

## 체내 또는 체외에서 생산된 한우 수정란을 젖소 수란우에 이식한 결과

김용준<sup>1\*</sup>, 박훈<sup>1</sup>, 이해리<sup>2</sup>, 신동수<sup>2</sup>, 조성우<sup>2</sup>, 김용수<sup>2</sup>, 김수희<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>전북대학교 수의과대학, <sup>2</sup>전라북도 축산위생연구소 종축시험소

### Results of Embryo Transfer with Hanwoo Embryos Produced *In-Vivo* or *In-Vitro* to Holstein Cows as Recipients

Yong-Jun Kim<sup>1\*</sup>, Hoon Park<sup>1</sup>, Hae-Lee Lee<sup>2</sup>, Dong-Su Shin<sup>2</sup>, Sung-Woo Jo<sup>2</sup>,  
Yong-Su Kim<sup>2</sup> and Sue-Hee Kim<sup>1</sup>

<sup>1</sup>College of Veterinary Medicine, Chonbuk National University  
<sup>2</sup>Livestock Breeding Station, Jeonbuk Livestock Development & Research Institute

#### ABSTRACT

This study was performed to investigate the result that *in-vivo* or *in-vitro* embryos of Hanwoo cows were transferred to Holstein cows. Seventeen Hanwoo cows were used as donors for production of *in-vivo* embryos and fresh hanwoo *in-vivo* embryos were transferred to 1,150 Holsteins. And 2 embryos were transferred to 188 Holstein recipients to produce twin calves. Diagnosis on pregnancy was performed by rectal palpation at 60~90 days after transfer.

The pregnancy rate of Holstein recipients was 55.8% after transfer with Hanwoo *in-vivo* embryos and 38.2% after transfer with Hanwoo *in-vitro* embryos. The delivery rate of pregnant Holstein recipients was 88.4% after transfer with Hanwoo *in-vivo* embryos and 75.6% after transfer with Hanwoo *in-vitro* embryos. The rate of delivery of Holstein recipients transferred with two Hanwoo embryos was 36.2% and the rate of twin production was 25.9%. The rate of twin production by embryo transfer with *in-vivo* embryos was 30.4%, whereas the fate with *in-vitro* embryos was 15.6%. The pregnancy rate according to the grade of corpus luteum of Holstein recipients transferred with Hanwoo *in-vitro* embryos was 41.5 and 36.0% for A and B grade, respectively. The pregnancy rate according to the transfer in site in the uterine lumen of recipients was 40.9 and 32.7% for anterior and middle site, respectively. The pregnancy rate according to day of embryo transfer after estrus of recipients was 45.5, 38.8 and 39.7% for day 6, day 7 and day 8, respectively.

There was difference of pregnancy rate according embryo transfer technician (30.5~45.8%) individual dairy farm (21.1~51.0%). These results are supposed to indicate that the rate of pregnancy after transfer with Hanwoo embryos to Holstein recipients was similar to that within the same breed, and consequently that this method would be beneficial to enhance the productivity in Hanwoo reproduction.

(Key words : Hanwoo, embryo transfer, pregnancy rate, *in-vivo*, *in-vitro*)

#### 서 론

현재 한우와 젖소에서 고급육 생산 및 유즙 생산 능력이 높은 고능력우의 집중 생산 또는 생산을 증대시키는 것은 축산업의 발전을 도모함과 동시에 국가 경쟁력을 제고시킬 수 있으므로 그 중요성이 매우 크다고 하겠다. 특히 이 연구에서 하고자 하는 젖소 수란우를 이용하여 한우 산자를 생산하는 것은 양질의 한우 생산을 확대시킬 수 있으며, 한우 체외 수정의 경우 능력이 검증된 한우 난자 및 정자를 사용하여 대량 생산된 수정란을 젖소에 이식함으로써 생산력을 증대시킬 수 있다. 뿐만 아니라 고능력우로 검증된 젖소를 이용하여 한우

산자를 분만함으로써 고품질의 유즙 생산을 동시에 획득할 수 있다는 장점을 가진다. 소 수정란 이식은 이러한 우수 능력을 가진 개체의 생산을 통해 효율성을 극대화할 수 있는 중요한 번식 기술로서 주목받고 있으며, 여러 연구자들에 의해 시도되고 있으나 수태율을 높일 수 있는 최적의 조건은 명확히 확립되어 있지 않은 상태이다.

일반적으로 난자의 체외성숙 및 체외 수정에 의해 생산된 수정란은 저렴한 비용으로 대량 생산 기반을 구축함으로써 가축의 증식과 연구에 이용되고 있지만, 낮은 수태율과 높은 태아 손실율로 인해 분만을 감소, 과체중 및 기형 송아지의 생산 등 문제점들이 산재해 있다(Lazzari 등, 2002; Numabe 등,

\* 이 논문은 전북대학교 생체안전성연구소의 일부 지원금에 의해 수행되었음.

\* Correspondence : E-mail : yjk@chonbuk.ac.kr

2000; van Wagtenonk-de Leeuw 등, 1998; Schmidt 등, 1996).

이에 비하여 체내 수정란의 경우 많은 비용과 노력이 요구되지만 우수한 혈통의 소를 사용할 수 있는 가축의 개량 측면에서 체외 수정란보다 활용성은 우위에 있다고 볼 수 있다 (Ax 등, 2005; Greve 등, 1995; 김 등, 2002; 박 등, 2005; 임 등, 1998; 최 등, 2005).

