

反復過排卵토끼의 卵巢反應에 關한 研究

韓 基 硤

安城農業專門大學

Studies on the Ovarian Responses of Rabbits Superovulated Repeatedly

Han, K. Y.

Anseong National Agricultural Jnuior College

Summary

This study was carried out to investigate the changes in ovary in repeatedly superovulated rabbits. A total of 57 New Zealand White and Californian, 25 mature virgin and 32 immature does were used in this study. For induction of repeated superovulation, PMSG and HCG were injected at 17-day and 30-day intervals for mature does and 17-day intervals for immature ones. The repeatedly superovulated does at 17-day intervals were induced luteolysis of pseudopregnant corpus luteum with $PGF_2\alpha$ on Day 8 to 9 p.c. The effect of repeated superovulation on reproductive organs was investigated on Day 3 p.c. in mature does and on Day 3 and 6 p.c. in immature ones, respectively.

1. In mature virgin does, the number of ovulation points in the 2nd and 3rd superovulation period averaged 7.0 and 5.0 at 17-day intervals and 13.4 and 6.0 at 30-day intervals, respectively. These numbers were statistically similar to 9.5 ovulation points in the control. However, there were less ($p < 0.05$) ovulation points in those periods compared with 22.1 ovulation points in the 1st superovulation period.
2. In immature does, the number of ovulation points in the 2nd and 3rd superovulation period averaged 5.3 and 2.3, respectively. These numbers were significantly ($p < 0.05$) decreased than 17.1 ovulation points in the 1st periods. The number of ovulation points in the 2nd superovulation period was similar to that in the control, but there was a significant ($p < 0.05$) decrease in the number of ovulation points in the 3rd period as compared to the control.
3. In mature virgin does, the number of visible normal and hemorrhagic follicles (>1.0 mm diameter) on day 3 p.c. averaged 19.1 and 8.9 in the 1st superovulation period, respectively. In the 2nd and 3rd superovulation period, the number of normal follicles averaged 8.3 and 15.5 at 17-day intervals and 17.8 and 14.5 at 30-day intervals. The number of hemorrhagic follicles in the 2nd and 3rd superovulation period averaged 6.3 and 2.0 at 17-day intervals and 5.2 and 7.8 at 30-day intervals, respectively. There was a slight decrease, although not significant, in the number of normal and hemorrhagic follicles in the 2nd and 3rd period at 17-day intervals compared to that in the 1st period.
4. In immature does, the number of visible normal follicles on day 3 and day 6 p.c. in the 1st superovulation period averaged 27.3 and 26.1, respectively. The follicles on day 3 p.c. tended to increase slightly more than that in the control, but the average number of normal follicles on day 6 p.c. did not differ from that in the control. The number of visible hemorrhagic follicles on day 3 and day 6 p.c. in the 1st superovulation period averaged 10.2 and 9.9, respectively. There was a slight increase in the number of follicles in the 1st period compared to that in the control. In the 2nd and 3rd superovulation period, the number of normal follicles revealed a slight decrease in the 3rd period, but the number of hemorrhagic follicles was not different between periods.

5. The number of growing follicles with incipient antral formation on day 3 p.c. in mature does of the 1st superovulation period averaged 29.7 and the average number of growing follicles in the 3rd period was 26.7 at 17-day intervals and 31.0 at 30-day intervals, respectively. These numbers did not differ from that in the control. In immature does, the number of growing follicles averaged 57.7, 45.0 and 59.3 in the 1st, 2nd and 3rd superovulation period, respectively. There was a slight but not significant decrease in the number of growing follicles in the 3rd period compared to that in the control.

I. 序 論

過排卵方法을 利用하여 家畜의 繁殖效率을 增進시키고자 많은 研究가 行해져 왔으며 특히 最近에는 受精卵移植의 産業적 의의와 그 活用性이 높아져 감에 따라 더욱 이 分野에 대한 관심이 높아지고 있다. 現在 우수한 遺傳形質을 가진 牝畜으로부터 보다 많은 良質의 受精卵을 얻을 수 있는 호르몬投與法과 採卵方法이 크게 向上되고 있다.

受精卵移植 技術에 있어서 우수한 牝畜을 效率의 으로 최대한 利用하기 위해서는 우선 1回의 過排卵處理로 보다 많은 受精卵이 採卵되어야 하겠지만 더욱 중요한 問題는 우수한 個體를 여러번 反復 使用하여야 하는데 있다. 최근 非外科的인 採卵方法의 開發로 이러한 問題가 더욱 容易해졌지만 아직 同一個體에서 호르몬投與가 反復될 때 卵巢反應이 약화되어 發育卵胞數나 排卵數가 크게 감소되는 현상이 過排卵의 반복시도에 있어서 가장 큰 問題點으로 남아있다.

따라서 本 研究는 成熟토끼와 未成熟토끼에 있어서 性腺刺戟 호르몬의 反復投與에 따른 排卵效果와 卵巢狀態를 研究하므로써 過排卵 處理에 依한 繁殖效率의 增進을 위한 기초자료를 얻고자 실시하였다.

