

## 자연배란된 처녀우와 경산우로부터 비외과적으로 회수한 수정란의 발육단계에 관한 연구

정구민 · 김종국 · 임경순  
서울대학교 농과대학

## A Study on the Stage of Embryos Non-Surgically Recovered from Heifers and Cows in Natural Heat

K. M. Chung, J. K. Kim and K. S. Im

*College of Agriculture, Seoul National University, Suwon.*

### Summary

Total thirty of flushing were attempted on day 4 to 15 of estrus cycle with 5 heifers and 9 cows by non-surgical method.

The flushed or recovered rate among flushings was 86.7% (26/30) or 88.5% (23/26), respectively. There was no difference in the recovered rate between heifers (85.7%, 6/7) and cows (89.5%, 17/19). The embryo was recovered on day 4 to 15 of estrus cycle from the donors in natural heat without any technical difficulties. The 12FG Foley catheter used for pubertal heifers had sometimes plug in it with uterine mucus during flushing of uterine horn. But the problem could be overcome by pumping the catheter with flushing solution or by changing the catheter. Three normal embryos were recovered from 3 pubertal (10-11 month old) heifers.

The rate of normal and abnormal eggs was 60.9% (14/23) and 39.1% (9/23), respectively. The abnormal eggs were on degenerating except one unfertilized egg and were mostly recovered from heifers or cows flushed consecutively during the estrus cycle.

The developmental states of normal embryos were 16-cells on day 5, 32-cells on day 6, compacted-morula on day 7, early-to expanded-blastocyst on day 8 to 9, and hatching-to hatched-blastocyst on day 10 to 11 of estrus cycle. The stage of embryos on day 8 to 10 showed varieties among donors. On day 8 to 9 of estrus cycle hatching-blastocyst was recovered from some donors.

### 서 론

우리나라에서 수정란이식에 의한 소의 유전적개량은 육우에서 성정숙시 체중이 매년 19.25kg, 젖소에서 비유량이 매년 155.7kg씩 증가시킬 수 있음이 통계적방법에 의해 추정된바 있다(정등, 1986). 그리고 소의 수정란이식에 관한 연구는 국내에서 대학, 연구소 및 개인기업복합 등에서 기술의 개발과 정착, 나아가서 실질적인 가축개량을 위해서 수년간 진행되어 왔다. 그 결과 약 200여두의 종아지가 수정란이식에 의해 생산된 것으로 추산되었다

(김등, 1988). 한편 성선자극호르몬 처리에 따른 개체(고등, 1981; 정등, 1982; 임등, 1983; 김등, 1986; 양등, 1988; 권, 1988)와 연령(정등, 1983; 정등, 1988)에 있어서 난소반응의 변이가 심하고 수정란의 회수율과 이식 가능한 수정의 비율이 저조하며 호르몬이 비싼것이 문제점으로 지적되고 있다(구와 정, 1982; 임등, 1983; 노등, 1988). 이러한 문제점은 회수율과 이식 가능한 수정란의 비율(김등, 1988)에서 다소 개선되었지만, 근본적인 문제점으로 남아 있다.

따라서 본 연구에서 과배란처리의 프로그램을 타

피하여, 자연발정주기가 반복되는 개체로부터 수정란을 회수하여 그 효율성을 검토하였다.

### 재료 및 방법

본 연구는 1982. 10~1983. 10과 1985. 3~1986. 3에 본 대학 부속목장에서 사육한 10~14개월령 처녀우 5 두와 3~10세 경산우 9 두의 한우와 홀스타인 젖소를 공시하였다. 한 개체당 1~3회, 총 30회의 수정란 회수작업을 실시하였다.

