

한우에 있어서 초음파기기를 이용한 생체내 난자 채취에 관한 연구

I. 발정주기중 난소의 특성 변화

박성재 · 양보석 · 임기순 · 성환후 · 장원경 · 조성근* · 박충생*

축산기술연구소

Studies on the Ultrasound-guided Transvaginal Retrieval of Oocytes in Korean Native, Hanwoo Heifers

I. Characteristics of Hanwoo Ovary during the Estrous Cycle

Park, S. J., B. S. Yang, G. S. Im, H. H. Seong, W. K. Chang, S. K. Cho* and C. S. Park*

National Livestock Research Institute, R.D.A.

ABSTRACT

This study was conducted to establish the methods of ultrasound-guided transvaginal retrieval of oocytes (ovum pick-up) in Korean native, Hanwoo Heifers. To obtain the basic data about Hanwoo, the size of ovaries in luteal and follicular phases were measured and the number of follicles in ovaries during the estrus cycle was counted by using ultrasound. And to determine the effective anesthetic to Hanwoo, various mixture of anesthetic compounds, Rompun®, lidocaine, Monzal®, and Domosedan®, were treated. The size of Hanwoo ovaries were not significant differently between luteal and follicular phases. The number of medium and small follicles were peak on day 3 and 12 of the estrous cycle, and this result suggested that Hanwoo has 2 follicular growth waves per estrus cycle. The most effective anesthetic method was intramuscular injection of 0.3ml Rompun®, epidural injection of 5ml lidocaine and sprayed cervix by 2ml lidocaine.

(Key words: Anesthetic method, Ovarian size, Follicular wave, Hanwoo)

I. 서 론

포유동물인 소는 발정주기중 뇌하수체로부터 분비되는 성선자극 호르몬의 영향으로 난소는 난포의 발육, 배란, 황체의 형성과 퇴행 등 주기적인 변화 양상을 보인다. 이러한 난소의 변화에 관한 연구는 1980년대 이후 초음파진단기기의 발달에 따라 생체에서 발정주기동안 난포의 발육주기를 조사하였으며 (Pierson과 Ginter 등, 1984, 1988; Savio 등, 1988), 또한 최

근에는 고능력우로부터 생체내 난자를 채취하여 이를 체외수정 기술을 접목하여 수정란을 대량생산하기에 이르렀다 (Pieterse 등, 1991).

이러한 생체내 난자채취 기술에 의한 수정란 생산 기술을 한우에 응용하기 위하여는 발정주기에 따른 난소의 크기를 숙지하여야 하며, 난포의 발육 양상에 관한 기초조사가 이루어져야 할 것이나, 국내에서 한우에 관한 연구는 전무한 실정이다. 또한 이 기술의 적용을 위하여는 공란우를 진정·마취하여 시술시 시술자가 용이하게 직장벽을 통하여 난소의 조직이 용이하여

*경상대학교(Kyeongsang National University)

야 하며 마취제에 따른 효과는 소의 품종간, 개체간에 다소 다르다.

따라서 본 연구는 한우에 있어서 생체내 난자 채취 기술과 체외수정 기술을 접목하여 고능력 한우로부터 수정란을 대량 생산하기 위한 기초 연구로서, 발정주기에 따른 난소의 크기와 난포의 발육 양상을 초음파 진단기를 이용하여 조사하였으며, 여러 마취·진정제를 조합 이용하여 마취효과를 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 발정주기에 따른 난소 특성

한우 난소의 특성을 조사하기 위해서, 미경산 도축 암소의 난소를 좌우측 구분을 하고 육안적 관찰에 의하여 켈리퍼스로 크기를 측정하였으며, 초음파진단기에 의한 난소의 크기 및 발정주기중의 난포의 발육양상은 축산기술연구소에서 사용하고 있는 미경산우 10두를 이용하여 2회의 발정주기 동안 3일 간격으로 6.5MHz 탐촉자가 부착된 Sonoace 600 (Medison 사, 한국)기기를 이용하여 발정주기에 따른 난소의 크기 및 난포의 발달수를 조사하였다. 난포는 크기에 따라 직경 2~3 mm 난포는 소난포로, 4~7 mm 난포는 중난포로, 8 mm 보다 큰 난포는 대난포로 분류하여 조사를 하였다.