II. 研究史

家畜과 實驗動物에서 過排卵效果는 投與하는 호르몬製劑의 種類와 投與量(Edwards 등, 1963)에 따라 차이가 있으며, 投與時의 나이(Zarrow와 Wilson, 1961)에 따라라도 차이가 크게 나타나 있고 또한 排卵數가 體重間에도 차이가 있는 것으로 보고되었다(Venge, 1950). 토끼의 過排卵誘起를 위하여 PMSG를 使用하여 많은 卵子를 얻었으며(石島等, 1968) FSH와 LH의 組合利用으로서 良好한 結果를 얻은 바 있다(Kennelly와 Foote, 1965; Maurer 등, 1968). 특히 FSH와 HCG의 投與에서도 FSH와 LH 投與

에서와 같은 程度의 排卵效果가 報告되었다(角田等, 1978).

同一個體에서의 反復過排卵效果에 대한 報告를 간추려 보면, 토끼는 GTH의 5日以上 연속투여에서 排卵效果가 不良하였고(Parkes, 1943), 每23日 마다의 馬腦下垂體抽出物의 4回 반복 연속투여 후에는 排卵이 일어나지 않는 것으로 報告되어 있다(Adams, 1953). 또한 20IU의 HCG를 6회 연속투여할 때 排卵障害 뿐만 아니라 受胎率이 低下되는 것으로 報告되었다(Adams, 1961). 最近 研究에서도 토끼의 反復過排卵은 排卵率의 低下가 報告된 바 있다(Foote와 Onuma, 1970). 특히 2회 연속 투여에서도 排卵率의 감소가 나타난다고 하였다(角田等, 1978). 이와 유사한 結果들이 다른 動物에서도 많이 報告되어 있다. 豚 소(Willet 등, 1953; Turman과 Wetteman, 1978; 鄭等, 1983), 緬羊(Palsson, 1962) 및 생취(Lin과 Bailey, 1965; 穴吹等, 1977, 1978) 등에서 各各 排卵數의 減少現象이 報告되었다. 反復過排卵時의 이와같은 排卵數의 減少原因에 대하여 여러가지로 說明되고 있으나 아직 그 原因은 분명히 究明되어 있지 못하다. 아마도 그 原因은 같은 호르몬製劑의 연속투여에 따른 體內的 抗體形成(Maurer 등, 1968; Lubbadeh 등, 1980), 受精卵의 採卵過程에서 생길 수 있는 卵巢의 유착과 손상(Willet 등, 1953; Onuma) 등, 그리고 反復投與에 따른 卵巢內에 있는 卵胞數의 減少(Maurer와 Foote, 1971) 등에 기인될 것이라는 假說이 있다. PMSG에 대해 耐性이 생긴 후 PMSG 대신에 FSH 또는 FSH와 LH의 混合劑 投與로 良好한 結果를 얻은 바 있다(Warren 등, 1975; 金川, 1980). 한편 石島(1982)는 PMSG와 HCG의 3~5回 反復使用에서 排卵效果가 현저히 감소하였지만 反應抑制物質의 血清內 存在를 bioassay로서 證明할 수는 없었다. 以上の 報告와는 달리 牛(Scanlon, 1972)와 緬羊(Gordon, 1975)에서 GTH의 投與로 排卵의 減少現象이 현저하

지 않았다는 報告가 있다. 또한 投與를 중단할 경우에 反復過排卵에서의 非卵減少가 緩和된다는 報告도 있다(石島와 桜井, 1972).

설치류에서 卵巢內的 卵胞의 크기와 數的變化를 일으키는 FSG와 LH 영향과 發情週期에 따른 卵胞發達과 卵胞의 크기별 分布에 대하여 많은 報告가 있다(Greenwald, 1974;宮本등, 1978;Peddie, 1980a, b; Numazama와 Kawashima, 1982). 이들 報告중에서 Peddie(1980a)는 未成熟 guinea pig에서 14日齡 때 閉鎖卵胞가 처음 出現하여 日齡의 增加와 함께 胞狀卵胞의 크기가 점차 增加됨을 報告하였다. 또한 Paddie(1980b)는 成熟 guinea pig에서 發情週期에 따라 總胞狀卵胞數에는 차이가 없으나 閉鎖卵胞의 比率이 크게 차이가 있다고 하였으며 특히 HCG가 投與될 때는 投與때 存在하는 卵胞크기에 따라 閉鎖卵胞의 發生率에 큰 차이가 있음을 報告하였다. Numazawa와 Kawashima (1982)는 생쥐에서 發情週期中 卵胞 크기의 分布調査에서 100~149 μ m크기의 卵胞가 發情期때에 成長이 始作되나 대부분이 그 후에 閉鎖卵胞로 되며 일부 남아있던 10여개의 卵胞가 다음 週期에서 400 μ m의 排卵性卵胞로 成長됨을 報告하였다.

Pedersen(1969)은 排卵效果가 卵巢內에 存在하는 큰 胞狀卵胞數에 따라 左右됨을 報告하였다. 한편 Peters(1969)는 24~28日令때가 性成熟直前보다 中程度의 크기와 卵胞가 더 많이 存在하기는 하나 排卵數가 많게 되는 原因은 不明하다고 지적된 바 있다.

Ⅲ. 試驗材料 및 方法

1. 供試動物 및 營理

供試動物은 New Zealand White와 Californian 純種토끼로서 體重 3.4~4.0kg의 成熟토끼 25頭와 體重 1.8~2.3kg의 未成熟토끼 32頭, 計 57頭를 供試하였다.