정상적인 발정주기가 1회 이상 반복된 개체를 선정하여 발정 개시 후 12시간 간격으로 홀스타인은 일광수정, 한우는 자연교배를 각각 2회 실시하였다. 수정란은 발정개시 후 4~15일에 비외과적방법(정, 1984)으로 배란된 쪽의 자궁각을 관류하여 회수하였다. 채란기: 일체용 Foley catheter를 Y자-관에 연결하여 사용하였으며, 처녀우는 12모는 14개까지 그리고 경산우는 16 또는 18개까지의 채란기를 사용하였다. 관류액은 인산완충액 (d-PBS; Difco, 미국)에 0.2% 소원정알부민(Fraction V,

Table 1. Potentiality of flushing and embryo recovery from heifers and cows in natural heat

	Percentage		
	Heifers	Cows	Total
Flushed	77.8 (7/9)	90.5 (19/21)	86.7 (26/31) <sup>1</sup>
Recovered	85.7 (6/7)	89.5 (17/19)	88.5 (23/26) <sup>2</sup>

1: Cow flushed/cow operated.

2: Cow flushed with embryo/cow flushed.

Table 2. Embryo recovery on day 4 to 15 of estrus cycle

	Day of estrus											Total
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	15		
Operated	2	2	3	5	7	3	2	3	1	2	30	
Flushed	2	2	2	4	6	2	2	3	1	2	26	
Recovered	1	2	2	3	6	2	2	3	1	1	23	

Table 3. Morphology of embryos recovered from heifers and cows in natural heat

No. of embryos evaluated	No. (%) of normal embryos	No. (%) of abnormal embryos	
		Degenerated	Non-fertilized
23	14 (60.9)	8 (34.8)	1 (4.3)

Table 4. Stage of embryos recovered on days of estrus cycle

Evaluation	Morula			Blastocyst					
	EAR	MID	TIG	EAR	MID	EXP	HTG	HTD	ELG
No. of embryos	1	2	2	1	1	1	4	1	1
Days of estrus	5	6,7	7,8	9	8	9	8-11	11	15

EAR=early, MID=middle, TIG=tight, EXP=expanded, HTG=hatching, HTD=hatched, ELG=elongated.

Sigma)을 첨가하였으며 pH는 7.2~7.4, 삼투압은 280~290mOsm/kg으로 조절하였다.

자궁각은 관류액으로 5~7회 세척(총 350±50ml)하였으며, 관류액을 여과 또는 침전(정, 1984; 김, 1986)시킨후 수정란을 실험 현미경하에서 검경하였다. 수정란의 발생단계는 광학현미경(200~400X)하에서 관찰하여 최종 판정을 내렸다.

## 결 과

총 30회의 난자회수 시술을 실시하여 26회에서 자궁세척이 가능하고 시술 성공율은 86.7%였으며, 난자가 회수된 시술은 26회 중 23회로써 난자회수 성공율은 86.7%를 나타냈다(Table 1). 저너우와 경산우에서 시술 성공율은 각각 77.8%(7/9)와 90.5%(19/21), 난자회수 성공율은 각각 85.7%(6/7)와 89.5%(17/19)로 저너우와 경산우간에 유의한 차이가 없었으나( $P > 0.05$ ) 간혹 저너우에서 자궁경관의 협소와 자궁점액에 의해 채란기가 막히는 일로 시술과 난자회수에 어려움이 있었다. 저너우에서는 14FG Foley catheter가 주로 사용되었지만, 자궁경관의 매우 협소한 경우에는 12FG가 사용되었는데 이때는 자궁점액에 의해 채란기가 가끔 막히는 경우가 있었다. 이런 경우에 세척액으로 킴핑을 하거나 또는 채란기를 교환함으로써 자궁세척이 가능하였다.

발정개시 후 4~15일에 난자를 회수한 결과는 Table 2와 같다.(4, 7 및 15일을 제외하고는) 모든 시기에서 난자가 회수되었다. 일반적으로 발정개시 후 시일이 경과할수록 자궁경관의 폐쇄로 채란기의 수입이 어려워지는 것으로 인식되었지만, 본 연구에서는 발정 후 10~15일에도 경산우에서 채란기의 수입이 모두 가능하였다.