수정란 이식시 수태율 상승을 위해서 요구되는 사항으로는 첫째, 이식되는 수정란 수, 수정란의 발달 일령, 발달 단계, 수정란의 품질 등의 수정란 상태와 둘째, 이식 기술, 셋째, 수란우의 사양 관리 및 자궁과 황체의 상태, 산차, 이식 부위 등 수란우와 같은 세가지 주요 요인이 있으며, 높은 수태율을 이루어 내기 위하여 이를 종합적으로 고려해야 할 것이다 (Hasler, 2001; Misra 등, 1999; Numabe 등, 2000; 박 등, 2005; 황 등, 2004).

따라서 이 연구에서는 수정란 이식시 수태율 향상과 젖소의 이용성을 높이기 위한 일환으로 한우 수정란을 젖소 수란우에 이식하여 산자 생산 결과를 조사하고 한우 체내 수정란과 체외 수정란의 이식 결과 및 체내 수정란과 체외 수정란의 이식 후 쌍태 생산율을 비교하였으며, 또한 체외 수정란 이식시 황체 등급, 수정란 이식 부위, 수란우의 발정 후 이식일, 이식시술자, 이식 지역에 따른 수태율을 조사하고자 하였다.

## 재료 및 방법

### 1. 실험 동물

한우 체내 수정란 생산을 위한 공란우는 전라북도 축산위생연구소 종축시험소 한우 공란우 17두를 사용하였고 총 체란 회수는 29회, 나이는 3~8세, 산차는 1~5산이며, 수란우는 전라북도 일원의 젖소 1,150두를 대상으로 하였고, 이 중 체내 수정란 이식을 위한 수란우로 77두, 체외 수정란 이식을 위한 수란우로 1,073두를 사용하였다. 체외 수정란 이식 대상우 1,073두 중 434두는 황체 등급에 따른 비교를 위하여, 285두는 자궁각내 이식 부위에 따른 비교를 위하여, 354두는 수란우의 발정 후 일령에 따른 비교를 위하여 사용되었다. 그리고 이식시술자 및 이식 지역간 이식 결과를 비교하기 위하여 각각 1,073두 전체 두수를 이용하였다. 또한, 쌍태 생산 비교를 위해 188두의 젖소를 대상으로 하여 체내 수정란 수란우 37두와 체외 수정란 수란우 151두를 사용하였다. 따라서 이 연구에 사용된 수란우는 총 1,338두이었다.

### 2. 실험 기간

이 연구는 2004년 9월~2006년 9월까지 2년간 수행하였다.

### 3. 체내 수정란 생산

#### 1) 공란우 선발

공란우는 임상적으로 건강한 소를 대상으로 분만 후 60일

이상 경과되었고 이 기간 중 2회 이상의 성주기를 반복한 소를 대상으로 하였으며, 마지막 발정 후 8~10일 성주기에 있는 소로서 직장검사 소견상 양호한 황체 및 정상 크기의 자궁을 가진 소를 선발하였다.

#### 2) 과배란 처리

발정 후 8~10일의 소의 질내 Controlled Internal Drug Release(CIDR, Inter Ag)를 삽입하여 9일간 유지하였고, CIDR 삽입 7일째 FSH(Folltropin, Bionich) 400 mg을 1회 IM하였으며, Folltropin 투여 후 2일째 CIRD 제거 및 PGF<sub>2α</sub>(Estrumate, Scheering) 30 mg을 IM하였다.

#### 3) 인공수정

PGF<sub>2α</sub> 처리 후 2~3일에 발정이 관찰된 공란우에 12시간 간격으로 2회 수정하였고, 수정당 2~3 straw(0.5 ml/straw ; 농협중앙회 한우개량사업소)를 사용하였다.

#### 4) 수정란 회수

마지막(2회차) 인공수정 후 7일째 two-way balloon catheter를 이용하여 수정란을 회수하였다. 수정란 회수를 위한 자궁 관류액을 Dulbecco's PBS에 FCS 5%가 되도록 첨가한 관류액을 사용하였으며, 각 자궁각마다 400~500 ml의 관류액을 사용하였고 자궁 관류액을 20배 실체 현미경하에서 관찰하여 수정란을 회수하였다.

### 4. 체외 수정란 생산

#### 1) 난자의 회수

도축된 소로부터 난소를 채취하여 항생 물질이 첨가된(penicillin G 100IU/ml+streptomycin 100 μg/ml) 25~30℃의 멸균 생리식염수가 들어있는 보온병에 넣어 3시간 이내 실험실로 운반하였다.

난소는 항생물질이 첨가된 37℃ 멸균생리식염수로 3~5회 세척 후 생리식염수가 들어있는 비이커에 넣어 37℃ water bath에서 보관하였다.

난소로부터 난자는 5 ml 주사기를 이용하여 fetal calf serum(FCS, Sigma)를 3%로 첨가한 D-FBS 1 ml를 흡입한 후 난소실질 내로 주사침을 넣어 7 mm 이하 크기의 난포에서 난포액을 흡입하여 회수하였다.

회수액을 37℃ warming plate에 있는 90 mm petri dish에 분주하고 10배 실체 현미경하에서 Pasteur pipette을 이용하여 난자를 회수한 후 FCS 3% 첨가 D-PBS가 담긴 36 mm Petri dish내로 옮겨 넣었다.