2. 마취제 조합에 따른 마취·진정 효과

공란우의 체중은 390 ± 10 kg 이었으며, 공란우는 보정틀에 보정시킨 후 진정을 유도하기 위해 0.3, 0.5 또는 0.7ml의 2% xylazine hydrochloride (Rompun[®], Bayer, Korea)을 근육주사하고, 부가적으로 5, 10 또는 20ml의 lidocaine HCl (광명, 한국)을 이용 경막의 마취를 하였다. 또한 OPU 시술시 직장 주변의 평활근을 이완시켜 난소의 조작을 용이하게 하기 위하여 vetrabutrin hydrochloride (Monzal, BASF Labiana, Spain)을 5ml 또는 10ml를 근육주사하거나 detomidine hydrochloride (Domosedan; Smith-Kline Beecham Animal Health, Finland)을 체중 100 kg당 0.1 ml를 정맥주사하였다. 또한 자궁경부 주변에 마취를 유도하여 주사바늘 통과시 고통을 줄이기 위해 lidocaine HCl을 2 ml을 도포하여 OPU 시술시 난소를 자유롭게 만질 수 있는 정도의 차이로

서 마취효과의 수준을 조사하였다. 채란자의 주관적인 판단으로 마취효과를 조사하였는데 이는 생체로부터 난포란을 채란하는 연구자가 아니면 체내에서 느끼는 마취의 정도를 정확히 알 수 없으나, 최대한으로 객관적으로 판단하려고 노력하였다. 마취효과는 공란우가 채란시 서 있으면서 요동이 있는 수준의 차이로 진정효과의 정도를 나타내고, 공란우가 채란용 바늘 천자시 움직이거나 통증(후구요동)을 보이는 정도로서 후구의 마취 정도를 조사하였고, 공란우에 대해 채란자의 손이 직장내에 들어가서 난소를 촉지하기가 자유로운 정도로서 직장의 이완 정도를 조사하였다. 만약 마취제를 과량 사용한 경우는 채란을 실패하는 경우가 있을 수도 있다. 다시 말해서, 진정효과에 대한 기준은 공란우가 채란자에 대해 공포감을 표시하거나 공란우가 요동이 있는 상태를 가지고 등급을 나누었으며, 후구의 마취 정도는 공란우에 채란용 바늘이 자궁경 옆 근육으로 천자될 때 움찔하거나 움직여서 통증을 나타내는 정도로서 점수를 나타내었는데 바늘의 천자시 움직이지 않거나 통증을 나타내지 않으면 높은 점수를 주었다.

직장의 이완 정도는 채란자가 난소를 자유롭게 만질 수 있는 수준의 차이로서 점수를 나타내었는데, 각 항목에서 점수가 높을수록 공란우에 대해 채란이 쉬웠다는 것을 나타냈다. 자궁경부 주변의 마취는 국소마취제인 Lidocaine HCl의 표면 마취효과를 이용하였는데, 마취제의 도포는 인공수정용 sheathe를 이용하여 경부 주변에 도포를 하고 경부 주변을 손으로 주물러서 마취범위를 넓혔다.

채란작업에서 마취의 정도를 계수화하여 합한 값을 total score에 나타내었는데 점수의 크기는 생체내로부터 미성숙난포란을 채란하기가 용이하였다는 것을 의미한다. 점수가 높은 조합은 다른 마취제 조합에 비해 채란이 용이하였다는 것을 의미한다.

3. 통계학적 분석

모든 자료는 χ^2 -분석법과 Student t-test 검정법으로 분석하였다.

III. 결과 및 고찰

1. 한우 난소 크기 조사

Table 1. Comparison of size of right and left ovaries in follicular or luteal phase of estrus cycle

Ovary source [†]	Side [‡]	Ovary cycle [§]	No. of ovaries	Size of ovaries (Mean ± SD, mm)	
				Length	Height
SL	R	F	13	35.8 ± 3.9	21.7 ± 3.9
		CL	27	41.1 ± 6.6	27.6 ± 4.7
	L	F	24	39.4 ± 8.1	22.4 ± 4.9
		CL	13	37.3 ± 9.1	25.2 ± 3.0
UL	R	F	46	29.8 ± 5.5	21.5 ± 4.1
		CL	56	29.9 ± 5.9	22.7 ± 4.9
	L	F	47	26.9 ± 5.0	20.7 ± 3.8
		CL	51	28.1 ± 5.9	21.4 ± 4.6

[†] SL : Size of slaughtered ovaries were measured by using calliper.

UL : Size of ovaries was measured by using ultrasonography.