회수된 난자의 형태는 Table 3과 같다. 정상인 난자와 비정상인 난자의 비율은 각각 60.9%(14/23)와 39.1%(9/23)였다. 비정상인 난자는 1개의 미수정란을 제외하고는 모든 퇴행란이었다. 퇴행란은 특정한 발정수기를 건너뛰지 않고 연속해서 채란한 저너우 또는 경산우에서 주로 나타났다. 따라서 자연배란우에서 채란한 수기를 건너뛴으로 정상인 수정란을 회수할 수 있을 것으로 시사된 정상인 수정란은 할구와 투명대의 색과 모양이 파배

란처리에서 회수된 수정란(정, 1984; 김, 1986)보다도 더욱 깨끗하고 광택이 있었다.

발정시기에 따른 수정란의 발생단계는 Table 4와 같다. 발정개시 후 5일째는 16-세포, 6일째는 32-세포, 7일째는 32-또는 64-세포, 8일째는 후기 상질배 또는 부화중 배반포, 9일째는 초기배반포-부화중 배반포, 10일째는 부화중 배반포, 11일째는 부화한 배반포 그리고 15일째는 타원형의 부화한 배반포가 각각 회수되었다. 발정 개시 후 5~7일에는 상질배, 8~9일에는 초기-켄윤 배반포, 9~11일에는 켄윤-부화한 배반포의 범위에서 발생이 진행되었다. 그러나 1두의 경산우에서는 8일째에 부화중인 배반포가 회수되었다.

## 고 찰

자연 발정한 소로부터 난자를 회수코자하는 시도는 70년 후반에 파배란 처리법이 개발되는 과정에서 일부 연구자에 의해 실시된 바 있다. 자연 발정한 소로부터의 난자의 회수 성공율은 Elsdon 등(1976)이 71%(36/51), Rowe 등(1976)이 70%(7/10) 그리고 Shelton 등(1979)이 72%(63/93)로 연구자간에 차이가 없었다.

본 연구에서 자연 발정한 소에서의 난자의 회수 성공율은 88.5%(23/26)로 반복 파배란 처리한 경산우로부터의 난자의 회수율 33.3%(48/144)(임등; 1984) 미성숙 및 성숙 저너우에서 파배란 처리 후 회수율 73.6%와 70.1%(임등, 1986) 보다도 현저히 높았다. Rowe 등(1976)도 난자 회수의 성공율은 파배란보다는 자연배란(54% : 70%)에서 높다고 보고하였다. 이러한 여러 연구자의 결과를 미루어 볼 때 자연배란된 난자는 회수가 용이할뿐만 아니라 개체간에 변이가 매우 적은 것으로 간주할 수 있다. 실질적으로 자연발정우에서의 난자의 채란은 채란, 시술에 요하는 시간, 경비 및 노동을 파배란우에서 보다 현저하게 절감할 수 있을 뿐만 아니라, 현미경하에서 난자를 검경할 때도 세척액에 침전된 이물질(자궁점액, 조직파편)이 적으므로 난자를 매우 빨리 찾을 수 있다(정, 1984).

본 연구에서 자연배란한 소에서 난자를 채란한 결과 관류성공율과 채란성공율은 저너우와 경산우간에 유의한 차이가 없었다. 그러나 파배란 처리시

에는 경산우가 처너우보다 난자의 회수율이 높다는 보고가 있으며 (Ayalon 등, 1976; Brand 등, 1978; 정 등, 1983), 한편 과배란 처리에서 미성숙 및 성숙 처너우간에 난자회수율의 차이가 없다는 보고도 있다 (임 등, 1986). 이러한 상반된 결과가 제란 방법, 과배란 처리시 호르몬의 종류, 투여량 및 품종 등에 기인하는지는 명확하지 않다. 본 연구에서 처너우는 자궁각이 경산우보다 적어 과유배으로부터 난자의 검경이 용이한 편이었다. 제란시기별 난자회수의 나이브와 회수율은 본 연구에서 발정개시 후 4~15일에 차이가 없었다. 수정란이 착상임에 있어서 난자의 회수율은 발정개시 후 7~8일에 주로 실시되므로 발정개시 후 7일 이전과 8일 이후의 난자회수에 관한 보고는 거의 없는 실정이다.