#### 2) 난자의 체외 성숙(IVM, In-vitro Maturation)

D-PBS내 난자를 FCS 10% 첨가 TCM-199 배지내로 옮겨

pasteur pipette을 이용하여 2~3회 washing하였다. 60 mm petri dish내 FCS 10%첨가 TCM-199(FSH 0.5  $\mu$ g/ml, LH 0.5)  $\mu$ g/ml,  $\beta$ -estradiol 1  $\mu$ g/ml 첨가)배지를 사용하여 100  $\mu$ L droplet을 만든 후 paraffin oil로 도포하였으며, droplet당 15~20개의 난자를 넣었다. 난자가 들어있는 petri dish를 38.5°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에 넣어 20~22시간 동안 배양하였다.

### 3) 정자처리 및 체외 수정(IVF, *In-vitro* Fertilization)

체외 수정을 위한 정자처리는 BO액(Brackett & Oliphant, 1975)을 기본 배지로 하였고, 세척용 BO액은 BO액에 3mM의 caffein sodium benzoate와 10  $\mu$ g/ml의 heparin 및 10 mg/ml의 BSA를 첨가하였다.

정자처리를 위해 Percoll gradient density를 이용하여 15 ml conical tube에 90% Percoll 용액 1.5 ml를 넣고 그 상층에 45% Percoll 용액 1.5 ml를 넣었으며, 그 최상층에 37°C에서 30초간 용해한 한우 정액을 서로 혼합되지 않도록 천천히 흐르게 넣은 후 1,000 g에서 20분간 원심분리하였다.

정자수 조정은 원심분리 후 상층액을 제거한 후 정자 pellet에 BO액을 첨가하여 350 g에서 10분간 2회 원심분리하고 상층액을 제거하고 나서 남아있는 정자 pellet에 정자농도가  $5 \times 10^6$ /ml가 되도록 BO액을 첨가하여 정자수를 조정하였으며, 60 mm petri dish내 100  $\mu$ L의 정자 droplet을 만들어 mineral oil로 도포한 후 5% CO<sub>2</sub> incubator에 보관하였다.

그 후 20~22시간 동안 성숙 배양시킨 난자들을 꺼내 BO액으로 2~3회 washing을 하였고, 정자 droplet내 난자 20개씩을 넣어 38.5°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator 내에서 5~6시간 체외 수정시켰다.

### 4) 수정란의 체외 배양

체외 수정 반응 후 난자를 정자 droplet으로부터 꺼내 FCS 10% 첨가 TCM-199 배지내에서 3~4회 washing하였고, 난자를 체외성숙시 사용된 droplet으로 다시 옮긴 후 배반포로 발달될 때까지 7~9일간 38.5°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator 내에서 배양하였다.

체외 수정 24시간 후 수정란의 발달을 도와주기 위해 수정란을 둘러싸고 있는 난구세포를 Pasteur pipette 등을 이용하여 분리시켰으며, 수정란 배양배지는 FCS 10% 첨가 TCM-199을 사용하였으며 배지의 1/2을 48시간마다 신선한 배지로 교환하였다.

### 5. 체외 수정 후 수정란의 판정

체외 배양 후 48시간에 난자를 실체현미경 하에서 관찰하여 2세포 이상 발달된 난자를 확인하였고, 체외 배양 후 7~9일에 배반포로 발달된 난자를 확인하였다.

## 6. 수정란 이식

### 1) 수란우 선발

수란우는 임상적으로 건강한 소를 대상으로, 분만한 소는 분만 후 60일 이상 경과되었고 기간 중 1~2회 이상 성주기를 반복한 소를 대상으로 하였으며, 직장검사서 양호한 상태의 황체와 정상크기의 자궁을 가진 소를 선발하였다. 이 소들을 대상으로 발정 후 6~8일이 된 소에 수정란을 이식하였다.

### 2) 이식 가능한 수정란의 선발

체내 수정란의 경우 수정란을 도립현미경 100배 하에서 검검하여 A(excellent), B(good), C(fair), D(degenerated), E(unfertilized)의 5등급으로 구분하여 A, B등급만을 이식할 수정란으로 선택하였다.

체외 수정란의 경우 체외 배양 후 배반포 또는 확장 배반포로 발달된 수정란을 선택하였다.

### 3) 신선 수정란의 이식

양호한 상태의 배반포를 10% FCS 첨가 D-PBS로 2~3회 washing 후 동일 배지를 이용하여 수정란을 0.25 ml straw에 장착하여 수란우에 이식하였다.

### 4) 이식 방법

수란우는 2% lidocaine 3~5 ml로 경막의 마취를 시킨 후 수정란 이식기(French cassou gun, IMV, France)를 이용하여 황체가 존재하는 난소와 동일한 방향에 있는 자궁각 선단부에 수정란을 1개 이식하였고, 쌍태 생산을 위해서는 양쪽 자궁각에 각각 수정란을 1개씩 이식하였다.

### 5) 이식 조건에 따른 비교 조사

한우 수정란의 체내 및 체외 생산 방법에 따라 젖소 수란우의 수태율 및 분만율을 조사하였고, 체외 수정란 이식시 직장검사를 통한 수란우의 황체 등급 구별은 A와 B등급으로, A등급은 crown-shape로 돌출되어 축지되는 황체이며, B등급은 황체 조직은 축지상 인정되나 돌출 상태가 미약하고 작게 축지되는 황체로 구별하여 이식 결과를 조사하였다.