[‡] R : right ovary, L : left ovary

[§] F : ovaries which have large follicles without functional corpus luteum.

CL : ovaries which have functional corpus luteum.

한우에 있어서 도축 암소의 난소를 캘리퍼스를 이용하여 실측을 하고, 생체 난소는 초음파기기를 이용하여 측정 한 결과는 Table 1에서 보는 바와 같다.

한우의 난소를 초음파기기로 측정하는 값과 실제 계측기와와의 실측치에 차이가 있는 지를 알아 보기 위해서, 동일한 난소를 가지고 난소를 측정해 본 결과 난소를 캘리퍼스로 실측한 결과와 초음파기기를 이용 측정 한 측정치간에 유의적인 차이가 없었다. 그리고 좌측 또는 우측 난소 그리고 발정주기 중의 난포기 또는 황체기에 따른 크기에 있어서도 유의적인 차이(P<0.05)가 인정되지 않았다.

이와 임(1982)등이 도축 한우 난소를 실측한 결과, 한우에 있어서 난소의 길이는 좌측 난소의 60.2%와 우측 난소의 50.7%가 3.0~3.9 cm의 범위에 속하며, 난소의 높이는 좌측 난소의 69.9%와 우측 난소의 58.9%가 2.0~2.9 cm였으며 전체적으로 우측 난소가 좌측 난소에 비하여 크다고 보고하여, 본 연구에서 얻어진 난소의 위치에 따른 크기에는 차이가 인정되지 않는 결과와는 다소 차이가 있었다.

이러한 차이는 조사하는 난소의 발정주기중의 시기, 즉 황체기 또는 난포기에 있는 비율, 도축되는 암소의 연령, 질병 유무, 영양상태 등의 난소의 크기에 영향을 미치는 여러 요인들의 차이에서 기인된 것으로 사료된다. 또한 본 연구에서 얻어진 도축 난소를 이용한 실측

치와 초음파기기를 이용한 측정치간에 차이가 없었던 결과는 금후 한우를 이용 생체내 난자채취에 관한 연구에 중요한 기초 자료가 될 것으로 사료된다.

2. 발정주기중 난소내 난포의 발육

한우에 있어서 발정주기중 난포수의 발달수를 조사하기 위하여 정상발정 주기를 보이는 한우 10두를 공시하여 3일마다 초음파진단기기를 이용하여 조사한 결과는 Fig. 1과 같다.

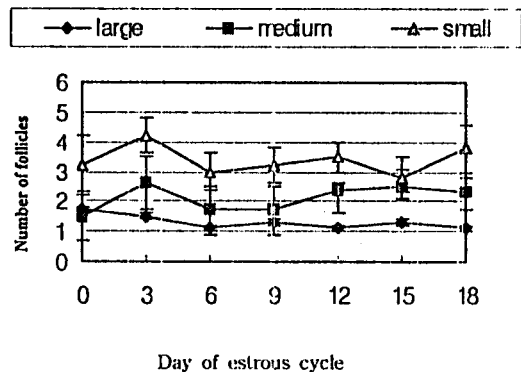


Fig. 1. Follicular development during estrus cycle in Hanwoo cows. *Diameter of follicle : Large: >8 mm, Medium: 4~7 mm, Small: 2~3.

한우의 발정주기중 난소내 직경 8 mm 이상의 대난포 수는 1~1.5개로 발정주기중 차이가 없었으나, 직경 4~7 mm의 중난포와 2~3 mm의 소난포 수는 발정주기 3일째와 12일째에 2번의 정점이 조사되었으며, 2~3 mm의 소난포 수의 경우 발정주기 18일에 증가하는 경향을 보였다. 이와 같이 한우는 한 발정주기에 2회의 난포 발육주기를 보였다.

