

한우에서 *rbST* 처리가 Progesterone 농도와 황체의 크기 및 수태율에 미치는 영향

정 세 환 · 공 일 근[†]

순천대학교 농업생명과학대학 동물자원학과

Effect of Recombinant Bovine Somatotropin (*rbST*) Treatment on Concentration of Progesterone, Volume of Luteal Tissue and Pregnancy Rate in Hanwoo

Jung, S. H. and I. K. Kong

Department of Animal Science, Sunchon National University

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the effect of *rbST* treatment on progesterone concentration, volume of luteal tissue and pregnancy rate following embryo transfer. Recipient cows were assigned to control and *rbST* group, of which was given a single injection of *rbST* (500 mg. sc) at estrus detection. The concentration of progesterone was not significantly different between control and at 0, 3, 6 days after *rbST* treatment. However, the concentration of progesterone at 9, 12 days was significantly higher than in control group (4.6 and 6.8 vs. 3.9 and 4.5 ng/ml P4). The pregnancy rate after embryo transfer in *rbST* treatment was significantly higher than in control group (64.0 vs. 47.1%; $p < 0.05$).

The results indicated that *rbST* treatment in recipient cows could be improved the efficiency of pregnancy rate after embryo transfer.

(Key words : *rbST*, Progesterone, Pregnancy rate, Embryo transfer, Hanwoo)

I. 서 론

국내 한우사육에 있어 능력개량과 번식효율의 증대는 생산성 향상과 경쟁력 있는 사육기반조성을 위하여 해결해야 할 중요한 과제이다. 이를 위한 가장 효율적 방안인 수정란이식기술이 산업적으로 활용함에 있어 해결되어야 할 문제점들이 많이 남아 있다. 수정란의 이식 후 수태율이 인공수정보다 낮으며, 특히 동결융해 수정란의 경우 더욱

낮은 실정이다. 수정란이식기술은 우수 종축생산의 기반구축과 동시에 우수한 종축의 유전능력을 신속히 확대 보급할 수 있기 때문에 한우의 개량과 번식효율 증진을 위한 매우 적합한 방법으로 인식되고 있다. 수정란이식의 산업화에 있어서 수태율의 향상은 매우 중요한 위치를 차지한다. 따라서 수태율 향상을 위해 주로 호르몬의 투여를 통한 매우 많은 시도가 이루어졌으나 (Walton 등, 1986; Sianangama와 Rajamahendran, 1992; Looney

* 본 연구는 2003년 농진청 농업 특별연구과제의 지원에 의하여 수행되었음.

[†] Corresponding Author: Tel: 061-750-3236, E-mail : ikong@sunchon.ac.kr

등, 1999), 수정란이식의 산업화가 이루어진 축산 선진국에서도 최근까지 약 50~60% 수준에 머물러 있는 실정이다. 이러한 여건에서는 고가의 수정란의 손실과 수란우의 공태 기간을 최소화할 수 있는 것은 수태 가능성이 높은 수란우를 선발하여 이식하는 것이 바람직할 것이다. 또한 수란우의 선발과 준비에서 황체기능을 증진시켜 초기 임신 가능성을 향상시키기 위한 다양한 방법이 보고되었다. rbST 처리에 의한 황체기능 증진방안 (Moreira 등, 2000; Thatcher 등, 2001), GnRH와 PGF_{2α} 병용법 (Pursley 등, 1997), hCG처리 후 부황체의 기능 증진에 의한 수태율 향상방안 (Schmitt 등, 1996)이 보고되었다.

따라서 본 연구에서는 고급육 한우 밀소 생산의 효율성 제고를 위한 가능성을 찾고자 수란우에 rbST를 처리하여 수정란이식 후 황체 크기, progesterone의 농도 및 수태율에 대하여 조사하였다.