試驗토끼는 購入後, 供試前 1個月間 케이지에 1頭씩 分離飼育하여 偽妊娠이 되지 않도록 管理하였으며 급여사료는 粗蛋白 13~15%, 粗脂肪 2~5%를 含有한 市中 販賣 配合飼料를 體重을 고려하여 1日 200~250g을 2回를 나눠서 아침 저녁 급여하였고 乾草와 물은 自由採食시켰다. 試驗期間中의

日照時間은 1日 14時間 程度가 되었다.

2. 試驗設計

PMSG와 HCG의 反復投與에 따른 卵巢의 變化를 成熟토끼와 未成熟토끼를 利用하여 比較 調査하였다. 호르몬의 反復投與間隔은 成熟토끼에서는 30日과 17日 2가지로 하였고 未成熟토끼에서는 모두 17日 間隔으로 反復投與하였다. 過排卵處理區에서 反復投與의 回數는 1,2,3回로 區分하였다. 마지막 屠殺調査는 成熟토끼의 경우는 最終 호르몬 投與後 正常 수컷과 交尾시킨 다음 3日뒤에, 그리고 未成熟토끼는 最終 交尾後 3日과 6日로 區分하여 各各屠殺하였다. 實驗設計에 따른 各處理區別의 試驗토끼 配置는 表1과 같다.

3. 排卵誘起方法

(1) 成熟토끼

過排卵의 경우에는 1日 40IU의 PMSG(Peames, 三共株式, 日本)를 5日間 總 200IU를 皮下注射하고 마지막 注射日에 estradiol 0.1 mg(Romeda, 持田製藥, 日本)을 筋肉注射하였으며, 7일째에 HCG(Chorulon, Intervet International B. V. Boxmeer-Holland) 200IU를 靜脈內로 注射함과 同時에 수토끼로 1~2回 交尾시켰다. 過排卵을 1~3回 계속 반복할 경우에는 精管을 結찰한 수컷과 交尾시켰으며 最終 過排卵處理後에는 正常수컷과 交尾시켰다. 反復過排卵間隔이 17日週期인 경우는 交尾後 8~9日에 PGF_{2 α} (Lutalyse, Upjohn, 美國). 150~200 μ g을 筋肉注射하여 黃體를 退行시킨 後 3日뒤에 계속 PMSG와 HCG를 이미 언급된 바와 같이 反復投與하였다. 對照區의 正常排卵은 호르몬을 投與없이 단지 正常토끼 또는 정관결찰한 수토끼로만 自然交尾시다.

(2) 未成熟토끼

過排卵의 경우는 1日 30IU의 PMSG를 3日間 연속 투여하였고 5日째에 HCG 150IU를 靜脈注射함과 同時에 成熟토끼와 같은 方法으로 交尾시켰다. 17日間隔의 反復過排卵을 위하여는 交尾後 8~9日에 PGF_{2 α} 150 μ g을 筋肉注射後 3日 뒤에 PMSG를 다시 反復投與하였다. 對照區는 PMSG 30IU를 1回 注射하여 成熟토끼와 같은 정도로 排卵數를 얻도록 하였으며 交尾刺戟은 成熟토끼와 같은 方法에 準하

Table 1. Experimental design and distribution of rabbits.

Age	Control or superovulation	Interval of treatment	Time to slaughter after mating	Superovulation period			Total
				1 st	2 nd	3 rd	
Mature rabbit	Control		Day 3	3	-	-	3
	Superovulation	17 days	Day 3	5	4	5	14
		30 days	Day 3	-	4	4	8
	Sub-total		y	8	8	9	25
Immature rabbit	Control		Day 3	4	-	-	4
	Superovulation	17 days	Day 6	4	-	-	4
			Day 3	4	4	4	12
			Day 6	4	4	4	12
	Sub-total			16	8	8	32
Total				24	1	17	57

였으며 PMSG 注射後 2 日에 正常수컷과 交尾시켰다.

4. 排卵數와 卵胞狀態 調査

反復過排卵 試驗토끼의 경우는 sodium pentobarbital(64.8mg/ml, pitman-Moore)을 生體重 2.3~2.7 kg 當 1 ml 를 靜脈注射하고 10分後에 兩側 側部를 切開하여 卵巢를 꺼낸 다음 排卵點을 調査함과 동시에 正常 卵胞數와 血胞數를 크기별로 區分 測定하였다. 屠殺할 토끼에 대해서는 심장 천자로 10ml의 혈액을 採血한 뒤 耳靜脈內로 空氣를 注入하여 죽인後 즉시 開腹하여 卵巢를 分離하였으며 실체현미경 하에서 排卵點, 黃體數, 卵胞數를 측정하였다. 卵巢內의 卵胞數와 크기의 調査는 도살직후 적출한 卵

巢를 10% 中性 formalin에 固定시킨 다음 paraffin에 埋包시켜 7 μ 두께로 연속절편을 만들어서 每 5 번째 절편마다 취한 다음 hematoxylin 과 eosin으로 염색하여 卵胞의 狀態와 數 및 크기를 調査하였다.