본 연구에서 얻어진 한우가 한 발정주기중 2회의 난포 발육주기를 갖은 결과는 Pierson과 Ginther 등(1984, 1988), Savio 등(1988) 및 Figueiredo 등(1997)이 보고한 대부분의 소는 발정주기 중 2회 또는 3회의 주기적인 난포 발육기를 가진다는 결과와 일치하는 경향이였다. 또한 Ginther 등(1989)은 발정주기 중의 난포발육기를 조사한 결과 2회의 발육기를 가진 개체의 경우에 1회는 배란일(발정 주기 0일) 그리고 2회째는 발정주기 10일째에 난포의 발육이 시작이 되며, 3회의 발육기를 가진 경우는 발정주기 0, 9 및 16 일째에 시작된다고 하여 본 연구에서 얻어진 소난포와 중난포의 수가 3일째와 12일째에 증가하는 주기가 조사되어 다소 다른 경향을 나타내었다. 이와 같은 다소의 차이는 Bo 등(1995)이 보고한 난포 발육주기가 개체간의 변이가 있으며 특히 2회째 발육시작기에 심하다는 결과로 미루어 볼 때, 한우 품종의 특성으로 사료되며, 본 연구에서 얻어진 한우의 발정주기 중 난포 발육주기에 관한 결과는 금후 난포란의 채란이나 수정란 이식 기술의 문제점의 일부분인 과배란처리시 다난포

의 발육이 부진한 문제점을 해결할 수 있는 기초 결과로 활용될 수 있을 것이라 사료된다.

3. 초음파 채란을 위한 마취방법별 효과

한우에서 초음파유도 난포란 채란을 위한 안정적인 진정 및 마취방법을 구명하기 위해 5가지의 처리방법을 비교한 결과는 Table 2와 같다.

Table 2에서 보는 바와 같이 가장 효과적인 마취제의 조합은 E 주사구로서 0.3ml의 Rompun®을 근육주사하고 5ml의 lidocaine을 경막의 마취한 후 lidocaine 2ml를 자궁경에 도포하는 경우였으며, 가장 비효과적인 조합은 C 처리구로서 0.3ml의 Rompun®을 근육주사하고 10ml의 lidocaine을 경막의 마취한 후 10ml의 Monzal®을 근육주사하는 경우였다. 마취반응을 살펴 보면 모든 마취제 조합에서 전신마취는 효과적이었으나 척추마취와 직장의 이완 정도는 마취제 조합간에 유의적인 차이가 있었다($P < 0.05$).

Rompun®은 주사하는 용량에 따라 진정제 또는 마취제로 이용되는 제제로서 소에 있어서 진정을 위하여는 체중 100 kg당 0.3 ml를 근육주사하며 진정효과는 주사후 5~15분에 나타나 30분 이상 지속된다. Monzal®은 0.1% vetrabutrin HCl로서 자궁경, 질 등의 이완시켜 분만시 모축의 스트레스나 자궁파열의 위험을 감소시켜 주는 제제로서 소에서 10~15 ml를 근육주사하면 주사후 30분후부터 효과가 나타나 2시간까지 지속되며, Domosedan®은 1%의 detomidine

Table 2. Effect of various mixtures of anesthetic compound on anesthetic responses in Hanwoo cows

Anesthetic protocols*	Replication	General narcosis(%)	Back bone narcosis(%)	Loosening rectum(%)	Total score (mean)
A	38	30(79) ^b	33(87) ^{ab}	27(71) ^b	0.76
B	87	80(92) ^a	81(93) ^{ab}	73(84) ^{ab}	0.89
C	42	37(88) ^{ab}	35(83) ^b	32(76) ^{ab}	0.82
D	65	61(94) ^a	58(89) ^{ab}	49(75) ^b	0.87
E	175	164(94) ^a	166(95) ^a	155(89) ^a	0.93

^{ab} : Different superscripts denote significant differences($P < 0.05$).

* A : Rumpun®, 0.7ml(i.m.)+Lidocaine, 20ml(epi.)

B : Rumpun®, 0.5ml(i.m.)+Lidocaine, 5ml(epi.)+Monzal, 5ml(i.m.)

C : Rumpun®, 0.5ml(i.m.)+Lidocaine, 10ml(epi.)+Monzal, 10ml(i.m.)

D : Rumpun®, 0.5ml(i.m.)+Lidocaine, 5ml(epi.)+Domosedan, 0.1ml/100kg(i.v.)

E : Rumpun®, 0.3ml(i.m.)+Lidocaine, 5ml(epi.)+Lidocain, 2ml(cervix spray)