수란우의 자궁각 내 이식 위치 구별은 A와 B 위치로, A 위치는 자궁각 선단 부위이고, B 위치는 자궁각 중간 부위로 구별하였다.

수란우의 이식 시기는 발정 후 6, 7, 8일의 세가지 군으로 구별하였고, 수정란 이식 시술자 12인에 대하여 수란우 수에 따라 세 그룹으로 20~50, 50~100, 200~300두 이식군으로 구별하여 이식 결과를 비교하였다. 또한, 쌍태 생산을 위해 체내 또는 체외에서 생산된 2개의 한우 수정란을 각각 젖소 수란우에 이식하여 쌍태 분만율을 조사하였다.

7. 임신 진단

수정란 이식 후 60~90일 경에 직장검사법으로 실시하였다.

결 과

체내 또는 체외 수정으로 생산된 한우 수정란을 젖소에 이식하여 나타난 수태율 및 분만율은 Table 1과 같다.

체내 수정란을 77두의 수란우에 이식한 결과 수태율은 55.8%, 임신 진단된 수란우에 대한 분만율은 88.4%, 태아 손실율은 11.6%를 나타내었다.

체외 수정란을 1,073두의 수란우에 이식한 결과 수태율은 38.2%, 임신 진단된 수란우에 대한 분만율은 75.6%, 태아 손실율은 24.4%를 나타내었다.

체내 또는 체외 생산된 한우 수정란을 각각 2개씩 젖소 수란우에 이식하여 분만된 쌍태율은 Table 2와 같다.

한우 체내 수정란을 2개씩 37두의 젖소 수란우에 이식한 결과 분만율은 62.2%이었고, 이 중 쌍태생산율은 30.4%를 나타내었다.

한우 체외 수정란을 2개씩 151두의 젖소 수란우에 이식한

결과 분만율은 29.8%이었고, 이 중 쌍태 생산율은 15.6%이다.

한우 체외 수정란을 젖소 수란우의 황체 등급에 따라 이식하여 나타난 수태율은 Table 3과 같다.

A등급 황체 수란우 284두에 수정란을 이식한 결과 41.5%의 수태율을 나타내었고, B등급 황체 수란우 150두에 수정란을 이식한 결과 36.0%의 수태율을 나타내었다.

한우 체외 수정란을 젖소 수란우에 이식시 자궁각내 이식 부위에 따라 나타난 수태율은 Table 4와 같다.

I 부위인 자궁각 선단 부위에 체외 수정란을 이식한 결과 40.9%의 수태율을 나타내었고, II 부위인 자궁각 중간 부위에 체외 수정란을 이식한 결과 32.7%의 수태율을 나타내었다.

한우 체외 수정란을 젖소 수란우에 이식시 수란우의 발정 후 경과일에 따른 수태율은 Table 5와 같다.

한우 체외 수정란을 젖소 수란우에 이식시 수란우의 발정 후 경과일에 따른 수태율은 발정 후 6일이 경과된 수란우의 경우 45.5%, 발정 후 7일이 경과된 수란우의 경우 38.8%, 그리고 발정 후 8일이 경과된 수란우의 경우 39.7%를 나타내어

Table 1. Results of transfer with Hanwoo embryos produced *in-vivo* or *in-vitro* to Holstein cows as recipients

Embryo produced	No. of recipients	Rate of pregnancy (%)	Rate of delivery of pregnant animals (%)	Rate of fetal loss (%)
<i>In-vivo</i>	77	43/77 (55.8)	38/43 (88.4)	5/43 (11.6)
<i>In-vitro</i>	1,073	410/1,073 (38.2)	310/410 (75.6)	100/410 (24.4)
Total	1,150	453/1,150 (39.4)	348/453 (76.8)	105/453 (23.2)

Table 3. Comparison of pregnancy rate according to the grade of corpus luteum of Holstein recipients transferred with *in-vitro* Hanwoo embryos

Grade of CL	No. of recipients	No. of animals pregnant	Rate of pregnancy (%)
A	284	118	118/284 (41.5)
B	150	54	54/150 (36.0)
Total	434	172	172/434 (39.6)

CL : Corpus luteum was examined on th day of embryo transfer.

A : Excellent corpus luteum.

B : Good or fair corpus luteum.

Table 2. The delivery rate of twin offspring after transfer with Hanwoo embryos produced *in-vivo* or *in-vitro* to Holstein cows as recipients

Embryo produced	No. of recipients	No. of recipients delivered	Rate of delivery for total number of animals (%)	No. of recipients delivered offspring		Rate of twin delivery (%)
				Single	Twin	
<i>In-vivo</i>	37	23	23/37 (62.2)	16	7	7/23 (30.4)
<i>In-vitro</i>	151	45	45/151 (29.8)	38	7	7/45 (15.6)
Total	188	68	68/188 (36.2)	54	14	14/54 (25.9)

Table 4. Comparison of pregnancy rate according to the transfer site in uterine lumen of Holstein recipients transferred with *in-vitro* Hanwoo embryos

Site of transfer	No. of recipients	No. of animals pregnant	Rate of pregnancy (%)
I	230	94	94/230 (40.9)
II	55	18	18/55 (32.7)
Total	285	112	112/285 (39.3)

I : anterior site in the uterine lumen.  
II : middle site in the uterine lumen.