IV. 試驗結果 및 考察

1. 排卵數

反復過排卵處理에 따른 成熟토끼와 未成熟토끼의 排卵數는 表 2 와 3 에서 보는 바와 같다. 成熟토끼에 있어서 1次過排卵處理後 22.1 \pm 2.6 개이었고 17日 間隔의 2次過排卵處理에서는 7.0 \pm 1.7 개로서 1次的 31.7%로 30日 間隔의 2次過排卵에서는 13.4 \pm 4.4 개로서 1次的 60.6%로 各各 有意的(P<0.05)

Table 2. Effect of repeated superovulation on number of ovulation point in mature rabbits.

Treatment	Interval of treatment (day)	Superovulation period	No. of rabbit	No. of ovulation point	No. of rabbit with over 10 ovulation points (%)	No. of rabbit with no ovulation point
Control		1 st	3	10.3 \pm 2.0* (7-14) ^b	2 (66.7)	0
Superovulation		1 st	19	22.1 \pm 2.6 (7-51) ^a	17 (8.5)	0
	17	2 nd	7	7.0 \pm 1.7 (0-13) ^b	2 (28.6)	1
	17	3 rd	4	5.5 \pm 2.4 (0-12) ^b	1 (25.0)	1
	30	2 nd	9	13.4 \pm 4.4 (5-45) ^b	4 (44.4)	0
	30	3 rd	5	6.0 \pm 2.0 (0-11) ^b	1 (20.0)	1

* : Mean \pm standard error (range)

a, b Means in the same row bearing unlike superscripts differ (P<0.05).

Table 3. Effect of repeated superovulation on number of ovulation point in immature rabbits.

Treatment	Superovulation period	Days to slaughter after mating	N. of rabbit	No. of ovulation point	No. of rabbit with over 10 ovulation points (%)	No. of rabbit with no ovulation point
Control	1 st	3	4	9.5 (3-16)	2	0
		6	4	10.8 (8-14)	2	0
		Total	8	10.1±1.7* ^b	4 (50.0%)	0
Superovulation	1 st	3	11	14.5 (0-28)	8	1
		6	11	19.6(0-37)	9	1
		Total	22	19.6 (0-37)	17 (77.3%)	2
	2 st	3	7	17.1±2.1	1	0
		6	8	6.6 (0-16)	1	3
		Total	15	4.3 (0-10)	2 (13.3%)	3
	3 rd	3	3	5.3±1.1 ^{b,c}	0	1
		6	4	2.3 (0-5)	0	2
		Total	7	2.3±0.9 ^c	0	3

* : Mean ± standard error (range).

a, b, c Means in the same row bearing unlike superscripts differ (P<0.05).

으로 減少하였다. 17日 間隔의 過排卵處理가 30日 間隔의 過排卵處理보다 平的 排卵數의 減少가 有意性은 없었으나 더 컸다. 3次 過排卵處理에서는 17日 間隔의 경우 5.5±2.4개이었고 30日 間隔에서는 6.0±2.0개로서 各各 1次 過排卵 時의 24.9와 27.1%에 불과한 排卵數였다. 이를 2次 排卵數와 比較해 볼 때 有意性은 없었으나 17日 間隔에서는 2次 過排卵의 78.6%, 30日 間隔에서는 44.8%로 減少되었다.

以上の 結果에서 過排卵處理의 2次 以後에서 排卵數는 크게 減少되었으며 反復 過排卵處理의 間隔이 짧을수록 排卵數의 減少가 다소 크게 나타남을 알 수 있었다. 未成熟토끼의 경우(表3)는 1次 過排卵處理 時의 平均排卵數가 17.1개이었는데 17日 間隔의 反復 過排卵에서 2次 過排卵處理의 平均排卵數는 5.3개로서 1次的 31.0%(P<0.05)였으며 3次 過排卵處理에서는 平均排卵數가 23개로서 1次的 13.5%(P<0.05), 2次에 比하면 43.4%로 減少되었다.

以上 結果에서 反復 過排卵處理의 效果는 成熟토끼보다도 反復에 따라 排卵數가 더 현저히 減少되었으며 특히 成熟토끼보다 反復 過排卵에 따른 無排卵의 個體가 더욱 많았다.

成熟토끼와 未成熟토끼에서 보여준 反復 過排卵處理의 效果는 토끼로부터 얻어진 다른 報告들(Ada-

ms, 1953, 1961; Maurer 등. 1968; 角田 등, 1978; 石島, 1982)과 매우 一致된 結果였다. 특히 이중에서 Maurer 등(1968)은 16週 間隔의 反復 過排卵에서도 FSH-LH 投與時 1次 46.5개의 過排卵이 3次에서 25.2개로 크게 減少되었고 PMSG-HCG 投與에서는 1次 13.6개에서 2次 5.7개, 3次 6.2개로서 2次부터 顯著的 減少를 나타내어 PMSG-HCG 에서 더욱 減少率이 컸다고 하였다. 또한 角田 등(1978)도 PMSG-HCG 投與時의 2次 反復에서 排卵數가 顯著히 減少함을 報告하였고, estrogen의 併用 投與로 減少率을 다소 막을 수가 있다고 하였다.

本 試驗에서 反復手術한 一部 試驗토끼에서는 卵巢 極差이 있었는데 이는 Willet 등(1953)과 Onuma 등(1969)이 報告한 바와 같이 排卵數의 減少原因이 될 수 있음을 確認할 수 있었다.

