

PEG 용해 FSH 투여방법에 따른 소 과배란 유기 및
수정란이식 효율

최수호 · 박용수 · 조상래² · 강태영³ · 신상희 · 강삼순 · 노규진¹ · 최상용[†]
경상북도 축산기술연구소

**Superovulation Response and Quality of Embryos Recovered
from Cattle after a Single Subcutaneous Injection of FSH
Dissolved in Polyethylene Glycol**

S. H. Choi, Y. S. Park, S. R. Cho², T. Y. Kang³, S. H. Sin, S. S. Kang,
G. J. Rho¹ and S. Y. Choe[†]

Kyoung-buk National Livestock Research Institute

SUMMARY

This study was carried out to assess the effect of superovulation response and quality of embryos recovered from donor cows after a single subcutaneous injection of FSH dissolved in polyethylene glycol (PEG).

Cows were allocated into control and 3 experimental treatment groups. In control, cows were injected intramuscularly 50 mg FSH twice daily for 4 days. Group 1 were injected subcutaneously with a single dose of 400 mg FSH dissolved in 30% PEG solution. Group 2 were injected subcutaneously with a single dose of 200 mg FSH dissolved in 30% PEG solution. Finally in group 3, cows were injected twice 200 mg FSH dissolved in 30% PEG solution by subcutaneous. Superovulation was initiated by injection of FSH between Day 8 and 14 of the estrus cycle (Day 0, the day of estrus), and followed by injection of 25 mg PGF₂α at 48 h after first FSH injection. Cows were then artificially inseminated (AI) with semen twice at 48 and 60 h after PGF₂α injection. At 7 days after the second AI, embryos collected non-surgically by flushing the uterine horns and were counted and compared morphologically as being transferable and degenerated among different superovulation treatments. Furthermore, progesterone and estradiol-17β in plasma were measured by radioimmunoassay following different treatments at given days.

All cows of treated groups were observed heat, but control group was showed 77.8%. Superovulation response was observed as 77.8, 87.5, 88.9, and 100% in control, Groups 1, 2 and 3. The mean number of corpus lutea (CL) detected in Group 1 were 19.6, which was, respectively significantly (P<0.05) higher than those of other groups (11.1, 13.4 and 9.6, respectively). However, there did not differ on the mean number of total embryos recovered and of transferable embryos between control and treated groups. Embryos classified excellent were

¹ 경상대학교 수의과대학(College of Veterinary Medicine, Gyeongsang National University)

² 경상대학교 응용생명과학부(Division of Applied Life Science, Gyeongsang National University)

³ 제주대학교 수의학과(Department of Veterinary Medicine, Cheju National University)

[†] Correspondence; sychoe@nongae.gsnu.ac.kr

revealed higher rates in Group 3 than others. In Group 2, only 4% of recovered ova remained in being unfertilized, whereas 29.7, 15.8 and 18.7% in control, Group 1 and Group 3, respectively. No difference in the pregnancy rate by transfer of recovered embryos was observed in control and treated groups (37.0 vs. 30~38%). Similar were the observations with the secretory patterns of blood progesterone and estradiol-17 in control and treated groups.

In conclusion, a single subcutaneous injection with FSH dissolved in PEG to induce superovulation in cows did not differ from multiple intramuscular injection protocol on the rates of recovery, transferable and pregnancy rate. However, a single injection is more practical for superovulation treatments than frequent injection because of reduction of stress in cattle and decreases of cost and labor.

(Key words : superovulation, single injection, FSH, PEG, cow)

서 론

소의 번식과 개량을 위하여 인공수정이 널리 이용되고 있으나 이는 종모우의 유전형질만이 획득되어진 것으로 종빈우의 형질은 고려되지 않았다. 이를 보완하기 위해 1970대 초기부터 수정란이식 기법이 유전적인 능력개량의 수단으로 널리 활용되어져 왔다. 즉 능력이 우수한 공란우를 과배란 처리 후 수정란을 회수하여 능력이 낮은 우군에 이식한 후 일시에 다수의 고능력우를 생산하여 우군의 능력을 조기에 개량하는 MOET (Multiple Ovulation Embryo Transfer) 방법이 이용되고 있다.

현재 미국 홀스타인 협회에 등록된 종모우 상위 100두 중 70% 정도가 과배란 처리를 통한 수정란 이식으로 태어난 종모우이다. 국내에서는 최근 2두가 수정란 이식에 의해 한우 종모우로 등록되었는데 종모우의 효율적 선발 및 국내 우수유전자 확보와 개량기간 단축을 위해 MOET Program을 국내 실정에 맞게 구체적으로 적용시키는 사업이 활성화되어야 할 것으로 사료된다.

