50.0 <sup>a</sup>
		C	52	27	51.9 <sup>a</sup>
	Left	A	31	19	61.3 <sup>a</sup>
		B	10	4	40.0 <sup>a</sup>
		C	41	21	51.2 <sup>a</sup>
Frozen	Right	A	49	20	40.8 <sup>b</sup>
		B	28	8	28.6 <sup>b</sup>
		C	24	17	28.8 <sup>b</sup>
	Left	A	32	11	34.4 <sup>b</sup>
		B	25	14	56.0 <sup>b</sup>
		C	24	6	25.0 <sup>b</sup>

<sup>ab</sup> Different superscripts within the same column differ significantly (P<0.1).

소에 황체가 존재하며 A등급일 때 가장 좋을 것으로 판단되며, 동결수정란의 경우는 발정 6.5~7.0 일차에 왼쪽 난소에 황체가 B등급으로 존재할 때 이식한다면 가장 좋은 수태율을 보일 것으로 사료되었다.

4. 수정란의 발육단계, 등급 및 동결 여부에 따른 수정란의 이식

회수된 이식 수정란의 발육단계는 상실배 또는 배반포배로서 A(Excellent), B(Good) 및 C(Fair)등급으로 구분하여 수란우에 이식하였다. 수정란의 발육단계, 등급 및 동결 여부에 따른 수태율은 Table 6과 Table 7에서 보는 바와 같다. Table 6에 의하면 수정란의 발육단계는 수태율을 결정하는데 유의적으로(P<0.05) 작용하는 것으로 분석되었다. 수정란이 질에 따른 이식 결과는 배반포배의 C등

Table 6. Effects on pregnancy rate to development stage and quality in embryo transfer

Stage of Embryo	Quality of Embryo*	No. of recipients		Pregnancy rate
		Transferred	Pregnant	
Morula	A	59	28	47.5 <sup>a</sup>
	B	28	13	46.4 <sup>a</sup>
	C	20	9	45.0 <sup>a</sup>
	Sub total	107	50	46.3
Blastocyst	A	246	120	49.8 <sup>b</sup>
	B	65	26	40.0 <sup>b</sup>
	C	16	2	12.5 <sup>b</sup>
	Sub total	327	148	34.1
Total		434	198	40.2

\* A: excellent, B: good, C: fair

<sup>ab</sup> Different superscripts within the same column differ significantly (P<0.05).

Table 7. Effects on pregnancy rate to development stage by fresh and frozen embryo transfer(P< 0.1)

Status of embryo	Embryo		No. of recipients		Pregnancy rate
	Stage	Grade*	Transferred	Pregnant	
Fresh	Morula	A	30	18	60.0
		B	16	9	56.3
		C	9	5	55.5
		Sub total	55	32	57.2
	Blastocyst	A	120	70	58.3
		B	37	19	51.4
C		5	1	20.0 <sup>a</sup>	
	Sub total	162	90	43.2	
Frozen	Morula	A	29	10	34.5
		B	12	4	33.3
		C	11	4	36.4
		Sub total	52	18	34.7
	Blastocyst	A	126	50	39.7
		B	28	7	25.0
C		11	1	9.1 <sup>b</sup>	
	Sub total	165	58	24.6	
Total			434	198	45.6

\* A: excellent, B: good, C: fair.

<sup>ab</sup> Different superscripts within the same column differ significantly (P<0.1).

급 수정란을 이식하였을 때 12.5%의 수태율을 나타내서 다른 처리군과 유의성(P<0.05)이 인정되는 가장 낮은 성적을 나타냈다. 상실배의 수정란 이식은 수정란의 등급에 관계없이 평균 46.3%로 나타내서 배반포배의 평균 34.1%의 수태율보다 높게 나타났다. 수정란 회수는 배반포배보다 상실배 수정란이 얻어질 수 있도록 회수 일정을 조절하는 것이 좋을 것으로 판단되었다.

또한, Table 7에서는 신선 수정란과 동결수정란의 임신률은 배반포배 신선란의 이식시 20.0%, 동결수정란 이식시 C등급의 경우 9.1%의 수태율로 처리간의 유의성이 인정되는 차이를 나타냈으며, 이는 동결·융해시 많은 손상이 발생된 것으로 내부세포의 수분에 대한 동결전 처리과정에서의 문제점이라 판단된다.