2. 卵胞狀態

反復 過排卵處理에 따른 卵胞狀態를 卵巢表面의 可視卵胞의 直徑으로 測定한 結果는 表4와 5에서 보는 바와 같다. 成熟토끼의 경우(表4) 對照區에서 正常卵胞와 血胞의 平均總數는 13.0±4.0개와 4.0±1.5개였으며, 1次 過排卵處理에서는 各各 19.1±3.5개와 8.9±1.4개이었다. 한편 反復 過排卵時의 卵胞數

Table 4. Effect of repeated superovulation on distribution of visible normal and hemorrhagic follicles per both ovarian surface at 3 days p. c. in mature rabbits.

Treatment	Interval of superovulation (day)	Superovulation period	No. of rabbit	No. of normal follicle				No. of hemorrhagic follicle				
				1-2mm	2-3mm	>3mm ¹⁾	Total	1-2mm	2-3mm	>3mm ¹⁾	Total	
Control		1st	3	6.7±1.7	6.0±3.2	0.3±0.3	13.0±4.0 ²⁾	2.3±1.4	1.7±0.3	0	4.0±1.5	
				(5-18)	(2-7)							
Superovulation		1st	19	11.6±2.2	6.3±1.8	1.4±0.6	19.1±3.5	3.8±1.2	3.4±0.7	1.8±0.7	8.9±1.4	
		(0-55)	(2-28)									
		17	2nd	7	6.3±1.2	2.0±1.3	0	8.3±2.5	2.0±1.0	2.3±1.2	2.0±1.0	6.3±2.2
		(5-16)	(0-11)									
		17	3rd	4	19.0±2.6	8.0±3.5	0	17.8±9.6	0.7±0.3	0.7±0.3	0.7±0.3	2.0±0.9
(11-30)	(0-3)											
30	2nd	9	7.5±2.8	8.0±4.5	0	15.5±6.9	3.0±1.3	1.8±0.7	0.3±0.2	5.2±1.0		
											(0-58)	(0-11)
30	3rd	5	10.0±1.5	4.5±1.4	0	14.5±2.6	2.8±1.2	3.0±1.3	2.0±1.8	7.8±3.9		
											(6-19)	(0-19)

1) Dim 1) Diameter, 2) Mean ± standard error 3) Range

Table 5. Effect of repeated superovulation on distribution of visible normal and hemorrhagic follicles per both ovarian surface in immature rabbits.

Treatment	Superovulation period	Days to slaughter after mating	No. of rabbit	No. of normal follicle				No. of hemorrhagic follicle			
				1-2mm	2-3mm	>3mm ¹⁾	Total	1-2mm	2-3mm	>3mm ¹⁾	Total
Control	1st	3	4	8.3±2.1	0.3±0.3	0	9.5±1.9 ²⁾	3.8±2.3	1.3±0.5	0	5.2±2.4
				(5-13) ³⁾	(0-11)						
		6	4	14.8±2.9	7.5±2.0	0.8±0.5	23.0±3.7	1.5±0.9	0.3±0.3	0	1.8±0.9
				(16-33)	(0-4)						
Superovulation	1st	3	11	13.0±3.2	12.4±3.8	1.9±0.7	27.3±4.2	5.5±2.4	4.4±1.8	0.4±0.3	10.2±4.3
				(4-35)	(0-41)						
	6	11	16.3±3.2	10.0±3.3	1.5±0.7	26.1±6.2	3.3±1.3	6.2±1.9	0.4±0.2	9.9±2.6	
											(4-61)
	2nd	3	7	16.5±3.7	4.4±1.3	0	20.9±3.5	2.9±0.7	2.9±1.3	0.4±0.4	6.1±2.2
6	8	21.8±6.3	2.6±0.8	0	24.4±6.6	3.8±1.8	2.0±0.9	0.4±0.4	5.8±2.5		
										(0-59)	(0-15)
3rd	3	3	8.8±3.9	3.0±1.5	0	11.8±4.1	6.8±3.1	2.0±0.8	0.3±0.3	9.0±3.8	
											(4-20)
6	4	8.0±1.8	±	0	8.0±1.8	2.3±1.3	0	0	10.8±6.1		
										(2-12)	(0-33)

1) Diameter, 2) Mean ± standard error, 3) Range

는 17日間隔의 反復投與에서 2次와 3次에서의 全體 正常卵胞와 血胞數는 8.3개와 6.3개, 17.8개와 2.0개였다. 30日間隔의 反復過排卵에서는 2次와 3次에서 各各 15.5개와 5.2개, 14.5개와 7.8개 이었

다. 正常卵胞의 경우는 특히 1次以後의 過排卵에서는 3mm이상 直徑의 卵胞는 없었으며 1~3mm直徑의 卵胞數가 個體間에 差異가 많았기 때문에 反復過排卵의 間隔과 回數에 있어서 正常卵胞數의 差異는

없었다. 한편 血胞에 있어서도 처음 1次過排卵 때에 1~3mm의 血胞의 發生이 다소 높은 傾向이 있었으나 그 후의 反復排卵과 反復間隔間에 血胞數의 差異는 없었다.