II. 재료 및 방법

1. 공시축 및 수정란

본 실험에 공시된 공란우는 순천지역 한우사육 농가에서 사육중인 개체 중에서 1차로 농장주들이 의도심사로 선발된 개체를 대상으로 혈액을 채취해 영남대학교 축산학과 유전학교실에서 DNA 표식 유전자검사 (여 등, 1999)에 의하여 최종 선발 이용하였고, 또 다른 공란우는 축산기술연구소 남원지소와 전남축산기술연구소에서 사육중인 개체에서 선발 이용하였다. 수정란이식에 이용할 수란우의 선발은 순천지역 한우 사육농가에서 사육중인 개체 중에서 생식기의 상태가 양호하고 정상 발정주기를 보이는 중빈우를 선발하여 IBR (Infectious bovine rhinotrachitis) 및 Akabane disease 등의 예방접종 후 수정란이식에 이용하였다.

2. 공란우의 과배란 처리

발정관찰 후 정상 발정주기가 반복되는 공란우를 선정하여 발정주기 9~12일째에 호르몬처리를 개시하였으며 과배란을 유도하기 위하여 FOLLTROPIN-V (Vetrepharm, Canada)를 이용하였다. FO-

LLTROPIN-V 400 mg을 4일간 12시간 간격으로 50 mg씩 동량 분할하여 근육주사하고 투여 3일 5회제에 PGF_{2α} (Lutalyse, Upjohn company, Belgium) 20 mg을 미근부위에 근육주사하여 황체퇴행에 의한 발정을 유도하였다. 인공수정은 PGF_{2α} 주사후 48 시간 전후에 발정확인한 후 12시간 간격으로 3회 실시하였으며, 각 수정시 2 straw (KPN 279 또는 281)씩 인공수정을 실시하였고 2차 인공수정 후 100 μg GnRH를 근육주사하였다.(Fig. 1)

3. 수란우의 발정동기화 및 bST 처리

본 연구에 공시된 수란우는 정상적인 발정주기를 가진 경산우중 자연발정에 의한 동기화 또는 Controlled Internal Drug Releasing device (EAZI-Breed CIDR plus, InterAg, New-Zealand)와 PGF_{2α} 20 mg을 미근부위에 근육주사하여 황체퇴행에 의한 발정동기화 처리된 개체에서 선발 이용하였다. 발정동기화된 개체들에게는 대조구와 황체기능의 증진을 위한 rbST (Boostin, LGCI, Korea) 처리구로 구분하였다.(Fig. 1)

4. 수정란의 회수 및 검사

발정확인 후 7~8일째에 수정란 채란을 실시하였는데 이때 관류액은 0.1% BSA가 첨가된 D-PBS (Dulbecco's phosphate buffered saline, Sigma, USA)를 이용하여 채란하였다. 채란 약 10분전에 국소마취를 위하여 제 2, 3 미추 사이에 lidocaine hydrochloride (2% lidocain, Kwang Myung pharm, Korea) 5~7 ml로 경막의 마취를 실시한 다음 balloon catheter (FHK, Japan)를 자궁각에 주입 장착하여 비외과적 방법으로 수정란을 관류 회수하였다. Em-Co filter에 관류된 관류액을 실체현미경하에서 수정란을 회수하여 Linder와 Wright (1983)의 방법에 따라 수정란의 등급을 분류하였다.

5. 초음파 진단에 의한 황체 및 대난포의 측정

자연발정 또는 CIDR plus와 PGF_{2α} 20 mg을 이용하여 발정 유기된 수란우의 발정 7일에 5.0 MHZ liner array 탐촉자가 장착된 초음파진단기 (Sonoace 1500, Medison)를 이용하여 난소에 존재