수정란 이식기술을 산업화하기 위해서는 근본적으로 과배란 처리방법이 확립되어야 한다. 과배란 처리 방법은 소 수정란이식에 있어서 가장 핵심적인 기술이지만 아직까지는 이식 가능한 수정란을 안정적이고 효과적으로 생산하는 데 많은 문제점이 남아 있다. 현재 사용되는 소의 과배란 처리 호르몬으로 PMSG와 뇌하수체에서 추출한 FSH를 주로 사용하고 있다. PMSG는 sialic acid가 함유된 복합당단백질로 투여 후 2차 난포를 자극시

킴으로써 난포란의 발육을 촉진시키게 한다. 회수된 수정란의 양적인 면에서는 좋은 결과를 보이지만, 수정란의 질은 저하되고, 또한 난포의 배란 지연이나 난포낭종 발생으로 다음 발정주기에 영향을 미치게 된다 (Monnians 등, 1983). 이와 반대로 과배란 처리시 FSH를 사용하는 경우 회수되는 수정란의 질은 PMSG보다 우수하나 4~5시간의 짧은 반감기로 인해 하루에 2회씩, 4~5일간 연속해서 투여해야 하는 단점이 있다 (Demoustier 등, 1998; Walsh 등, 1993). 또한 동일 공란우에서도 발정주기 중 호르몬처리 개시일과 투여량 (Nasser 등, 1993; Akbar 등, 1974; Bo 등, 1991, 1994), 주위 환경의 온도 stress (Lucy 등, 1992; Wolfenson 등, 1997), 공란우의 호르몬 감수성 저하 (Shea 등, 1984), FSH 제제에 함유되어 있는 LH의 성분비율 (Gonzalez 등, 1990; Lindsell 등, 1986; Muphy 등, 1984; Tribulo 등, 1993; Willmott 등, 1990) 등도 문제점으로 인지되고 있다.

FSH를 여러 번 투여할 경우 수정란 생산에 영향을 주는 요인으로는 빈번한 주사로 인한 소의 직접적인 스트레스 및 12시간 간격으로 투여해야 하는 번거로움, 이에 따른 노동력과 수정란 생산경비의 증가가 수정란 이식의 산업화에 제한요인으로 작용되고 있다. 이러한 투여법의 문제점을 해결하기 위해 FSH의 생리적 반감기를 인위적으로 연장시킬 수 있도록 고분자 유기물질인 PVP(polyvinylpyrrolidone), CMC(carboxymethyl cellulose), propylene glycol, PEG (polyethylene glycol)등을 사용하여 호르몬의 투여 횟수를 줄이는 방법이 연구되어 왔다 (Takedomi 등, 1994; Suzuki, 1993;

Lopez-Sebastian 등, 1993; 임 등 1998). 국내에서는 실험동물인 토끼에서 최 등 (1996)이 Folltropin-V를 25% PVP에 녹여 과배란 유기를 하여 1회 투여가 다회 투여와 유사한 효과를 나타내어 간편하고 실용적인 방법이라고 보고하였다. 또한 산업동물인 한우에서도 임 등 (1998)에 의해서 공란우의 스트레스를 방지하고 정상수정란을 안정적으로 생산할 수 있는 1회 투여시 FSH의 용해제의 종류와 농도를 선정하기 위하여 1%와 5% CMC, 30%와 50% PVP, 30%와 50% PEG에 용해시킨 FSH의 1회 주사와 기존의 다회 주사에 의한 난소반응을 비교 검토한 결과 다회투여와 1회 투여 중 30% PEG에서 발정 유기율, 체란수와 정상수정란 수 및 FSH의 주사 후 7일째 혈중 progesterone 농도 등이 다른 용매제에 비해서 높게 나타났다고 보고되었다. 그러나 한우에서 1회 주사에 의한 과배란 유기 성적은 임 등 (1998) 외에는 보고자료가 거의 없는 실정이고, 임 등의 보고에서도 과배란 유기효과의 변이성이 크고 한우와 외국 품종간의 체중 차이에 의한 FSH의 난소반응이 고려되지 않았다.

따라서 본 실험에서는 FSH의 체내에서 흡수 지연을 유발하는 고분자 유기물질 중 30% PEG을 이용하여 한우에서 FSH의 투여량과 1회 또는 2회 투여시 progesterone 및 estradiol-17 β 의 농도 변화를 측정하고, 공란우의 발정유기, 난소반응, 이식 가능한 수정란수 그리고 이식 후 수태율 조사를 위한 연구를 수행하였다.

재료 및 방법

1. 공시동물

본 실험에 공시된 공란우는 경북축산기술연구

소에서 사육중인 공란우 33두로서 외모 및 생식기의 건강상태가 양호하고 정상 발정주기가 2회 이상 확인된 개체로서 평균체중은 432 kg이었으며 신체충실도(1~5기준)는 평균 2.83인 것을 공시하였다. 또한 아까바네병, 전염성 비기관염, 소 바이러성 하리 등에 대한 예방접종을 정기적으로 실시하였으며, 결핵, 브루셀라병, 요네병, 백혈병 등 각종 전염병의 발생이 없는 개체를 선발하였으며, 수정란이식을 위한 수란우의 선별도 건강상태가 양호하고 수태성, 체형 등에서 이상이 없는 정상적인 개체로 확인된 경산시 축산농가에서 사육중인 초산 및 2산차 홀스타인 55두를 공시하였다.