Table 5. The pregnancy rate according to day of embryo transfer after estrus of Holstein recipients transferred with *in-vitro* Hanwoo embryos

Day of ET after estrus	No. of recipients	No. of animals pregnant	Rate of pregnancy (%)
Day 6	33	15	15/33 (45.5)
Day 7	258	100	100/258 (38.8)
Day 8	63	25	25/63 (39.7)
Total	354	140	140/354 (39.5)

ET : embryo transfer.

전체 평균 39.5%의 수태율을 나타내었다.

한우 체외 수정란을 젖소 수란우에 이식시 이식 시술자에 따른 수태율은 Table 6과 같다.

수란우 20~50두 규모를 이식한 6명의 시술자의 수태율 범위는 34.2~45.8%이었고, 수란우 51~100두 규모를 이식한 3명의 시술자에 따른 수태율 범위는 39.4~43.6%이었으며, 수란우 200~300두 규모를 이식한 3명의 시술자에 따른 수태율 범위는 30.5~42.4%이었으며, 전체 12명의 시술자에 따른 수태율 범위는 30.5~45.8%를 나타내었다.

한우 체외 수정란 이식시 전라북도 내 이식 지역에 따른 수태율 결과는 Table 7과 같다.

김제 2농가의 경우 수태율은 40.0~45.6%, 분만율은 75.0~100%이었고, 익산 2농가의 경우 수태율은 21.1~42.4%, 분만율은 62.5~100%를 나타내었다.

Table 6. The pregnancy rate according to ET technicians after embryo transfer with *in-vitro* Hanwoo embryos to Holstein recipients

Group size	Technician	No. of recipients	No. of animals pregnant	Rate of pregnancy (%)	Range	
20~50	A	21	8	38.1	34.2~45.8	
	B	24	11	45.8		
	C	25	9	36.0		
	D	25	10	40.0		
	E	38	13	34.2		
	F	39	18	46.2		
Sub total		172	69	40.1		
51~100	G	66	26	39.4	39.4~43.6	
	H	72	31	43.1		
	I	94	41	43.6		
	Sub total	232	98	42.2		
200~300	J	204	71	34.8	30.5~42.4	
	K	210	64	30.5		
	L	255	108	42.4		
Sub total		669	243	36.3		
Total		12	1,073	410	38.2	30.5~45.8

부안 3농가의 경우 수태율은 37.8~51.0%, 분만율은 80.0~100%이었고 임신 1농가의 경우 수태율은 28.6%를 나타내었으며, 고창 4농가의 경우 수태율은 23.5~50.0%, 분만율은 76.9~100%로 전체 12농가의 경우 수태율은 21.1~51.0%, 분만율은 62.5~100%를 나타내었다.

### 고찰

이 연구는 송아지 생산의 효율성 증진을 위해 한우 체내 또는 체외 수정란을 전라북도 지역의 젖소에 이식한 후 나타난 임신 및 분만의 결과를 조사하기 위하여 수행되었다.

박(2004)은 한우 수정란 이식에서 황체가 존재하는 자궁각에 2개의 배반포를 이식하여 60일경 직장검사법으로 임신을 확인한 결과, 체내 수정란 이식시 수태율은 56.3%, 체외 수정란 이식시 30.0%, 복제수정란 이식시 19.4%로서 체내 수정란 이식에서 가장 높은 수태율을 나타내었으며, 태아 손실율은 각각 0.0%, 22.0%, 16.7%로서 체외 수정란이 가장 높게 나타났다고 보고하였는데, 이것은 본 연구에서 나타난 수태율 및

Table 7. The pregnancy rate according to different regions of dairy farms in Jeonrabuk-do after embryo transfer with *in-vitro* Hanwoo embryos to Holstein recipients

Region	Dairy farm	No. of recipients	No. of animals pregnant	Rate of pregnancy (%)	Range	No. of recipients delivered	Rate of delivery (%)	Range
Gimje	A	20	8	40.0		6	75.0	
	B	57	26	45.6		26	100.0	
	Sub total	77	34	44.2	40.0~45.6	32	94.1	75.0~100
Iksan	C	38	8	21.1		5	62.5	
	D	92	39	42.4		39	100.0	
	Sub total	130	47	36.2	21.1~42.4	44	93.6	62.5~100
Buan	E	29	14	48.3		14	100.0	
	F	49	25	51.0		20	80.0	
	G	111	42	37.8		38	90.5	
	Sub total	189	81	42.9	37.8~51.0	72	88.9	80.0~100
Imsil	H	21	6	28.6		NA	NA	
Gochang	I	30	15	50.0		15	100.0	
	J	34	8	23.5		8	100.0	
	K	35	13	37.1		10	76.9	
	L	36	17	47.2		NA	NA	
	Sub total	135	53	39.7	23.5~50.0	33	33/36 (91.7)	76.9~100
Total	12	552	221	40.0	21.1~51.0	181	181/198 (89.6)	62.5~100

NA : Not assayed.

태아 손실율의 결과와 유사하다.

또한, Numabe 등(2000)은 Japanese Black cow의 수정란을 Holstein에 이식시 체외 수정란 1개 이식시 수태율과 태아 손실율은 각각 42.9%, 10.0%이었고, 2개 이식시에는 52.1%, 21.1%이었으며, 체내 수정란을 1개 이식한 경우는 63.5%, 11.5%, 2개 이식시 67.8%, 13.2%이었다고 하였는데, 이는 본 연구의 성적과 약간의 차이가 있었지만 수란우로서 Holstein을 이용했다는 점과 수태율에 있어서 체내 수정란 2개를 이식한 경우 가장 높게 나타났고, 태아 손실율은 체외 수정란 2개를 이식한 경우 가장 높게 나타나 본 연구의 결과와 유사한 경향을 보였다.