이에 관한 연구로, 김 (1996)은 신선란의 경우 A

및 B등급의 수정란을 이식시 66.4% 및 59.0%의 수태율을, 동결수정란의 경우 43.6% 및 13.4%의 수태율을 나타냈고 C등급의 수정란은 전혀 수태되지 않았다고 하였다. Putney 등(1989)은 상실배 수정란은 22%, 배반포배 수정란은 35.5%의 수태율을, Halley 등(1979)은 상실배 및 배반포배가 각각 23% 및 57%의 수태율을 나타냈다고 하였다. 한편, Elsdon(1982)은 7일령에 수정란을 회수한 결과 대부분이 배반포기 단계였으며, 수정란 이식에서 상실배기보다는 배반포 단계가 수태율이 높았다고 보고(Linder & Wright, 1983; Hasler 등, 1987; Looney 등, 1984)하고 있는데 이는 본 실험과는 다소 차이가 있는 결과였다. 또한, Schneider 등(1980)의 상실배와 배반포배 수정란 간에 이식후 수태율은 유의성이 인정되지 않는 차이를 나타냈다고 하였다. 이러한 결과를 종합하여 볼 때 저자는 수정란



이식시 수정란의 발육단계를 고려하여 이식하는 것이 수태율을 높일 수 있다는 결론을 얻을 수 있었다. Misra 등(1999)은 수정란의 등급에 따른 수태율이 1 및 3등급에서 각각 60% 및 13.9%로 유의적인 차이를 보이고 있고, Farin 등(1999)은 7일령의 신선란을 위주로 수정란 질을 1, 2 및 3등급으로 구분하여 이식한 결과 각각 76%, 65% 및 54%의 수태율을 나타냈다고 보고하고 있다. Takeda 등(1986)은 710개의 1 및 2등급 수정란을 이식한 결과 79%의 높은 임신률을 보였다고 보고하고 있다.

### 적 요

본 연구는 기존의 수정란 이식기술을 다각적으로 분석하고 개선하여 한우 체내수정란의 생산 및 이식기술 체계를 확립하기 위하여 수행하였다. 수정란의 생산 및 이식은 농협중앙회 가축개량사업소 한우개량부에서 사용하고 있는 공란우 232두와 수란우 434두를 이용하여 실시하였다. 본 연구에서 얻어진 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 수란우의 황체 위치와 등급에 따라 수정란 이식을 실시한 결과는 오른쪽 난소의 A등급 황체, 왼쪽 난소의 B등급 황체가 존재할 경우가 유의적( $P<0.1$ )으로 높은 수태율을 나타냈다.
2. 동결수정란을 이식했을 때의 수태율은 35.0%로서 신선수정란의 수태율 56.2%에 비하여 유의( $P<0.01$ )하게 낮았다.
3. 수란우의 발정일차(6.0~9.0일)에 따라 수정란을 이식한 결과는 신선수정란에서 45.4~65.7%, 동결수정란에서 22.0~50.0%의 임신율을 나타내서 처리간에 유의성이 인정되지 않았다.
4. 수란우의 황체등급과 수정란의 동결 여부에 따른 임신율은 신선 및 동결수정란 모두에서 A등급의 황체일 경우가 40.8~67.9%로 B 및 C등급 황체의 25.0~56.0%보다 양호한 성적을 나타냈다.
5. 수정란의 발육단계 및 등급에 따라서 이식한 결과는 상실배의 이식이 수정란의 등급에 관계없이 평균 46.3%의 임신율을 나타내어서 배반포배 이식의 34.1%보다 높게 나타났다.

### 참고문헌

- Armstrong DT and Evans G. 1983. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats. *Theriogenology*, 19:31-42.
- Broadbent PJ. 1992. Featured article: Management of bovine embryo transfer recipients. *Embryo Transfer Newsletter*, 10(4):18-24.
- Carvalho RV, Delcampo MR, Palasz AT, Plante Y and Mapeletoft RJ. 1996. Survival rates and sex ratio of bovine IVF embryos frozen at different development stages on Day 7. *Theriogenology*, 45:489-498.
- Cseh S, Kreysing U, Lucas-Hah A and Niemann H. 1995. Direct rehydration of IVM, IVF, and IVC bovine embryos frozen in ethylene-glycol. *Theriogenology*, 43:190(abstr.).
- Day BN. 1979. Embryo transfer swine. *Theriogenology*, 11:27-31.
- Delcampo MR, Donoso MX, Palasz A, Garcia TA and Mapeletoft RJ. 1993. The effect of days in co-culture on survival of deep frozen bovine IVF blastocysts. *Theriogenology*, 39:208(abstr.).
- Dinnyes A, Carolan C, Loneragan P, Solti L, Massip A and Mermillod P. 1995. *In vitro* survival of *in vitro* produced(IVP) bovine embryos frozen or vitrified by techniques suitable for direct transfer. *Theriogenology*, 43:197(abstr.).
- Donaldson LE. 1985. Matching of embryo stages and grade with recipient oestrous synchrony in bovine embryo transfer. *Vet. Rec.*, 19:489-491.
- Drost M, Brand A and Aarts MH. 1976. A device for nonsurgical recovery of bovine embryos. *Theriogenology*, 6:503-512.
- Elsden RP. 1992. Corpus lutea and pregnancy rates. *Embryo Transfer Newsletter*, 8(3):11.
- Elsden RP, Seidel GE Jr, Takeda T and Farrand GD. 1982. Field experiments with frozen-thawed bovine embryos transferred nonsurgically. *Theriogenology*, 17:1-10.