2. 과배란 처리 및 인공수정

공란우가 발정을 보이는 날을 0일로 하여 8~14일째 FSH (Falltropin-V, Vetrepharm, Canada)로 과배란 처리를 개시하였다. Table 1에서 보는 바와 같이 대조구의 과배란 처리는 12시간 간격으로 1일 2회, 4일간 50 mg의 FSH를 근육주사 하였고 (Gonzalez 등 1990), 처리구 1은 30% PEG에 용해시킨 400 mg의 FSH를, 처리구 2는 30% PEG에 용해시킨 200 mg의 FSH를 각각 1회 견갑부에 피하주사 하였으며, 처리구 3은 30% PEG에 용해시킨 200 mg의 FSH를 2회 견갑부에 피하주사하였다 (FSH의 2차 투여는 1차 주사후 48시간에 실시하였다). 황체를 퇴행시켜 발정을 유도하기 위해 PGF $_2\alpha$ (Lutalyse, Upjohn)를 25 mg을 FSH 처리 개시 후 48시간에 근육주사하였으며, 48시간 후 육안적 발정 관찰 없이 인공수정을 2회 실시하였다 (Bo 등, 1994). 인공수정(artificial insemination, A.I)은 PGF $_2\alpha$ 투여 후 48시간째 1차 수정을 실시하고 2차 수정

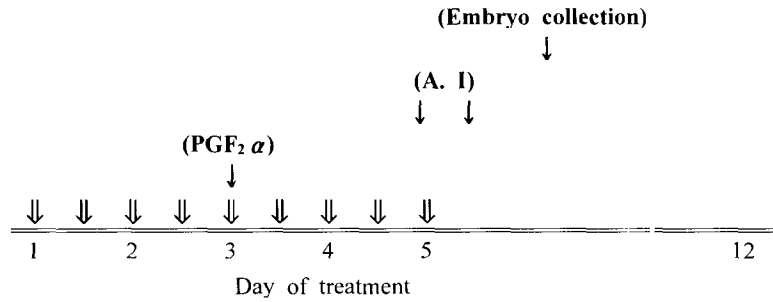
Table 1. Number of cows detected estrus and of recovered embryos by different superovulation treatment

| | Treatment groups | | | |
|---------------------------------------|------------------|----------|----------|----------|
| | Control | 1 | 2 | 3 |
| Treated cows | 9 | 8 | 9 | 7 |
| Cows of estrus induction ¹ | 7 (77.8%) | 8 (100%) | 9 (100%) | 7 (100%) |
| Cows of superovulation ² | 7 | 7 | 8 | 7 |

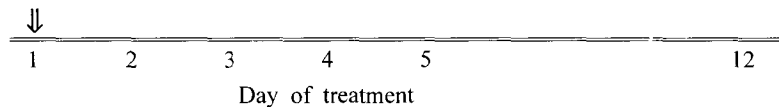
¹ Ova/embryos found in recovery.

² Only the cows giving more than 2 ova/embryos in recovery were included.

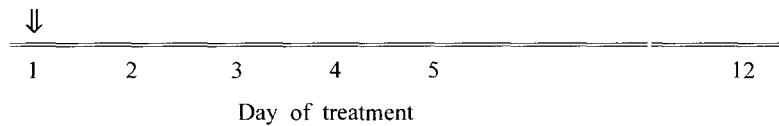
a. Control : FSH 50 mg, 8회 (I.M.)



b. Group 1 : FSH 400 mg, 1회 (S.C.)



c. Group 2 : FSH 200 mg, 1회 (S.C.)



d. Group 3 : FSH 200 mg, 2회 (S.C.)

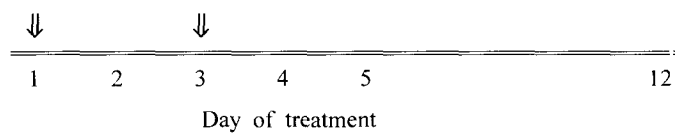


Fig. 1. Treatment schedules for superovulation and embryo collection.

은 12시간 후 실시하였다(Callessen 등, 1986). 인공수정에 사용된 정액은 농협 가축개량사업소에서 생산된 한우 동결정액(KPN 243)을 사용하였다.

3. 난소반응 검사 및 수정란 회수

인공수정 후 7일째 직장 검사 또는 초음파 검사를 통해 과배란 처리된 공란우의 난소를 촉진하여 황체의 수를 조사하고 수정란을 회수하였다. 수정란 회수는 non-surgical flushing 방법으로 2% Lidocaine (광명약품)을 제 1~3미추 사이에 6~10 ml 주사하여 경막 외 마취를 실시하였고, 자궁각에 Foley catheter (FHK, Nipro)를 완전하게 고정시킨 후 2% FBS (Fetal Bovine Serum, Sigma, U.S.A)가

첨가된 D-PBS (Dulbecco's phosphate buffered saline, Sigma, U.S.A)를 관류액으로 사용하여 수정란을 회수하였다. 자궁내 수정란의 관류방법은 50 ml 주사기를 이용하여 주입과 흡입을 2~3회씩 반복하면서 한 자궁각에 500 ml씩의 관류액을 이용하였으며, 채란용 필터는 embryo collection filter (FHK, Nipro)를 사용하였다.

4. 수정란 검사

회수된 수정란의 발육단계와 등급을 Linder와 Wright (1983)의 기준에 따라 형태학적으로 평가하였다. 발육단계는 상실배기, 배반포기로 구분하였으며, 수정란의 등급은 다음과 같이 분류하였다.

Excellent : 발육이 정상적이고 결손이 보이지 않는 것.

Good : 위란강 (perivitelline space)내에 약간 변성된 할구(blastomere)를 가진 것.

Fair : 중간정도의 불규칙적 변형이 일어난 것.

Poor : 정상적인 할구가 거의 없는 변성란 및 미수정란

'Excellent', 'Good'으로 확인된 수정란을 이식 가능한 수정란으로 평가하였다.