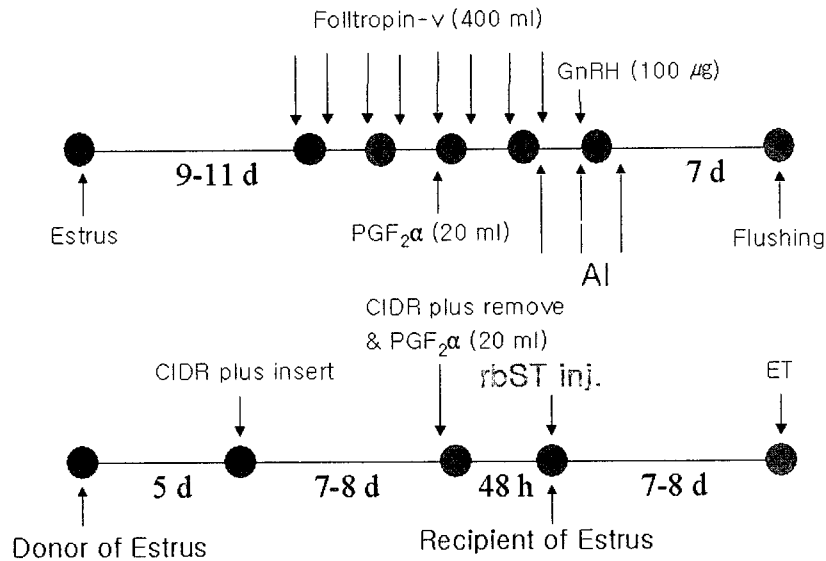


Fig. 1. Superovulation scheme of donor and recipient.

하는 황체와 대난포 (≥ 10 mm)의 크기를 Kastelic 등 (1990)의 방법에 준하여 측정하였다. 즉 초음파 상에서 황체 또는 난포의 크기가 최대일 때 이미지를 고정하여 황체 또는 난포의 높이와 너비를 측정하여 더한 값을 이분하여 직경치 (mm)로 하였으며, 황체 단면적 (mm²)은 높이 $1/2 \times$ 너비 $1/2 \times \pi$ 공식으로 계산하였다.

6. 혈청 Progesterone 농도 측정

수란우의 혈액은 인공수정부터 3일 간격으로 5회 채혈하였으며, 미정맥으로부터 채취하였다. 채취한 혈액은 실온에서 2~3시간 보관후 10분간 원심분리하여 혈청을 분리한 후 호르몬 분석 전까지 -20°C 에서 보존하였다. 혈중 progesterone 농도 측정은 축산기술연구소 유전공학과에 의뢰하여 분석하였다.

7. 수정란 이식 및 임신 감정

수란우의 발정상태가 정상이고 발정주기 7~8일째에 직장검사법으로 황체검사를 실시한 후 황체가 존재하는 쪽 자궁각에 이식하였다. 수정란이식 후 발정재귀에 따라 임신 여부를 1차적으로 확인

하였으며, 약 2~3개월 후 직장검사법에 의하여 임신여부를 최종 확인하였다.

8. 통계분석

본 실험에서 얻어진 결과들의 통계학적 분석은 SAS package의 GLM procedure (1985)를 이용하여 각 요인의 유의성 ($p < 0.05$) 검정을 실시하였다.

III. 결과 및 고찰

1. Progesterone 농도와 황체의 크기

인공수정일부터 3일 간격으로 5회 수란우 미정맥으로부터 채취한 혈액의 progesterone 농도 분석과 황체의 단면적을 조사한 결과 progesterone 농도는 대조구와 rbST 처리구에서 6일 동안 차이가 없었지만 6일 이후부터 차이가 나타났으며 (Fig. 2), 황체의 크기 역시 rbST 처리구에서 비처리구에 비해 크게 나타났다.(Fig. 3, 4)

육우 미경산우 8두를 이용한 Tom 등(1998)의 연구에서는 발정주기 6일과 7일 사이에 황체의 직경과 progesterone 농도 모두에서 유의적인 차이가 없었다고 하여 본 연구의 결과와 일치하지 않았다.

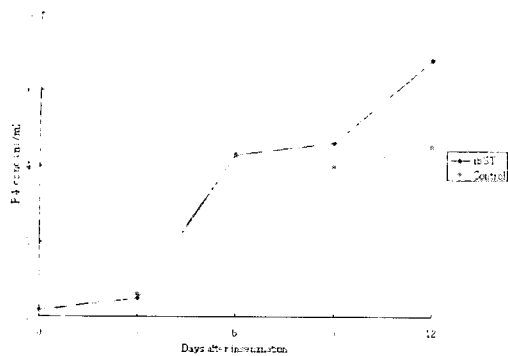


Fig. 2. Average concentration of progesterone in control vs. rbST recipients.