- Elsden RP, Harler JF and Seidel GE Jr. 1976. Non-surgical recovery of bovine eggs. *Theriogenology*, 6:523-532.
- Gibson JP and Smiyh C. 1986. Technology and animal breeding ; Application in livestock production. 3rd world Cong. on genetics Applied to Livestock Prod., 12:96-105.
- Goldkin AM, Leslie KE, Wain GM and Leslie BE. 1987. Factors affecting pregnancy rate following non-surgical transfer of frozen bovine embryos. *Theriogenology*, 27:230 (abstr.).
- Gustafsson H. 1985. Characteristics of embryos from repeated breeder and virgin heifers. *Theriogenology*, 23:487.
- Halley SM, Rhodes RC III, Mckellar LD and Randel RD. 1979. Successful superovulation, nonsurgical collection and transfer of embryos from Brahman cows. *Theriogenology*, 17:97-108.
- Han YM, Yamashina H, Koyama N, Lee KK and Fukui Y. 1994. Effects of quality and development stage on the survival of IVF- derived bovine blastocysts cultured *in vitro* after freezing and thawing. *Theriogenology*, 42:645-654.
- Hanrahan JP and Quirke JF. Variation in embryo survival among donor ewes. (Cited by) Sreenan JM and Diskin MG. 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in cow. *Theriogenology*, 27:99-113.
- Hasler JF. 1992. Current status and potential of embryo transfer and reproductive technology in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, 75:2857-2879.
- Hasler JF, McCauley AD, Lathrop WF and Foote RH. 1987. Effect of donor-embryo- recipient interactions on pregnancy rate in a large-scale bovine embryo transfer program. *Theriogenology*, 27:139-168.
- Hillery FL, Parrish JJ and First NL. 1990. Bull specific effect on fertilization and embryo development *in vitro*. *Theriogenology*, 33:249 (abstr.).
- Kanagawa H, Takahashi Y, Inoue T and Fukui Y. 1993. *Bovine Embryo Transfer*. 2nd ed. Kanagawa. H. ed. Japan International Cooperation Agency. Tohoku Branch.
- King WA. 1985. Intrinsic embryonic factors that may affect survival after transfer. *Theriogenology*, 23:587.
- Kinney GM. 1979. Surgical collection and transfer of canine embryo. *Biol. Reprod.*, 20 (suppl. 1): 964.
- King WA and Picard L. 1985. Haploid in preattachment bovine embryos. (Cited by) King WA. Intrinsic embryonic factors that may affect survival after transfer. *Theriogenology*, 23:161-174.
- Lars Gjol christensen. 1991. Use of embryo transfer in future cattle breeding schemes. *Theriogenology*, 35:141-149.
- Leibo S. 1986. Commercial production of pregnancies from one-step diluted frozen- thawed bovine embryos. *Theriogenology*, 25:166 (abstr.).
- Leibo SP and Winninger D. 1986. Production of bovine pregnancies from embryos transported at 0°C by air. *Theriogenology*, 25:165(abstr.).
- Lohuis MM. 1997. Strategy for dairy cattle improvement utilizing MOET in Canada. *Anim. Genetic and Breeding*, 1:224-226.
- 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 in cattle. *Theriogenology*, 21:246(abstr.).
- Misra AK, Mutha Rao M, Jairaj R, Ranga Reddy NS and Pant HC 1999. Factors affecting pregnancy rate following nonsurgical embryo transfer in buffalo(*Bubalis bubalis*): A retrospective study. *Theriogenology*, 52:1-10.
- Mutter LR. 1964. Successful non surgical bovine embryo transfer. *A. I. Digest*, 12:30.
- Newcomb R and Rowson LEA. 1975. Conception rate after uterine transfer of cow eggs in