본 연구에서 수정란 이식 후 전체 수태율의 결과를 다른 연구자들의 결과와 비교하면 Block 등(2003)은 체외성숙 및 체외 수정 후 체외배양 배지에 IGF-1을 첨가하여 배양한 수정란을 이식하였으나 25.7%의 수태율을 보고하여 본 연구의 결과보다 낮은 성적을 보고하였으며, Fisher-Brown 등(2005)은 Grade

1의 신선 체외 수정란을 1개 이식했을 때 40.8%의 수태율을 나타내어 본 연구의 결과와 비슷한 결과를 보고하였다. 김 등(2005)은 한우 신선란을 이식하여 57.2%의 수태율을 보고하여 본 연구의 결과보다 약간 높은 수치를 보였는데, 이 연구에서 수행한 서로 다른 소의 품종간 수정란 이식 결과가 동종간의 결과와 크게 차이가 없었음을 확인하였다.

소 수정란 이식에서 쌍태를 유기하는 방법으로는 성선자극 호르몬에 의한 방법(Isogai 등, 1991), 호르몬 면역법에 의한 방법(Reevers 등, 1989), 인공수정 후 수정란을 추가 이식하는 방법(Sreenan와 Diskin, 1989), 수정란 2개를 동시에 주입하는 방법 등(Suzuki, 등, 1994; 김과 김, 2000)이 있다.

김과 김(2000)은 한우 체외 수정란 2개를 한우 수란우에 이식하여 105두 중 40두가 분만하였고 이중 8두가 쌍태를 분만하여 20.0%의 쌍태율을 보였다. 김 등(2004)은 체내 수정란 2개를 이식하여 신선란은 7두 중에 2두(28.6%)가 쌍태를 분만했으며, 동결란은 6두 중에 1두(16.7%)가 쌍태를 분만하였다

고 보고하였으며 신선 수정란의 경우 이 연구의 결과와 유사하다고 보여진다.

이 연구에서 황체의 등급에 따라 이식 후 수태율 조사를 하였는데, Misra 등(1999)은 물소에서 황체의 크기가 5~10 mm 인 경우가 5 mm 이하인 경우보다 수정란 이식 후 수태율이 2 배 정도 높았다고 보고하였으며, 황 등(2004)은 황체 등급을 A, B, C로 구분하여 이식한 결과 A, B, C등급 순으로 우수한 성적을 나타내었다고 하였다. 이상의 보고들은 본 연구의 결과와 비슷하였으나 한편, 조 등(2000)은 B등급의 황체를 가진 수란우의 수태율이 높은 경향을 나타내었다고 하여 기존의 보고와 반대되는 결과였다. 김 등(1998)은 신선란 이식에서는 A, B, C 황체 등급에 따른 수태율이 각각 65.0, 65.0, 63.6%로서 등급에 따른 수태율의 차이가 없었으나 동결란에서는 A등급의 황체를 가진 수란우에 수정란을 이식하는 것이 높은 수태율을 나타내었다고 보고하였다. Spell 등(2001)은 수정란 이식 후 수태율은 수정란의 질, 발정 단계, 발정 동기화, 황체의 정도와는 관계가 없으며 정확한 발정 발현과 황체의 크기나 등급에 관계없이 촉진되는 황체만 존재한다면 수란우로서 적합하다고 보고한 바 있어 다른 연구자들의 견해와 대조된다.

본 연구에서 자궁각 내 이식 부위에 따른 수태율은 자궁각 선단 부위 주입의 경우 중간부위보다 높은 수태율 수치를 확인하였는데, 이에 대하여는 상이한 결과를 보고한 연구를 접하지 못하였다. 또한, 이 연구에서 발정 후 경과일에 따른 수태율은 발정 후 6일에서 가장 높은 수태율이 나타났는데, 조사 대상수가 다소 적어 추가의 연구가 수행되어야 한다고 생각된다. 김 등(2002)은 신선 수정란을 이식시 발정 후 7.5일에서 65.7%로 가장 높은 수태율 수치를 보였으며, 7.5일 이상 경과되었을 때 수태율이 저하된다고 보고한 바 있어 이 연구의 결과와 비교된다. 이 결과는 시술자들과 이식 지역의 이동 시간, 이식 시기의 오차 및 조사 대상우 수 및 동일 시술자에 의한 결과 조사 등 여러 가지 요인이 복합적으로 고려되어야 한다고 판단된다.

본 연구에서 이식 대상우의 그룹(20~50두, 51~100두, 200~300두)간 수태율의 범위는 34.2~45.8%, 39.4~43.6%, 30.5~42.4%이고, 전체 12인에 대한 수태율의 범위는 30.5~45.8%로서 개인에 따른 수태율의 차이가 있다고 보여진다. 이와 관련하여 Sediell(1980)은 이식 시술자의 숙련도에 따라 26~67%의 수태율의 차이가 있었다고 보고한 바 있다.