5. 수정란 이식 및 임신 진단

수정란이식은 발정 후 6~7일째 직장질벽에 의한 자궁경관 경유법 (비외과적 이식방법)으로 수란우의 자궁 내에 이식하였으며, 임신진단은 이식 후 2개월에 직장검사에 의하여 실시하였다.

6. 혈액 채취 및 혈청분리 · 보존

공란우의 혈액은 과배란 처리 개시일 부터 인공 수정일까지 12시간 간격(7:00, 19:00시)으로 채혈 하였으며, 그리고 수정란 회수 시 각각 경정맥으로부터 채취하였다. 채취한 혈액은 실온에서 약 2~3 시간 보관 후 717g에서 10 분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 호르몬 분석 전까지 -20°C 에서 보존하였다.

7. 혈중 Estradiol-17 β 및 Progesterone 분석

혈청 estradiol-17 β 및 progesterone 농도는 Coat-A-Count estradiol(DPC사, U.S.A)와 Coat-A-Count progesterone(DPC사, U.S.A)를 이용하여 RIA방법에 따라 COBRA II(PACKARD, U.S.A)로 측정하였다.

8. 통계학적 분석

실험결과의 통계적 분석은 ANOVA (분산분석)를 이용하여 실시하였으며, Student-Newman-Keuls test를 적용하여 각 처리구간의 유의성을 검정하였다.

결과 및 고찰

1. 공란우의 발정 및 과배란 유도

공란우 33두로부터 각기 다른 과배란 방법에 따

른 발정과 과배란 유도 빈도를 조사한 결과는 Table 1과 같다. 대조구에서는 9두 중 2두가 발정이 발현되지 않았고 나머지 처리구에서는 모두 100% 발정이 발현되었다. 대조구에 있어서는 77.8%, 처리구 1은 87.5%, 처리구 2는 88.9% 그리고 처리구 3은 100% 과배란이 유도되었다. 발정은 유도되었으나 과배란이 유도되지 않은 4두는 배란된 황체수가 3개 이하였다.

과배란 처리에 의한 발정 유기는 다회 투여 시 77.8%, 1회 투여시 100%를 나타내었는데, Bo 등(1994)에 의하면 다회 투여 및 1회 투여 시 각각 77.8%, 100% 발정이 유도되었고, Dattena 등(1994), 임 등(1998)도 1회 피하주사로 100% 발정이 유도되었다고 보고하였다. 이러한 결과는 본 실험의 발정유기와 동일한 결과를 보였다. 그러나 Walsh 등(1993)은 p-FSH를 이용하여 4일간 호르몬 처리 후 81.3%의 발정유기율을 나타냈다고 보고하였는데 본 실험에서는 77.8%로 나타나 다소 낮은 결과를 보였다. 이러한 결과들을 살펴보면 고분자 유기물질에 용해시킨 FSH의 1회/2회 투여 및 다회 투여하였을 때 과배란 처리에 따른 발정유기에서는 각 처리군 간에 유의적인 차이가 나타나지 않았다.

2. 공란우의 난소 반응 및 수정란 생산

과배란 처리에 따른 공란우의 난소반응 조사 및 수정란회수 결과는 Table 2와 같다. 대조구와 처리구 1, 2, 3의 평균 황체수는 11.1 ± 1.3 , 19.6 ± 3.0 , 13.4 ± 1.9 그리고 9.6 ± 2.0 개로 각각 나타났다. 30% PEG에 용해시킨 400 mg의 FSH를 1회 피하주사를 투여한 처리구 1이 다른 처리군들에 비해 유의적 ($P<0.05$)으로 높게 나타났다, 이러한 결과는 400 mg FSH 다회 투여와 1회 투여 시 황체수는 20.7과 26.8개로 유의적 차이가 없다고 한 Bo 등(1994)의 보고와, 30% PVP 용액에 용해시킨 p-FSH 16 mg을 1회 투여 및 다회 투여 시 8.6 및 7.8개로 보고한 Dattena 등(1994)의 실험결과와 다소 차이를 보이고 있으나, FSH의 다회 투여와 30% PEG에 용해한 FSH의 1회 투여시 황체수는 12.6과 24.8개로 보고한 임 등(1998)의 보고와 유사한 결과를 보여 서로 다른 과배란 처리방법이

난소의 반응에 영향을 미치는 것으로 사료된다. 그러나 회수된 난자 또는 수정란 수에 있어서는 대조구와 각 처리구 1, 2, 3에서 9.1±1.3, 10.9±3.2, 9.4±1.6 그리고 9.4±1.6 개의 비슷한 회수로 각 군간의 유의적 차이(P<0.05)는 나타나지 않았다. 회수율은 회수된 난자 또는 수정란 수를 황체수로 나눈 값의 백분율로 대조구가 각 처리구에 비해 높은 결과 (82.1%)를 나타내었고, 처리구 1의 회수율은 55.5%로 가장 낮은 결과를 나타내어 황체수 조사 결과와는 상반된 결과를 나타내었다.