未成熟토끼의 경우(表5)는 正常範圍의 排卵數를 보인 對照區와 1次過排卵處理 때의 正常卵胞와 血胞의 總數가 交尾後 3日에서 各各 9.5개, 5.2개, 27.3개와 10.2개로서 過排卵處理에서 훨씬 2種類의 卵胞數가 많았다. 交尾後 6日에서는 23.0개와 1.8개, 26.1개와 9.9개로서 3日때와 類似한 結果였다. 反復過排卵處理에서는 특히 3次反復에서 正常卵胞의 數가 交尾後 3日과 6日에서 11.8개와 8.0개로서 顯著히 減少하였다. 成熟토끼에서와 마찬가지로 2次 및 3次 反復過排卵以後에서는 3mm以上の 正常卵胞는 없었다.

以上の 過排卵處理後의 卵胞狀態를 다른 報告들과 比較해 보면 本 試驗과 같은 方法의 過排卵處理에 있어서 石島등(1969)이 交尾後 48時間에서 1mm以上の 正常卵胞數가 9.6~15.1개이었고 血胞가 11.8~29.0개라고 한 結果와 血胞數에서는 本 試驗結果

가 다소 낮기는 하나 類似한 結果로서 3次까지 反復處理에 따른 卵胞數의 顯著한 減少가 없음을 알 수 있었다.

反復過排卵處理에 따른 卵巢實質內的 成長中인 卵胞數의 變化를 보면 表6과 같다. 成熟토끼에 있어서 아직 충분히 卵胞腔이 形成되지 못한 總卵胞數는 對照區의 경우 26.3개, 17日 間격의 1次와 3次 過排卵에서는 각각 29.7개와 26.7개였고 30日 間격의 3次過排卵에서는 31.0개였다. 對照區와 過排卵處理間에 有意的인 차이는 없었다. 成長中 卵胞의 크기별 分布는 모두 處理區에서 301~700 μ m 크기의 것이 가장 많았으며 900 μ m 이상의 卵胞數는 극히 적었다. 過排卵處理에 따른 卵胞 크기별 分布狀態는 對照區와 차이가 없었다.

未成熟토끼에서는 成長中인 總卵胞數가 對照區 69.7개, 1次過排卵 57.7개 2次와 3次 反復過排卵에서는 각각 45개와 59.3개였다. 2次 過排卵에서 다소 적은 傾向이었으나 각 處理間에 有意差는 없었다. 한편 成熟토끼의 卵胞數보다는 약 2倍 程度 많은 成長卵胞를 보여주었다. 卵胞의 크기별 分布를

Table 6. Number of growing follicles per both ovaries at 3 days p. c. in control and repeatedly superovulated mature and immature rabbits.

Age	Diameter of growing follicle ¹⁾ (μ m)	Control (3rabbits)	1st superovulation (3 rabbits)	2nd superovulation(17-day interval, 3 rabbits)	3rd superovulation	
					17-day interval, (3 rabbits)	30-day interval, (3 rabbits)
Mature rabbit	<300	1.0 \pm 0.6 ²⁾	1.0 \pm 1.0		1.0 \pm 0.6	3.7 \pm 1.5
	301-500	10.3 \pm 2.6	11.3 \pm 1.5		4.3 \pm 0.9	10.0 \pm 2.5
	501-700	9.0 \pm 2.0	6.7 \pm 3.4		11.0 \pm 2.1	8.7 \pm 2.2
	701-900	4.7 \pm 1.8	5.3 \pm 1.2		8.3 \pm 0.3	6.3 \pm 2.7
	901-1100	0.7 \pm 0.3	1.7 \pm 1.2		2.0 \pm 0.5	1.7 \pm 0.3
	>1101	1.0 \pm 1.0	1.0 \pm 0.6		0	0.7 \pm 0.3
	Mean	26.3 \pm 2.8	29.7 \pm 2.7		26.7 \pm 2.7	31.0 \pm 2.1
Immature rabbit	<300	2.7 \pm 2.2	4.7 \pm 2.7	4.0 \pm 0.6	2.3 \pm 0.9	
	301-500	24.7 \pm 2.9	27.7 \pm 1.3	25.7 \pm 2.3	25.3 \pm 4.7	
	501-700	29.3 \pm 2.9	10.7 \pm 0.7	11.3 \pm 1.9	17.3 \pm 3.4	
	701-900	11.0 \pm 1.5	13.7 \pm 4.5	1.7 0.9	11.3 \pm 4.1	
	901-1100	1.7 \pm 0.9	1.3 \pm 0.9	0.7 \pm 0.3	2.3 \pm 1.2	
	>1101	0.7 \pm 0.3	0.5 \pm 0.4	—	0.7 \pm 0.3	
	Mean	69.7 \pm 4.5	57.7 \pm 2.0	45.7 \pm 3.1	59.3 \pm 7.5	

1) Growing follicles with incipient early antral formation.

2) Mean \pm standard error.

보면 成熟토끼 때와 마찬가지로 300~700 μ m 크기의 것이 가장 많은 빈도를 보였다. 그러나 成熟토끼와는 달리 過排卵處理에서 700~900 μ m 크기의 卵胞數가 다소 增加되는 傾向을 보여주었다.

이상의 本 試驗結果에서 過排卵의 成熟토끼의 경우 成長中인 卵胞數가 處理間에 차이가 없었던 結果는 Greenwald(1974)가 hamster에서 發精週期 동안에 PMSG를 投與할 때 成長中인 卵胞數가 對照區보다 많았다는 보고와 宮本 등(1978)이 未産원쥐에서 對照區보다 앞서 PMSG를 投與할 때 成長中인 卵胞數가 많았다는 結果와도 다른 結果였다. 한편 Pedersen(1969)이 過排卵誘起時에 卵巢內에 存在하는 胞狀卵胞數에 따라 排卵效果에 차이가 있다는 結果와는 다소 유사한 結果였다.