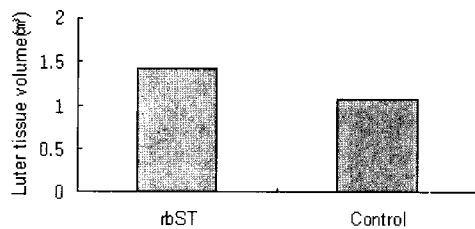
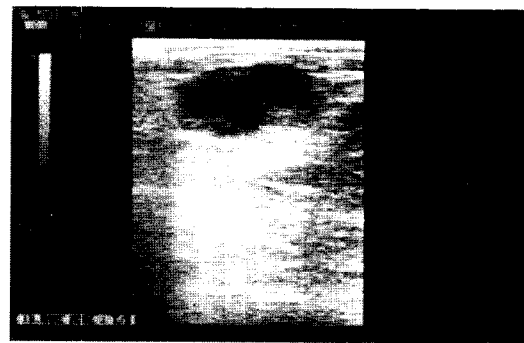
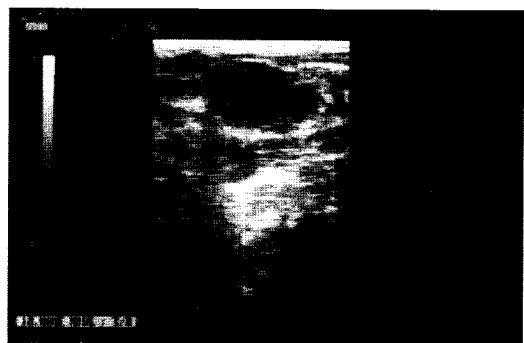


Fig. 3. Average volume of luteal tissue in control vs. rbST recipients.

Ribadu 등 (1994)의 주 3회 간격의 초음파 진단 및 progesterone 농도를 측정된 연구에서는 발정주기 중의 황체의 직경과 progesterone 농도에는 높은 상관관계가 있다고 하였다. 또한 Battocchio 등 (1999)은 황체직경과 progesterone 농도의 낮은 상관관계를 보였으며, 특히 황체직경이 20 mm 이하에서 더 심하였다고 보고하였다. Lucy 등 (1994)은 rbST 처리시 황체의 무게와 progesterone 농도가 증가하였다고 보고하였다. Progesterone 농도와 수태율은 상관관계가 있다고 하였다 (Lucy 등, 1994; Schemm 등, 1990). 수란우의 황체상태에 대하여 Niemann 등 (1985)은 수태율과 관계가 있음을 보고하였고, 국내에서 김 (1986)도 수정란 이식시 수란우가 중요하기 때문에 적절한 수란우의 준비 및 관리에 대하여 강조한 바 있다. 수태율 향상을 위하여 수란우에 발정발현 시 rbST 처리를 실시함으로써 황체 기능의 증진을 시도한 바 수태율의 향



rbST



Control

Fig. 4. Ultrasound images of corpus luteum and large follicle.

상을 얻을 수 있었다. 이는 Moreira 등 (2002)과 Thatcher 등 (2001)의 보고에서도 rbST 처리는 황체기능의 증진에 의한 progesterone 농도의 증가에 의한 초기임신율의 향상으로 이어진다는 연구결과와 유사한 결과를 얻었다.

수정란이식에 의한 수태율 향상을 위해서는 수란우의 엄격한 선발과 선발된 수란우의 황체기능 강화를 위한 적절한 처리가 있어야 할 것으로 판단된다.