HCl과 0.1%의 methyl paraben이 함유된 진정, 진통제로서 체중 100kg 당 0.2~0.4ml을 주사하며 효과는 2~5분 후에 나타나 30분에서 2시간 지속된다. 또한 lidocaine은 국소 및 표면마취 효과가 강력하여 경막의 마취시 최고 25ml 까지 주사도 가능하다. 따라서 본 연구는 한우 OPU에 관한 기초 연구로서 공란우의 진정과 직장을 통한 난소의 조작을 용이하게 하기 위하여 이들 제제들을 동시에 투여하였으나 Monzal[®]과 Domosedan[®]은 한우에는 효과가 미미하였으나 Kruip 등(1994)은 젖소의 경우 Domosedan[®]을 이용하여 체중 100kg당 1mg을 정맥주사시 평활근의 이완효과가 좋았다는 결과와는 다소 다른 결과였다. 이러한 보고자간의 차이가 품종간의 차이에서 기인된 것인지 더 많은 두수를 이용 구명할 필요가 있다고 사료된다. 또한 본 연구에서 얻어진 E처리구에서 가장 좋았던 결과는 소량의 Rompun[®]에 의하여 진정이 된 후 lidocaine 경막의 마취로 후구의 마취효과를 유도하며, 동시에 이 개체를 자궁경관 주변에 도포하여 줌으로써 경부 주변의 표면마취의 효과로 인하여 생체내 난자 채취를 위한 마취반응이 나타난 것으로 사료된다.

양호한 마취의 정도는 마취제의 주사후 공란우가 채란시간 및 채란후 이동시간 동안 공란우에서 불편함이 없는 수준을 나타내는 것인데, 만약 마취제를 잘못 사용하면 채란에 실패하는 경우가 발생하므로 적량을 사용해야 한다.

IV. 요약

한우에 있어서 생체내 난자 채취기술과 체외수정 기술을 접목하여 고능력 한우로부터 수정란을 대량 생산하기 위한 기초 연구로서, 발정주기에 따른 난소의 크기와 난포의 발육 양상을 초음파진단기를 이용하여 조사하였으며, 여러 마취·진정제를 조합 이용하여 마취 효과를 조사하여 얻어진 결과는 다음과 같다.

1. 한우의 난소의 크기는 도축 난소의 실측치와 생체에서 초음파진단기를 이용한 측정치간에 유의적인 차이가 인정되지 않았으며, 발정주기중 난포기때와 황체기때 크기를 비교해도 유의적인 차는 인정되지 않았다.
2. 한우의 발정주기중 난소내 발육하는 소난포와 중난포의 수는 3일과 12일 째에 증가하는 한 발정

주기에 2회의 난포발육기가 있었다.

3. 한우의 최적 마취조합은 0.3ml의 Rompun[®]을 근육주사하고 5ml의 lidocaine을 경막의 마취한 후 lidocaine 2ml을 자궁경에 도포하는 경우였다.

V. 인용문헌

1. Bo, G. A., G. P. Adams, R. A. Pierson and R. J. Mapletoft. 1995. Exogenous control of follicle wave emergence in cattle. *Theriogenology*, 43:31-40.
2. Figueiredo, R. A., C. M. Barros, O. L. Pinheiro and J. M. P. Soler. 1997. Ovarian follicular dynamics in Nelore breed (*Bos indicus*) Cattle. *Theriogenology*, 47:1489-1505.
3. Ginther, O. J., L. Knopf and J. P. Kastelic. 1989. Temporal associations among ovarian events in cattle during oestrous cycles with two and three follicular waves. *J. Reprod. Fertil.*, 87:223-230.
4. Kruip, Th. A. M., R. Boni, M. W. M. Roelofs, and M. C. Pieterse. 1994. Potential use of ovum pick-up for embryo production and breeding in cattle. *Theriogenology*, 42:675-684.
5. Pierson, R. A. and O. J. Ginther. 1984. Ultrasonography of the bovine ovary. *Theriogenology*, 21:495-504.
6. Pierson, R. A. and O. J. Ginther. 1988. Ultrasonic imaging of the ovaries and uterus in cattle. *Theriogenology*, 29:21-37.
7. Pieterse, M. C., P. L. A. M. Vos, Th. A. M. Kruip, Y. A. Wurth, Th. H. Van Beneden, A. H. Willemse and M. A. M. Taverne. 1991. Transvaginal ultrasound guided follicular aspiration of bovine oocytes. *Theriogenology*, 35:19-24.
8. Savio, J. D., L. Keenan, M. P. Boland and J. F. Roche. 1988. Pattern of growth of dominant follicles during the oestrous cycle of

heifers. J. Reprod. Fert., 83:663-671.

9. 이용빈, 임경순. 1982. 屠殺牝牛의 繁殖障礙例 調

査研究. 한국가축번식연구회지, 6:19-30.

(접수일자 : 2000. 2. 1. / 채택일자 : 2000. 3. 14.)