未成熟토끼에서 成熟토끼보다 過排卵處理에서 成長中인 胞狀卵胞의 數가 약 2倍 增加된 結果는 아직 이에 대한 연구보고가 없기 때문에 比較考察할 수는 없었다. Zarrow와 Willson(1961) 및 Neal과 Challoner(1975)가 未成熟생쥐에서 PMSG와 HCG 投與에서 24日과 28日分에서 가장 排卵效果가 높았다는 結果와 一致된 傾向을 보여주었다. 그러나 Pedersen(1969)이 過排卵效果가 卵巢內에 存在하는 胞狀卵胞數에 좌우된다는 보고와 Peters(1969)가 成熟直前보다 未成熟때 中程度 크기의 卵胞가 많이 存在한 경우에 높았다는 結果를 推論할 수는 없었다.

V. 摘要

本 試驗은 反復過排卵토끼에 있어서 卵巢의 變化를 觀察하기 위하여 시도하였으며 供試된 토끼는 New Zealand White와 Californian 種으로서 成熟토끼 32頭 計 57頭였다.

反復過排卵을 위하여 成熟토끼는 17日과 30日 間격으로 未成熟토끼는 17日 間격으로 PMSG와 HCG를 投與하였으며 17日 間격의 反復過排卵에서는 交尾後 8~9日에 PGF₂ α 를 投與하여 偽妊娠 黃體를 退行시켰다. 調査時期는 成熟토끼는 3日, 交尾後 未成熟토끼는 交尾後 3日과 6日이었다.

1. 成熟토끼에서 2次와 3次反復過排卵 때의 排卵數는 17日 間격의 경우 7.0개와 5.5개였으며, 30日 間격에서는 13.4개와 6.0개로서 對照區의 10.3개와 유사하였다. 그러나 1次過排卵 때의 22.1개보

다는 有意적으로 적었다. ($P < 0.05$)

2. 未成熟토끼에서 2次와 3次反復過排卵 때의 排卵數는 5.3개와 2.3개로서 1次過排卵 때의 17.1개보다 월등히 적었다. ($P < 0.05$) 2次反復過排卵 때의 排卵數는 對照區와 有意성은 없었으나 3次反復過排卵 때의 卵數는 對照區보다 월등 적었다. ($P < 0.05$)

3. 成熟토끼에서 1次過排卵 때 直徑 1mm 이상의 總可視正狀卵胞數와 血胞數는 19.1개와 8.9 개로서 對照區보다 많은 傾向이었다. 2次와 3次反復過排卵에서 17日 間격의 경우 正常卵胞數와 血胞數는 각각 8.3개와 6.3 및 17.8개와 2.0개이었으며, 30日 間격에서는 15.5개와 5.2개 및 14.5개와 7.8개이었다.

4. 1次過排卵의 未成熟토끼에서 交尾後 3日과 6日때의 直徑 1mm 이상의 總可視正狀卵胞數는 각각 27.3개와 26.1개로서 3日때의 正常卵胞數는 對照區보다 많은 傾向이었으나 6日때는 對照區와 差異가 없었다. 交尾後 3日과 6日때의 總血胞數는 10.2개와 9.9개로서 對照區보다 많은 傾向이었다. 2次와 3次反復過排卵에서 交尾後 3日과 6일 때의 總正常卵胞數는 3次過排卵에서 다소 감소되었고, 總血胞數는 反復過排間에 差異가 없었다.

5. 成熟토끼의 成長中인 卵胞數는 1次 過排卵과 17日 間격의 3次反復過排卵에서 總 29.7개와 26.7개였으며, 30日 間격의 3次過排卵에서는 31개로서 對照區와 差異가 없었다. 未成熟토끼의 경우는 1次, 2次 및 3次過排卵 때의 總成長 卵胞數가 각각 5.7개, 45.0개 및 59.3개로서 對照區보다 다소 적었으나 有意성은 없었다.

引用文獻

1. Adams, C.E. 1953. Inhibition of superovulation in the rabbit. *Nature, Lond.*: 172: 82.
2. Adams, C.E. 1961. Artificial insemination in the rabbit. *J. Reprod. Fert.*, 2: 521-622.
3. Edwards, R.G., E.D. Wilson and R.E. Fowler. 1963. Genetic and hormonal influences on ovulation and implantation in adult mice treated with gonadotrophin. *J. Endocr.*, 26:
4. Foote, R.H. and H. Onuma. 1970. Superovulation, ovum collection, culture and transfer. *A Review.*