채란 후 이식 가능한 수정란은 수정란 검사에서 'Excellent', 'Good'로 평가된 수정란으로 간주하였으며, 대조구와 처리구 1, 2, 3의 수가 각각 5.1±1.3, 5.9±1.5, 7.3±1.8 그리고 4.6±1.6개로 유사한 결과를 보였으며, 회수된 수정란에 대한 이식 가능한 수정란의 비율은 FSH 50 mg씩 8회 투여시 56.2%를 보였고, 처리구 2와 3에서는 비교적 높은 77.3%와 66.7%, 처리구 1에서는 53.9%로 가장 낮은 결과를 나타내었으나 각 처리군간 유의적 차이는 나타나지 않았다. 이러한 결과는 일시에 FSH의 혈중 농도가 높은 수준에서 유지됨으로써 난소의 미성숙 난포의 자극과다로 인해 상대적으로 다수의 난포가 발육하여 배란되므로 회수되는 수정란의 수는 증가되었으나 등급은 저하되는 경향을 나타낸 것으로 사료된다. Yamamoto 등 (1995)은 젖소에 30% PVP에 용해시킨 20~50 mg의 FSH 1회 근육 주사가 효율적이라 하였고, 임 등 (1998)에 의하면

30% PEG에 용해시킨 400 mg FSH의 1회 투여와 다회 투여시 총회수란 수는 19.5와 8.8개이고 이식 가능한 수정란 수는 9.9와 5.4개로 1회 투여가 좋은 성적을 나타냈다는 보고와 유사한 결과를 보였다.

3. 수정란 평가

공란우에서 회수된 난자 또는 수정란의 질은 Linder와 Wright (1983)의 평가 기준에 따른 등급 분류(A~E)는 Table 3과 같다. A등급 (Excellent)은 각 처리구별로 39.1, 30.3, 49.3, 52.1%로 각각 나타났는데, 처리구 3에서 A등급의 난자 또는 수정란을 가장 많이 회수하였으며, 처리구 1에서는 30.3%로 가장 적은 회수율을 나타내었다. 가장 낮은 등급인 E등급 (Unfertilized)은 각 처리구에서 29.7, 15.8, 4.0, 18.7%로 대조구에서 29.7%로 가장 많은 비율로 나타났으며, 30% PEG에 용해시킨 200 mg의 FSH를 1회 피하주사를 투여한 처리구 2에서 4.0%로 가장 낮게 나타났다. Dattena 등 (1994)은 양질의 이식 가능한 수정란의 비율은 FSH 다회 투여에서는 68.2%, FSH-PVP 1회 투여에서는 84.0%로 나타나 1회 투여가 더 효과적이라고 보고하였다. 이러한 결과는 200 mg 1회 및 2회 투여시에는 본 연구 결과와 유사하였으나 400 mg 1회 투여에서는 다회 투여보다 다소 낮은 53.9%를 나타내었다. 따라서 본 실험의 결과로 보아 400 mg 다회 투여한 대조군에서 우수한 등급의 수정란을 회수

Table 2. Ovary response and embryo production by different superovulation treatment

| Items | Treatment groups | | | |
|--|-----------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|
| | Control | 1 | 2 | 3 |
| No. of cows recovered embryos | 7 | 7 | 8 | 7 |
| No. of corpus luteum | 11.1±1.3 ^b | 19.6±3.0 ^a | 13.4±1.9 ^b | 9.6±2.0 ^b |
| No. of recovered ova/embryos | 9.1±1.3 | 10.9±3.2 | 9.4±1.6 | 6.9±1.5 |
| Proportion recovery (%) ¹ | 82.1 | 55.5 | 70.1 | 71.6 |
| No. of transferable embryos | 5.1±1.3 | 5.9±1.5 | 7.3±1.8 | 4.6±1.6 |
| Proportion transferable (%) ² | 56.2 | 53.9 | 77.3 | 66.7 |

^{ab} Value with different superscripts in the row were significantly different (P<0.05).

¹ Proportion data of recovered ova/embryos out of total number of corpus luteum.

² Proportion data of transferable embryos out of total number of recovered ova/embryos.

Table 3. Quality of embryos recovered by different superovulation treatment

| Treatment groups | No. of cows | % of ova/embryos by quality* | | | | |
|------------------|-------------|------------------------------|------|-----|------|------|
| | | A | B | C | D | E |
| Control | 7 | 39.1 | 10.9 | 6.2 | 14.1 | 29.7 |
| 1 | 7 | 30.3 | 22.3 | 1.3 | 30.3 | 15.8 |
| 2 | 8 | 49.3 | 20.0 | 8.0 | 18.7 | 4.0 |
| 3 | 7 | 52.1 | 14.6 | 0.0 | 14.6 | 18.7 |

* Classification of ova/embryo quality.

A : Excellent, B : Good, C : Fair, D : Degenerated, E : Unfertilized ova.

할 수 있을 것으로 사료된다.

4. 이식 후 수태율

공란우에서 회수된 수정란 중 'Excellent', 'Good'의 이식 가능 수정란을 각 처리구별 1~2개를 발정동기화 된 수란우에 이식한 결과 Table 4와 같은 결과를 얻었다.

대조구는 8두에 우수한 수정란을 이식하여 3두가 수태되어 37.0%의 수태율을 보였으며, 각 처리구별 수태율은 30.0%, 36.8% 그리고 37.7%로 나타나 전반적으로 대조구와 비슷한 결과를 나타내었는데 이러한 결과는 다양한 과배란 반응에 의해서 회수되는 수정란의 수 및 질적인 면에서는 다소 상이한 결과를 보이지만, 회수된 수정란 중에서 이식 가능한 수정란만을 선별하여 수란우에 이식한다면 서로 다른 과배란 처리간에도 수태율에 차이가 없을 것으로 사료된다.