이 연구에서 이식 지역과 이식 농장간의 수태율을 비교하였을 때 지역별 수태율의 범위는 28.6~44.2%, 농장간 수태율의 범위는 21.1~51.0%로 지역보다는 농장에 따라 이식 후 수태율의 차이가 더 크다고 판단된다. 이것은 농장의 사육 환경, 사료 급여 형태, 예방 접종 및 영양 상태 등이 수태율에 영향을 미치는 것으로 판단할 수 있다.

공(2003)은 이식 시술자에 따른 수태율이 54.1%, 59.1%로

서 서로 비슷한 성적을 보고하였으며, 이식 농장별 수태율은 높은 유의적 차이를 보여 25.0~56.3%까지의 성적을 나타내었다고 하였고, 김 등(2003)은 각기 다른 지역에 있는 수란우에 이식하여 33.8~48.1%의 성적을 보고한 바 있어, 이식 시술자 및 농장 환경과 지역이 수태율과 관련이 있음을 추측할 수 있다고 생각된다.

이러한 결과들을 종합해 볼 때 한우와 Holstein 젖소 품종간의 수정란 이식 수태율은 동일한 품종간의 수정란 이식 수태율과 유사한 결과를 얻어 이는 한우 생산율을 증대시킬 수 있는 기술로서 판단된다.

## 결론

체내 또는 체외에서 생산된 한우 수정란을 젖소 수란우에 이식한 결과를 알아보기 위하여 체내 수정란 생산은 공란우에 과배란 처리하여 인공수정 7일 후 회수하였고, 체외 수정란 생산은 도축장에서 난소를 채취하여 난자를 회수한 후 체외성숙 및 체외 수정 후 체외배양 과정을 거쳐 생산하였다. 이렇게 생산된 체내 수정란과 체외 수정란을 젖소 수란우에 이식하였다. 체내 또는 체외 수정란 이식시 수태율, 분만을 및 태아 손실율과 쌍태율을 조사하였고, 황체 등급, 자궁각 이식 부위, 발정 후 이식일, 이식 시술자, 이식 지역 및 농장에 따른 수태율을 조사하였다.

1. 한우 체내 및 체외 수정란을 젖소 수란우에 이식한 결과, 수태율은 각각 55.8, 38.2%이었고, 임신우에 대한 분만율은 각각 88.4, 75.6%로서 태아 손실율은 각각 11.6, 24.4%이었다.
2. 한우 체내 및 체외 수정란을 각각 2개씩 젖소에 이식한 결과 분만율은 각각 62.2, 29.8%이었고, 분만우에 대한 쌍태 생산율은 각각 30.4, 15.6%이었다.
3. 한우 체외 수정란을 젖소에 이식시 황체 등급 A, B에 따른 수태율은 각각 41.5, 36.0%이었다.
4. 한우 체외 수정란을 젖소에 이식시 자궁각 선단부와 자궁각 중간부위에 따른 수태율은 각각 40.9, 32.7%이었다.
5. 한우 체외 수정란을 젖소의 발정 후 6, 7, 8일에 따라 이식된 젖소 수란우의 수태율은 각각 45.5, 38.8, 39.7%이었다.
6. 한우 체외 수정란을 젖소에 이식시 젖소 수란우 단위 20~50, 51~100, 200~300두에 따른 평균 수태율은 40.1, 42.2, 38.2%이었고 이식시술자 12인에 따른 수태율의 범위는 30.5~45.8%이었다.
7. 한우 체외 수정란을 젖소에 이식시 김제, 익산, 부안, 임실, 고창 5지역의 평균 수태율은 각각 44.2, 36.2, 42.9, 28.6, 39.7%이었고, 12개 농가의 수태율 범위는 21.1~51.0%이었다. 임실을 제외한 4개 지역의 평균 분만율은 각각 94.1, 93.6, 88.9, 91.7%이었고, 임신우에 대한 10개

농가의 분만을 범위는 62.5~100.0%이었다.