- relation to synchronization of oestrus and age of eggs. J. Reprod. Fertil., 45:539-541.
- Niemann H, Tenhumberg 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.
- Putney DJ, Drost M and Thatcher WW. 1989. Influence of summer heat stress on pregnancy rates of lactating dairy cattle following embryo transfer or artificial insemination. Theriogenology, 30:905-922.
- Rowson LEA, Lawson RAS and Moor RM. 1971. Production of twins in cattle by egg transfer. J. Reprod. Fertil., 25:261-268.
- Ruane J. 1988. Review of the use of embryo transfer in the genetic improvement of dairy cattle. Anim. Breed., 56:437-446.
- SAS Statistical Analysis System. SAS/STAT User's Guide, Release 6.03. Cary NC:SAS Institute Inc, 1988.
- Schiewe MC, Looney CR, Johnson CA, Hill KG and Godke RA. 1987. Transferable embryo recovery rates following different insemination schedules. Theriogenology, 27:33-39.
- Schiewe MC, Bush M, Stuart LS and Wildt DR. 1984. Laparoscopic embryo transfer in domestic sheep : A preliminary study. Theriogenology, 22:675-682.
- Schneider HJ Jr, Castleberry RS and Griffin JL. 1980. Commercial aspects of bovine embryo transfer. Theriogenology, 15:43-56.
- Schriver GM and Kraemer DC. 1978. Embryo transfer in the domestic feline. Am. Assoc. Lab. Anim. Sci., 78:4-12.
- Seidel GE Jr. 1991. Embryo transfer: The next 100 years. Theriogenology, 35:171-180.
- Seidel GE. 1980. Critical review of embryo transfer procedures with cattle. Fert. and Embryo Develop. Plenum Press. 323-353.
- Sreenan JM and Diskin MG. 1987. Factors affecting pregnancy rate following embryo transfer in the cow. Theriogenology, 27:99-113.
- Suzuki T, Takagi M, Yamamoto M, Boediono A, Saha S, Sakakibara H and Oe M. 1993. Pregnancy rate and survival in culture of *in vitro* fertilized bovine embryos frozen in various cryoprotectant and thawed using a one-step system. Theriogenology, 40:651-659.
- Takagi M, Otoi T, Boediono A, Saha S and Suzuki T. 1994. Vivality of frozen-thawed bovine IVM /IVF embryos in relation to aging using various cryoprotectants. Theriogenology, 41:915-921.
- Tervit HR, Havik PP G and JF. 1977. Smith Egg transfer in cattle: Pregnancy rate following transfer to the uterine horn ipsilateral or contralateral to the functional corpus luteum. Theriogenology, 7:3-10.
- Thonon F, Lens H, Touati K, Ectors FJ, Delva A, Beckers JF and Ectors F. 1995. A stepwise procedure for cryoprotectant equilibration improves the survival rate after thawing of *in vitro* produced embryos. Theriogenology, 43:338(abstr.).
- Voelkel SA and Hu YX. 1992. Direct transfer of frozen-thawed bovine embryos. Theriogenology, 37:23-37.
- Wright JM. 1985. Commercial freezing of bovine embryos in straws. Theriogenology, 23:17-29.
- Zhang BR, Larsson B, Lundeheim N and Rodriguez-Martinez. 1997. Relationship between embryo development *in vitro* and 56-day non-return rates of cows inseminated with frozen-thawed semen from dairy bulls. Theriogenology, 48:221-231.
- 김홍률. 1996. 한우의 체내 및 체외 수정란 생산과 이식에 관한 연구. 중앙대학교 박사학위논문.
- 남상헌, 양부근, 성홍용, 고광두, 김정익. 1985. 우 수정란의 동결보존에 관한 연구. I. 성선자극 호르몬과 PGF<sub>2</sub>α의 투여에 따른 난소 반응. 한국가축연구회보, 9(1):31-35.
- 정길생, 윤종삼, 이훈택, 유승환, 김정익. 1993. 수정란이식에 의한 소의 쌍태유기에 관한 연구,

- 한축지, 25:424-429.
- 양보석, 오성종, 유승환, 김희석, 정연후, 이근상. 1988. 한우에 있어서 다배란의 반복처리 및 동결수정란의 이식에 관한 연구. 한국수정란이식 연구회지, 3:38-42.
- 양보석. 1994. 체내 및 체외 소 수정란의 임신률에 미치는 요인에 관한 연구. 서울대학교 박사학위 논문.
- 원유석. 1999. 한우의 최적 육종계획 수립에 관한 연구; 새로운 육종기법에 관한 연구. 충북대학교 박사학위 논문.
- 정길생, 정병헌, 노환철, 윤종삼, 정태영. 1983d. 수정란 이식에 의한 우의 쌍태유기에 관한 연구. VI. 회수된 수정란의 형태학적 고찰. 한축지, 25:413-417.
- 
- (접수일: 2002. 1. 14/ 채택일: 2002. 3. 29)