5. 혈중 Progesterone 및 Estradiol-17β의 농도 분석

과배란 처리 개시일부터 인공수정일까지 12시간 간격으로 공란우의 경정맥에서 채취한 혈액과 채란 직전 채취한 혈액의 혈중 progesterone 및

estradiol-17β 농도분석 결과는 Fig. 2, 3에서 보는 바와 같이 대조구를 비롯한 각 처리구의 혈중 호르몬 분비는 유사한 결과를 나타내었다. Yamamoto 등 (1994)은 인공수정 후 혈청 내 progesterone의 농도는 FSH 투여 후 240시간까지 계속적으로 증가되며 또한 인공수정 후 7일째 관찰되는 황체수와 회수되는 난자 그리고 이식 가능한 수정란 수와 관련이 있는 것으로 보고하였다. 본 실험의 결과에서는 황체수에서 유의적(P<0.05)으로 높게 나타난 처리 1구에서 가장 높은 progesterone의 농도를 나타내었다. 또한 1995년 Takedomi 등도 p-FSH를 생리식염수에 용해하여 Holstein 처녀우에 다회 투여(총 30 mg)하고 25%와 50% PVP에 30 mg을 용해시켜 1회 투여에 따른 progesterone 농도는 FSH 투여 후 48시간째 PGF₂α를 투여 후 72시간 이내에 유의적(P<0.05)으로 낮게 나타났으며, FSH 투여 후 96시간까지 낮은 수준의 progesterone 농도를 유지했다고 보고하였다. 본 실험에서도 PGF₂α를 투여 후 72시간 이내의 progesterone 농도와 동일한 결과를 보였다. FSH 투여 후 낮은 수준으로 유지된 progesterone의 농도 지속 시간은 96시간보다 다소 긴 108시간으로 나타났다. Estra-

Table 4. Pregnancy rates after transfer of embryos recovered by different superovulation treatment

| | Treatment groups | | | |
|----------------------------|------------------|------|------|------|
| | Control | 1 | 2 | 3 |
| No. of recipients | 8 | 10 | 19 | 14 |
| No. of transferred embryos | 8 | 15 | 26 | 15 |
| No. of pregnant recipients | 3 | 3 | 7 | 5 |
| Pregnancy rate(%) | 37.0 | 30.0 | 36.8 | 37.7 |

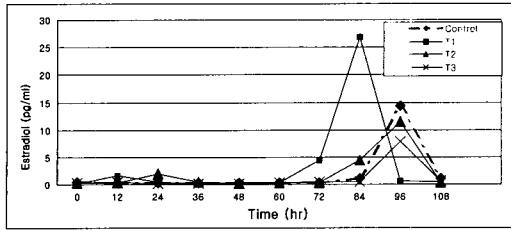


Fig. 2. Comparisons of plasma E2 concentration in cows treated by different superovulation regimens.

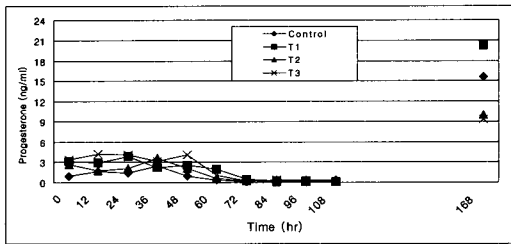


Fig. 3. Comparisons of plasma P4 concentration in cows treated by different superovulation regimens.

diol-17 β 의 혈중 농도에서는 Takedomi 등(1995)은 다회 투여(총 30 mg)와 25%와 50% PVP에 30 mg을 용해시켜 1회 투여한 처리군에서 FSH 투여 후 48시간에서 72시간 사이에 농도 증가가 시작되어 96시간까지 증가되었다고 보고하였다. 본 실험에서도 처리 1구외에 대조구와 처리 2·3구에서 96시간까지의 농도 증가는 일치하였다. Estradiol-17 β 의 혈중 농도는 대조구와 처리구에서 FSH 투여 후 60시간에서 84시간 사이에 농도 증가가 시작되어 처리 1구는 84시간째 가장 높은 수준을 유지했고, 대조구와 처리 2·3구에서는 96시간째 가장 높은 수준을 유지했다. 1995년 Takedomi 등이 p-FSH를 Holstein 처녀우에 다회 투여(총 30 mg)함으로써 혈중 p-FSH 농도를 40~80 ng/ml 수준으로 3~66시간동안 지속된 결과를 보였고, 25%와 50% PVP에 용해시킨 30 mg pFSH 1회 피하투여에 있어서도 40~80 ng/ml 범위를 3~60시간 동안 혈중농도를 유지한다고 보고하여 고분자 유기물질이 다회 투여시와 유사하게 혈중 FSH의 농도를 유지한다는 것을 알 수 있다.

본 실험에서는 400 mg 및 200 mg FSH를 각각 1회 투여와 200 mg FSH 2회 투여 시에도 혈중 progesterone 및 estradiol-17 β 호르몬 분비가 400 mg FSH 다회 투여시와 유사하게 분비된 것으로 나타나 투여회수와 투여량에는 중요한 영향이 나타나지 않은 것으로 사료되며, PEC에 용해시킨 FSH의 혈중 농도를 측정하지 못하였으나 계속되는 연구에 있어서는 내분비적인 변화를 명확히 구명할 필요가 있을 것으로 사료된다.