2. rbST 처리시 수정란 이식후 수태율

과배란처리에 의한 채란된 수정란의 이식 후 수태율에 관한 결과는 Table 1과 같다. 대조구에서 총 59개의 수정란을 수란우 51두에 이식하였을 때 24두가 임신하여 47.1% 성적을 보였으며, rbST 처리구에서는 총 28개의 수정란을 수란우 25두에 이식하였을 때 64.0%로 유의적으로 높은 수태율을

Table 1. Effect of rbST treatment on pregnancy rate after embryo transfer

Treatments	No. of embryos transferred	No. of recipients transferred	No. and (%) of pregnancy
Control	59	51	24(47.1) ^a
rbST	28	25	16(64.0) ^b

* Two embryos per straw were transferred 4 recipient in control and 2 in rbST group.

^{a,b} Values with different superscripts were significantly different($p < 0.05$).

보였다 ($p < 0.05$). 최 등 (2002)은 복제수정란 이식 시 대조구보다 hCG 투여구에서 수태율이 향상되었다고 보고하였다. Moreira 등 (2002)은 대조구 수란우와 대조구 수정란에서 25.6%, rbST 처리구 수란우와 대조구 수정란에서 43.2%, 대조구 수란우와 rbST 처리 수정란에서 56.1%, rbST 처리구 수란우와 rbST 처리구 수정란에서 43.3%의 수태율을 보고하였다. Hasler 등 (2003)은 체내수정란 이식시 수태율에서 대조구와 rbST 처리구에서 영향이 없다고 보고하였다. 그러나 본 연구에서는 rbST 처리구에서 유의적으로 높은 수태율을 보여 rbST를 처리함으로써 황체기능의 증진에 의한 황체의 크기와 혈중 progesterone 농도 증가 및 수태율이 향상 되었을 것으로 판단 된다.

IV. 적 요

본 연구는 과배란처리에 의한 수정란이식 시 우수한 수정란을 다량 확보하고 이식 후 수태율 향상을 위하여 수란우에 rbST처리가 수태율 및 progesterone 농도와 황체의 크기에 어떠한 영향을 미치는가를 조사하고자 실시하였다. 공란우는 Folitropin-V와 PGF_{2a}를 이용하여 과배란처리를 유도하여 12시간 간격으로 2 straw씩 3회 인공수정을 실시하였다. 공란우와 수란우는 대조구와 rbST 처리구로 구분하였으며, rbST (500 mg)처리는 발정 발현 후 미근부에 근육 주사하였다. 과배란처리된 공란우의 수정란채란은 수정 후 7~8일째에 비외과

적인 방법으로 실시하였다.

수정란이식 후 수태율은 rbST 처리구에서 대조구보다 유의적으로 높았다 (64.0 vs. 47.1%; $p < 0.05$). 채취한 혈액의 progesterone 농도 분석과 황체의 단면적을 조사한 결과 progesterone 농도는 대조구와 rbST 처리구에서 6일 동안 차이가 없었지만, 6일 이후부터 차이가 나타났으며 황체크기 역시 rbST 처리구에서 대조구에 비해 높게 나타났다.

본 연구결과에서 rbST처리는 이식 후 수태율의 향상시킬 수 있을 것으로 판단된다.

V. 인용문헌

- Battocchio, M., Gabai, G., Mollo, A., Veronesi, M. C., Soldano, F., Bono, G. and Cairoli, F. 1999. Agreement between ultrasonographic classification of the CL and plasma progesterone concentration in dairy cows. *Theriogenology* 51:1059-1069.
- Hasler, J. F., Bilby, C. R., Collier, R. J., Denham, S. C. and Lucy, M. C. 2003. Effect of recombinant bovine somatotropin on superovulatory response and recipient pregnancy rates in a commercial embryo transfer program. *Theriogenology* 59:1919-1928.
- Kasteic, J. P., Bergfelt, D. R. and Ginther, O. J. 1990. Relationship between ultrasonic assessment of the corpus luteum and plasma progesterone concentration in heifers. *Theriogenology* 33:1269-1278.
- Linder, G. E. and Wright, R. W. 1983. Bovine embryo morphology and evaluation. *Theriogenology* 20:407-416.
- Looney, C. R., Roberts, J. W., Jones, M., Day, M. L., Anderson, J. C., Hafs, H. D. and Forrest, D. W. 1999. Synchrony and conception to insemination or embryo transfer in beef females treated with an intravaginal progesterone releasing device with or without an injection of estradiol. *Theriogenology* 51:266(Abstract).