본 연구에서 회수된 난자의 발달상태는 정상발육란이 60.9%로 비정상란의 비율이 매우 높았을 때에는 제란후 한 발정주기를 뛰우지 않고 연속해서 2~3회 반복 제란한 개체에서 퇴행란의 발생 빈도가 높았던데 그 원인이 있었다고 생각된다. Shelton 등 (1979)은 자연배란된 난자의 수정율은 91.6% (61/67)였으며, 개체당 1~10회 반복 제란하였을 때 수정율이 저하하지 않았다고 보고하였다.

제란 시기와 수정란의 발생단계에 있어서 임 등 (1983)은 과배란 처리 후 6~7일에 한우보다는 홀스타인에서 수정란의 발달이 다소 빨리 진행되었으며, 한우에 있어서 과배란처리시 보다 자연배란된 난자가 발생이 다소 늦었다고 보고하였다. 또한 Hamilton과 Laing (1946)은 수정란의 상질배화는 발정 후 5~6일에 시작되며, Winters 등 (1942)은 포배강의 형성은 수정 후 6일부터 시작된다고 보고하였다. 본 연구에서는 제란시기와 난자의 발생단계가 일치하지는 않았다. 즉 발정 후 6~7일에는 상질배가 회수되었지만, 8일째는 개체간의 변이가 심하여 상질배, 팽윤한 배반포 또는 부화중인 배반포도 회수되었다. 9일째도 여러단계의 배반포가 회수되었다. 그러나 10~11일에는 부화중이거나 부화한 배반포만 회수되었다. 이러한 변이가 정확히 어디에서 기인하는지는 분석되지 않았지만, 개체간의 배란시간의 차이 또는 수정란의 발생속도의 차이에서 기인한 것으로 생각된다. 따라서 광란우로 자연배란우를 이용할 때 수란우와의 발정동기화에 있어서 이러한 변이를 극복하는 것은 매우 중요하다.

발정동기화가 1/2~1일의 차이를 보일 때 수정율이 저하된다는 사실은 국내의 연구자에 의해 이미 밝혀진 바 있다 (Rowson, 1972; Nelson 등, 1979; Wright 등, 1981; 김 등, 1986).

이상의 사실들을 종합할 때 자연배란된 난자의 회수와 수정란의 발달상태는 매우 양호하므로 그 효율적인 이용성이 기대된다. 특히 과배란 처리가 부적합한 개체나 집단에서 이 방법의 실패는 개체개량의 효율성을 증대시킬 수 있을 것으로 생각된다.

## 적 요

한우와 홀스타인 14두 (처너우 5두, 경산우 9두)에서 자연발정후 4~15일에 비외과적으로 총 30회 제란을 실시하였다.

관류 성공률은 86.7% (26/30)였으며, 이중 난자 회수 성공률은 88.5% (23/26)였는데 처너우 (85.7%, 6/7)와 경산우 (89.5%, 17/19)간에는 유의한 차이가 없었다 ( $P > 0.05$ ).

미성숙 처너우 (홀스타인, 10~11개월) 3두에서도 정상적으로 발육한 상질배가 회수되었다. 한편 발정개시 후 4~15일에 난자의 회수가 가능하였고, 이 기간에 제란시술의 나이브는 비슷하였다. 회수한 난자중 정상인 수정란의 비율은 60.9% (14/23)였다. 비정상인 난자는 미수정란 1개를 제외하고는 모두 퇴행란으로 2회 연속 제란된 처너우 또는 경산우에서 많았다.

정상란의 발생단계는 발정개시 후 5일에 16세포, 6일에 32세포, 7일에 후기 상질배, 8~9일에 초기 및 팽윤-배반포 그리고 10~11일에 부화중 및 부화한 배반포였다. 발생단계는 발정 8~9일 사이에 개체간이 변이가 가장 심하였다. 발정 8~9일에 이미 부화중인 배반포가 특정개체에서 회수되었다.