결론적으로 본 실험에서는 PEG에 용해시킨 FSH 투여 시 난소반응과 회수되는 수정란의 수와 질, 과배란 처리시 호르몬의 변화를 관찰하였을 때, 1~2회 피하투여가 다회 근육투여와 비교하여 큰 차이가 없었으나, 1~2회 투여는 다회 투여보다 공란우에 스트레스를 훨씬 적게 주고 과배란 처리비용과 노동력을 줄일 수 있어 실용적인 방법이라고 사료된다.

적 요

본 실험에서는 한우에 있어서 PEG를 이용한 FSH의 투여 방법에 따른 과배란 유기 방법 및 수정란 이식의 효율을 조사하였다. 과배란 처리는 대조구를 포함하여 네 그룹으로 나누어 비교 실험하였으며, 대조구는 12시간 간격으로 1일 2회, 4일간 50 mg의 FSH를 근육주사, 처리구 1은 30% PEG에 용해시킨 400 mg의 FSH를 1회 피하주사, 처리구 2는 30% PEG에 용해시킨 200 mg의 FSH를 1회 피하주사, 그리고 처리구 3은 30% PEG에 용해시킨 200 mg의 FSH를 2회 피하주사하였다. 발정일을 0일로 하여 8~14일째 FSH로 과배란 처리를 하였으며 인공수정은 PGF $_2\alpha$ 25 mg 투여 후 48시간과 60시간에 외부적인 발정에 상관없이 실시하였고, 2차 인공수정 후 7일째 비외과적인 방법을 이용하여 난자 또는 수정란을 회수하였으며 황체수와 총 회수란 수를 조사하고 회수된 수정란을 등급 분류하여 이식 가능한 수정란 수를 조사하였다. 혈중 progesterone과 estradiol-17 β 농도는 RIA를 이용하여 분석하였다.

본 실험에서 나타난 결과를 요약하면 다음과 같다.

1. 발정 발현은 대조구 (77.8%)를 제외한 모든 처리구에서 100% 나타났으며 과배란 유기는 대조구에서 77.8%, 처리 1구는 87.5%, 처리 2구는 88.9%, 처리 3구는 100% 이루어졌다.
2. 처리구 1에서 황체수가 평균 19.6개로 확인되었으며, 이는 대조구와 처리구 2, 3의 평균 황체수 11.1, 13.4, 9.6로 비교하였을 때 유의적으로($P < 0.05$) 높게 나타났다. 그러나 총회수란과 이식 가능한 수정란 수에서는 유의적인 차이는 없었다. 총 회수란 수는 대조구와 각 처리구에서 평균 9.1, 10.9, 9.4 그리고 6.9개였고, 이식 가능한 수정란 수는 평균 5.1, 5.9, 7.3 그리고 4.6개였다.
3. 회수된 난자 또는 수정란의 등급을 분류하였을 때, 'Excellent'로 분류되는 수정란의 비율은 처리구 3이 가장 높았으며 처리구 1이 가장 낮았다 (52.1%와 30.3%). 회수된 난자중 'Unfertilized'로 분류되는 난자는 처리구 2에서 가장 낮았다(4.0%).
4. 'Excellent'와 'Good'으로 분류된 수정란을 이식하여 수태율을 조사한 바, 대조구에서는 37.0%, 각 처리구에서는 각각 30.0%, 36.8% 그리고 37.7%로 처리구간에 유사한 결과를 보였다.
5. Progesterone과 estradiol-17 β 의 혈중 분비 양상은 대조구와 각 처리구 군간에 유사한 결과를 보였다.

결론적으로 1회 피하투여가 다회 근육투여와 비교하여 유의적인 차이는 인정되지 않았지만, 과배란 처리시에 있어서는 1회 투여는 다회 투여보다 소에게 스트레스를 훨씬 적게 주고 경비와 노동력을 줄일 수 있다는 이유로 실용적인 과배란 처리에 적용될 수 있을 것으로 사료된다.

참고문헌

- Akbar AM, Nett TM and Niswendwr GD. 1974. Metabolic clearance and secretion rates of gonadotrophins at different stages of the oestrus cycle in ewes. *Endocrinology*, 94:1318-1324.
- Bo GA, Hockley D, Tribulo H, Jofre F, Tribulo R, Busso N, Barth AD and Mapletoft RJ. 1991. The effect of dose schedule and route of administration on superovulatory response to Folltropin-V in the cow. *Theriogenology*, 35: 186.
- Bo GA, Hockley DK, Nasser LF and Mapletoft RJ. 1994. Superovulatory response to a single subcutaneous injection of Folltropin-V in beef cattle. *Theriogenology*, 42:963-975.
- Callessen H, Greve T and Hyttel P. 1986. Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. *Theriogenology*, 25:71-86.
- Dattena M, Vespignani S, Branca A, Gallus M, Ledda S, Naitana S and Cappai P. 1994. Superovulatory response and quality of embryos recovered from anestus ewes after a single injection of porcine FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology*, 2:235-239.
- Demoustier MM, Becker J-F, Van Der Zwalmen P, Closset J, Gillard J-L and Ectors F. 1998. Determination of porcine plasma folltropin levels during superovulation treatment in cows. *Theriogenology*, 30:379-386.
- Edward LM, Rahe CH, Griffin JL, Wolfe DF, Marple DN, Cummins KA and Pitchett JF. 1987. Effect of transportation stress on ovarian function in superovulated hereford heifers. *Theriogenology*, 28:291-299.
- Gonzalez A, Lussier JG, Caruthers TD, Murphy BD and Mapletoft RJ. 1990. Superovulation of beef heifer with Folltropin-V: a new FSH preparation containing reduced LH activity. *Theriogenology*, 33:519.
- Gwazdauskas FSW. 1972. Adrenocorticotropin alteration of bovine peripheral plasma concentration of cortisol, corticosterone and progesterone. *J. Dairy Sci.*, 55:1165-1169.
- Hansen PJ, Drost RM, Rivera FF, Paula-Lopes, Al-Katanani YM, Krininger CE and Chase CC.