- J. Dairy Sci., 53: 1681.
5. Gordon, I. 1975. Problems and prospects in cattle egg transfer. *Irish Vet.*, 29: 21.
 6. Greenwald, G.S. 1974. Quantitative aspects of follicular development in the untreated and PMS-treated cyclic hamster. *Anat. Rec.*, 178: 139-144.
 7. Kennelly, J.J. and R.H. Foote. 1965. Superovulatory response of pre- and post-pubertal rabbits to commercially available gonadotrophins. *J. Reprod. Fert.*, 9: 177-188.
 8. Lin, T.P. and D.W. Bailey. 1965. Difference between two inbred strains of mice in ovulatory responses to repeated administrations of gonadotrophins. *J. Reprod. Fert.*, 10: 253-259.
 9. Lubbadah, W.F., C.N. Graves and S.L. Spahr. 1980. Effect of repeated superovulation on ovulatory response of dairy cows. *J. Anim. Sci.*, 50: 124-127.
 10. Maurer, R.R. and R.H. Foote. 1971. Maternal ageing and embryonic mortality in the rabbit. I. Repeated superovulation, embryo culture and transfer. *J. Reprod. Fert.*, 25: 329-341.
 11. Maurer, R.R., W.L. Hunt and R.H. Foote. 1968. Repeated superovulation, following administration of exogenous gonadotropins in dutch-belted rabbits. *J. Reprod. Fert.*, 15: 93-102.
 12. Neal, P. and S. Challoner. 1975. The development of the mouse ovary and its response to exogenous gonadotrophins. *J. Reprod. Fert.*, 45: 449-454.
 13. Numazawa, A. and S. Kawashima. 1982. Morphometric studies on ovarian follicles and corpora lutea during the oestrous cycle in the mouse. *J. Reprod. Fert.*, 64: 275-283.
 14. Onuma, H.H., J. Hahn, R.R. Maurer and R.H. Foote. 1969. Repeated superovulation in calves. *J. Anim. Sci.*, 28: 634-637.
 15. Palsson, H. 1962. Augmentation of fertility of Iceland ewes with pregnant mare serum in successive years. *J. Reprod. Fert.*, 3: 55-63.
 16. Parkes, A.S. 1943. Induction of superovulation and superfecundation in rabbits. *J. Endocr.*, 3: 268-279.
 17. Peddie, M.J. 1980a. Follicular development in the immature guinea pig. *J. Endocr.*, 84: 323-331.
 18. Peddie, M.J. 1980b. Follicular development in the adult guinea-pig and responses to human chorionic gonadotrophin. *J. Endocr.*, 85: 9-16.
 19. Pedersen, T. 1969. Follicle growth in the immature mouse ovary. *Acta endocr.*, 62: 117-132.
 20. Peters, H. 1969. The development of the mouse ovary from birth to maturity. *Acta endocr.*, 62: 98-116.
 21. Scanlon, P.E. 1972. Ovarian response of cows following PMSG treatment during two successive estrous cycles. *J. Dairy Sci.*, 55: 527-532.
 22. Turman, E.J. and R.P. Wettemann. 1978. Follicular growth and superovulation in beef cows following repeated treatment with PMSG. *J. Anim. Sci.*, 47(Suppl. 1): 396.
 23. Venge, O. 1950. Studies of the maternal influence on birth weight in rabbits. *Acta. Zool., Stockh.*, 31: 1.
 24. Warren, W.R., A.B. Bercovitz, J.I. Kreider and R.A. Godke. 1975. Follicular stimulation in beef heifers with continuous FSH injection. *J. Anim. Sci.*, 41: 384(Abstr.).
 25. Willett, E.L., P.J. Buckner and W.H. Mcshan. 1953. Refractoriness of cows repeatedly superovulated with gonadotrophins. *J. Dairy Sci.*, 36: 1083-1088.
 26. Zarrow, M.X. and E.D. Wilson. 1961. The influence of age on superovulation in the immature rat and mouse. *Endocr.*, 69: 851-855.
 27. 角田辛生, 人谷 明, 西川義正. 1978. 家兎の過排卵ならびに反復過排卵誘起に關係する研究. *日畜會報*, 49: 89~95.
 28. 官本元, 勝浦五郎, 石橋武彦. 1978. 無處理および PMSG 處理ラットにおける卵胞の發育. *日畜會報*, 49: 808~816.
 29. 金川(弘). 1980. 實用化された牛の受精卵移植. *日獸會誌*, 33: 363~372.
 30. 石島芳郎. 1982. 反復過排卵處理家兎の排卵反應の推移. *獸醫畜産新報*, 73: 26~28.
 31. 石島芳郎, 桜井誠一. 1972. 第13回 哺乳動物卵子談話要旨, 2.
 32. 石島芳郎, 伊藤雅夫, 平林 忠, 佐久間勇次. 1968.

- PMSによる家畜の過排卵誘起における Estrogen 併用の効果. 家畜繁殖誌, 14:43~36.
33. 石島芳郎, 伊藤稚夫, 田嶋洪. 1969. PMSによる家兔の過排卵誘起における Estrogen 併用の効果(その 2). 家畜繁殖誌, 15:109~111.
34. 鄭吉生, 朴欽大, 盧煥喆. 1983. 受精卵移植에 의한 牛의 雙胎誘起에 關한 研究Ⅱ, 多排卵處理의 反復이 卵巢反應과 受精. 韓畜誌, 25:267~271.
35. 穴吹一廣, 石島芳郎, 平林 忠. 1977. マウスの反復過排卵誘起, とくに短 期間の反復處理の影響. 畜産の研究, 31:79~80.
36. 穴吹一廣, 石島芳郎, 平林 忠. 1978. マウスの反復過排卵誘起とくに性周期を考慮した 反復間隔について. 畜産の研究, 32:1255~1256.