## 참 고 문 헌

- Ayalon N Krieger, Y and Lewis, I. 1976. Nonsurgical recovery of late blastocysts in cow. Proc. 8th Int. Congr. Anim. reprod. A.I. Krakow., 3: 233-236.
- Bindon BM, Piper LR, Chill LP, Driacourt MA and

- O'Shea T. 1986. Genetic and hormonal factors affecting superovulation. *Theriogenology*, 25: 53-70.
- Brand A, Trouson AO, Art MH, Drost M and Zaayer D. 1978. Superovulation on nonsurgical embryo recovery in the lactating dairy cow. *Anim. Prod.*, 26: 55-60.
- Elsden RP, Hasler JF and Seidel GE, Jr. 1976. Non-Surgical recovery of bovine eggs. *Theriogenology*, 6: 523-532.
- Hamilton, W.J. and J.A. Laing. 1946. *J. Anat.* 80: 194.
- Rowe RF, DelCampo NR, Eilts CL, French LR, Winch RP and Gintherb OJ, 1976. A single cannula technique for nonsurgical collection of ova from cattle. *Theriogenology*, 6: 471-483.
- Shelton JN, Heath TD, Old KG and Turnbull GE, 1976. Non-surgical recovery of eggs from single-ovulating bovines. *Theriogenology*, 11: 149-152.
- Winters LM, 1951. Green WW and Comstock RE, 1942. *Minnesota Agric. Exp. Stn Tech. Bull.* 151.
- Wright JM, 1981. Non-surgical embryo transfer in cattle: Embryo-recipie: interactions. *Theriogenology*, 15: 43.
- 고광두, 정길생, 이기만. 1981. 한우의 수정란이식에 관한 연구. 제 2 보. GTH와 PGF2 투여에 따른 난소반응. *한축지*, 23 : 322-330.
- 구자홍, 정광국. 1982. 젖소의 비수술적 수정란 회수 및 이식실험. *대한수의사회지*, 18 : 45.
- 원오경. 1988. 소의 과잉배란성숙에 영향을 미치는 몇가지 요인. *한국수정란이식연구회지*, 3 : 1-5.
- 김종국, 정구민, 임경순, 이용빈. 1988. 미성숙 및 성숙 경산우의 다배란처리가 난소반응, 수정란 생산 및 수태에 미치는 영향. *한축지*, 30 : 276-284.
- 김희석, 오성종, 양보석, 유승환, 김종국, 백순용, 이근상. 1986. 소의 다배란유기 및 수정란이식에 관한 연구. *한국수정란이식연구회지*, 1 : 69-75.
- 김희석, 오성종, 양보석, 이근상, 임경순. 1988. 소 수정란이식에 관한 연구 : 수정란의 채란 및 이식에 관한 연구. *축산시험 연구보고서*, 64-68.
- 노화철, 정광업, 신규용, 정병현, 박운화, 정길생, 1988. 우 동결수정란의 산업적 이용에 관한 연구. *한축지*, 30 : 151-159.
- 임경순, 이용빈, 정구민. 1983. 소에 있어서 비외과적방법에 의한 수정란의 채란기술 개발에 관한 연구. *한축지*, 25 : 244-254.
- 임경순, 이용빈, 정구민. 1984. 소의 수정란이식에 관한 연구. *서울대학교 농학연구*, 9(별책) : 83-94.
- 양보석, 오성종, 유승환, 김희석, 정연후, 이근상. 1988. 한우에 있어서 다배란의 반복 처리 및 동결수정란이식에 관한 연구. *한국수정란이식연구회지*, 3 : 38-42.
- 정길생, 이훈택, 정병현, 유승환, 나진수. 1982. 수정란이식에 의한 소의 쌍태유기에 관한 연구. I. 성선자극호르몬에 의한 난소반응에 영향을 미치는 요인. *한축지*, 25 : 205-209.
- 정길생, 이훈택, 박흠태, 정병현, 유승환. 1983. 수정란이식에 의한 소의 쌍태유기에 관한 연구. III. 수정란의 비외과적회수. *한축지*, 25-408-412.
- 정진관, 임경순, 박영일, 오봉국. 1986. 수정란이식에 의한 소의 유전적 개량량. *한축지*, 28 : 396-399.