### 참고문헌

- Ax RL, Armbrust S, Tappan R, Gilbert G, Oyarzo JN, Bellin ME, Selner D, and McCauley TC. 2005. Superovulation and embryo recovery from peripubertal Holstein heifer. *Anim. Reprod. Sci.* 85:71-80.
- Block J, Drost M, Monson L, Rutledge JJ, Rievera RM, Paula-Lopes FF, Ocon OM, Krininger III CE, Liu J and Hansen PJ. 2003. Use of insulin-like growth factor during embryo culture and treatment of recipients with gonadotropin-releasing hormone to increase pregnancy rates following the transfer of *in vitro*-produced embryos to heat-stressed, lactating cows. *J. Anim. Sci.* 81:1590-1602.
- Brackett BG and Oliphant G. 1975. Capacitation of rabbit spermatozoa *in vitro*. *Biol. Reprod.* 12:260-274.
- Fischer-Brown A, Crooks A, Leonard S, Monson R, Northey D and Rutledge JJ. 2005. Parturition following transfer of embryos produced in two media under two oxygen concentrations. *Theriogenology* 87:215-228.
- Greve T, Callesen H, Hyttel R and Assey R. 1995. The effects of exogenous gonadotropins. *Theriogenology* 46:41-50.
- Hasler JF. 2001. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology* 56:1401-1415.
- Isogai T, Nakanoshi T, Sasaki K and Tagami M. 1991. Twin pregnancy and births in cattle induced by FSH and PGF or PGF-analogue treatment. *Jpn. J. Anim. Reprod.* 37:105-113.
- Lazzari G, Wrenzycki C, Herrmann D, Duchi R, Kruiop T, Niemann H and Galli C, 2002. Cellular and molecular deviations in bovine *in vitro* produced embryos are related to the large offspring syndrome. *Biol. Reprod.* 67:767-775.
- Misra Sk, Mutha Rao M, Jairaj R, Ranga Reddy NS and Pant HC 1999. Factors affecting pregnancy rate following non-surgical embryo transfer in buffalo (*Bubalis bubalis*): A retrospective study. *Theriogenology* 52:1-10.
- Numabe T, Oikawa T, Kikuchi T and Horiuchi T. 2000. Production efficiency of Japanese Black calves by transfer of produced *in vitro*. *Theriogenology* 54:1409-1420.
- Numabe T, Oikawa T, Kikuchi T and Horiuchi T. 2000. Birth weight and birth rate of heavy calves conceived by transfer of *in vitro* or *in vivo* produced bovine embryos. *Anim. Reprod. Sci.* 64:13-20.
- Reevers JJ, Chang CJ, Deavila DM, Johnson HE and Roberts AJ. 1989. Vaccines against endogenous hormones possible future tool in animal production. *J. Dairy Sci.* 72:3363-3371.
- Schmidt M, Greve T, Avery B, Beckers JF and Hansen HB. 1996. Pregnancies, calves, and calf viability after transfer of *in vitro* produced bovine embryos. *Theriogenology* 46:527-539.
- Seidel GE. 1980. Critical review of embryo transfer procedures with cattle. *Fert. and Embryo Develop.* Plenum Press 323-353.
- Spell AR, Beal WE, Corah LR and Lanb GC. 2001. Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rate of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology* 56:287-297.
- Sreenan JM and Diskin MG. 1989. Effect of unilateral or bilateral twin embryo distribution on twinning and embryo survival rate in the cow. *J. Reprod. Fertil.* 87:657-664.
- Suzuki T, Geschi M, Yonai M and Sakaguchi M. 1994. Effects of method of embryo production and transfer on pregnancy rate, embryo survival rate, abortion and calf production in beef cows. *Theriogenology* 41:309(Abstr).
- van Wagtenonk-de Leeuw AM, Aerts BJG and den Daas JHG. 1998. Abnormal offspring following *in vitro* production of bovine preimplantation embryos: a field study. *Theriogenology* 49:883-894.
- 공일근, 2003. 한우 체외 수정란이식후 수태율 향상 방안. *한국수정란이식학회지* 18(1)부록:27-37.
- 김덕임, 서상원, 정재경, 이규승, 서길웅, 박창식, 정영채, 박병권. 2002. 한우에 있어서 체내 수정란의 생산과 이식에 관한 연구; 한우 수정란 이식이 수태율에 미치는 요인, *한국수정란이식학회지* 17:33-44.
- 김소섭, 최석화, 김재명, 이제협, 김재영, 박흠대. 2003. 한우 유래의 체외 수정란의 이식 후 임신에 관한 연구. *한국수정란이식학회지* 18:237-242.
- 김용권, 김진성. 2000. 한우 체외 수정란의 생산과 이식후 쌍자생산에 관한 연구. *한국가축번식학회지* 24:97-108.
- 김용준, 김희천, 서세현, 정구남, 김용수, 이해이, 신동수, 조성우, 김수희. 2005. 한우 및 젖소에서 체외 수정란 생산과 신선 및 동결 수정란 이식 결과. *한국수정란이식학회지* 20:79-87.
- 김용준, 송재웅, 서세현, 정구남, 김용수, 이해이, 신동수, 조성우, 김수희. 2004. 한우 및 젖소에서 과배란처리를 이용한 체내 수정란 생산과 신선 및 동결 수정란 이식 결과. *한국수정란이식학회지* 19:209-218.
- 김홍률, 김덕임, 박노형, 김창근, 정영채, 윤종택, 전광주. 1998. 한우에서 수정란 이식의 효율 증진에 관한 연구. *한국수정란이식학회지* 13:53-67.
- 박용수. 2004. 한우 체내, 체외 및 복제 수정란 이식된 수란우



- 의 임신과 분만 및 산자의 생존. 한국수정란이식학회지 19:239-244.
- 박용수, 김소섭, 박흠대, 박현정, 김재명. 2005. 한우 체외 수정란이 이식된 수란우의 임신과 유산에 미치는 수정란측 요인. 한국수정란이식학회지 20:89-95.
- 임석기, 우제석, 전기준, 장선식, 강수원, 윤상기, 손동수. 1998. 한우에 있어서 PEG에 용해시킨 Folltropin-V의 1회 피하 주사에 의한 다배란 유도. 한국수정란이식학회지 13:207-212.
- 조현조, 김주현, 송상현. 2000. 한우 체외 수정란이식에 의한 산자 생산. 한국수정란이식학회지 15:225-261.
- 최선호, 류일선, 손동수, 조상래, 한만희, 김현중, 최창용, 김영근. 2005. 한우의 반복 과배란 처리 및 산차가 수정란 생산에 미치는 영향. 한국수정란이식학회지 20:185-190.
- 황한섭, 장현용, 김성곤, 김종택, 박춘근, 정희태, 김정익, 양부근. 2004. 한우의 체외성숙·체외 수정란의 수정란이식에 관한 연구. 한국수정란이식학회지 19:1-10.

---

(접수일: 2008. 8. 28 / 채택일: 2008. 9. 19)