2001. Adverse impact of heat stress on embryo production: causes and strategies for mitigation. *Theriogenology*, 55:91-103.
- Lindsell CE, Rajkumar K, Manning AW, Emery SK, Mapletoft RJ and Murphy BD. 1986. Variability in FSH-LH ratios among batches of commercially available gonadotrophins. *Theriogenology*, 25:167.
- Lindner GM and Wright RW Jr. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology*, 20:407-416.
- Lopez-Sebastian A, Gomez-Brunet A, Lishman AW, Johnson SK and Inskeep EK. 1993. Modification by propylene glycol of ovulation rate in ewes in response to a single injection of FSH. *J. Reprod Fert.*, 99:437-442.
- Monniaux D, Chupin D and Saummande J. 1983. Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology*, 19:55-81.
- Murphy DB, Mapletoft R, Manns J and Humphrey WD. 1984. Variability in gonadotrophin preparations as a factor in superovulatory response. *Theriogenology*, 21:117-125.
- Nasser LF, Adams GP, Bo GA and Mapletoft RJ. 1993. Ovarian superstimulatory response relative to follicular wave emergence in heifers. *Theriogenology*, 40:713-724.
- Shea BF, Janzen RE and McDermid DF. 1984. Seasonal variation in response to stimulation and related embryo transfer procedures in Alberta over a nine year period. *Theriogenology*, 21:186-195.
- Stoebel DP and Moberg GP. 1982. Repeated acute stress during the follicular phase and luteinizing hormone surge of dairy heifers. *J. Dairy Sci.*, 65:92-96.
- Suzuki T. 1993. Bovine embryo transfer and related techniques. *Mol. Reprod. Dev.*, 36:236-237.
- Takedomi T, Aogagi Y, Konish M, Kishi H, Taya K, Watanabe G and Sasamoto S. 1993. Superovulation in Holstein heifers by a single injection of porcine FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology*, 39:327.
- Takedomi T, Aogagi Y, Konish M, Kishi H, Taya K, Watanabe G and Sasamoto S. 1995. Superovulation in Holstein heifers by a single subcutaneous injection of porcine FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology*, 43:1259-1268.
- Tibier M. 2000. The IETS statistics of embryo transfers in livestock in the world for the year 1999: A new record for bovine *in vivo*-derived embryos transferred. A report of the IETS data retrieval committee 24-28.
- Tribulo H, Jofre F, Carcedo J, Alonso A, Tribulo R and Bo GA. 1993. Superovulation in *Bos indicus* cattle with a single subcutaneous injection of commercial pituitary extracts. *Theriogenology*, 39:331. abstr.
- Walsh JH, Mantovani R, DUBY RT, Overstrom EW, Dobrinsky JR, Enright WJ, Roche JF and Boland MP. 1993. The effects of once or twice daily injections of p-FSH on superovulatory response in heifers. *Theriogenology*, 40:313-321.
- Willmott N, Saunders J, Bo GA, Palasz A, Pierson RA and Mapletoft RJ. 1990. The effect of FSH/LH ratio in pituitary extracts on superovulatory response in the cow. *Theriogenology*, 33:347.
- Wolfenson D, Lew BJ, Thatcher WW, Graber Y and Meidan R. 1997. Seasonal and acute heat stress effects on steroid production by dominant follicles in cows. *Anim. Reprod. Sci.*, 47:9-19.
- Yamamoto M, Ooe M, Kawaguchi M and Suzuki T. 1994. Superovulation in the cow with a single intramuscular injection of FSH dissolved in polyvinylpyrrolidone. *Theriogenology*, 41:747-755.
- 손동수, 류일선, 박성재. 2001. 소 수정란이식(제 7 판) 12-13.

임석기, 우재석, 전기준, 장선식, 강수원, 윤상기, 손동수. 1998(a). 한우에 있어서 PEG에 용해시킨 Folltropin-V의 1회 피하주사에 의한 다배란 유도. 한국수정란이식학회지, 13:207-212.

임석기, 전기준, 우재석, 최재관, 양보석, 오성중, 윤상보. 1998(b). 한우에 있어서 다양한 용매에 용해시킨 FSH의 1회 주사에 의한 난소반응.

한국수정란이식학회지, 13(3):213-217.

최상용, 노규진, 최창용, 강태영, 윤희준, 손우진, 이효종, 박충생. 1996. 토끼에서 FSH제의 Single Injection에 따른 과배란 유도 효과. 한국수정란이식학회지, 11:211-216.

(접수일: 2002. 2. 18/ 채택일: 2002. 4. 15)