6. Lucy, M. C., Byatt, J. C., Curran, T. L., Curran, D. F. and Collier, R. J. 1994. Placental lactogen and somatotropin: hormone binding to the corpus luteum and effects on the growth and functions of the ovary in heifers. *Biol. Reprod.* 50:1136-1144.
 7. Moreira, F., Badinga, L., Burnley, C. and Thatcher, W. W. 2002. Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cow. *Theriogenology* 57:1371-1387.
 8. Moreira, F., Risco, C., Pires, M. F. A., Ambrose, J. D., Drost, M. and Thatcher, W. W. 2000. Use of bovine somatotropin in lactating dairy cows receiving timed artificial insemination. *J. Dairy Sci.* 83:1245-1255.
 9. Niemann, H., Tenhumberg, H., Sacher, B. and Kruff, B. 1985. Pregnancy rates after nonsurgical transfer of cattle embryos frozen and thawed by a field method. *Anim. Breed.* 53:206-207.
 10. Pursley, J. R., Wiltbank, M. C., Stevenson, J. S., Ottobre, J. S., Gaverick, H. A. and Anderson, L. L. 1997. Pregnancy rates per artificial insemination for cows and heifers inseminated at a synchronized ovulation or synchronized estrus. *J. Dairy Sci.* 80:295-300.
 11. Ribadu, A. Y., Ward, W. R. and Dobson, H. 1994. Comparative evaluation of ovarian structures in cattle by palpation per rectum, ultrasonography and plasma progesterone concentration. *Vet. Rec.* 135:452-457.
 12. SAS. 1985. *User's Guide : Statistics.* SAS Institute Inc., Cary, NC.
 13. Schemm, S. R., Deaver, D. R., Griel, L. C. and Muller, L. D. 1990. Effects of recombinant bovine somatotropin on luteinizing hormone and ovarian function in lactating dairy cows. *Biol. Reprod.* 42:815-821.
 14. Schmitt, E. J-P., Diaz, T., Drost, M. and Thatcher, W. W. 1996. Use of a gonadotropin releasing hormone agonist or human chorionic gonadotropin for timed insemination in cattle. *J. Anim. Sci.* 74:1084-1091.
 15. Sianangama, P. C. and Rajamahendran, R. 1992. Effect of human chorionic gonadotrophin administered at specific times following breeding on milk progesterone and pregnancy in cows. *Theriogenology* 38:85-95.
 16. Thatcher, W. W., Moreira, F., Santos, J. E. P., Mattos, R. C., Lopes, F. L., Pancarci, S. M. and Risco, C. A. 2001. Effects of hormonal treatments on reproductive performance and embryo production. *Theriogenology* 55:75-89.
 17. Tom, J. W., Pierson, R. A. and Adams, G. P. 1998. Quantitative echotexture analysis of bovine corpora lutea. *Theriogenology* 49:1345-1352.
 18. Walton, J. S., Martineau, N. A. and Stubbings, R. B. 1986. Pregnancy rates in Holstein embryo transfer recipient: Effect of treatment with progesterone or clenbuterol and of natural versus induced cycles. *Theriogenology* 26:837-845.
 19. 김창근. 1986. 수정란이식에 있어서 수란우의 준비와 관리. *한국수정란이식연구회지.* 1(1):35-49.
 20. 여정수, 김재우, 장태경, 박노형, 이문연. 1999. 한우의 일당 증체량에 연관된 DNA marker의 규명. *한축지* 41(4):419-426.
 21. 최선호, 성환후, 장유민, 최재혁, 임기순, 양병철, 연성흠, 이장희, 류일선, 손동수. 2002. 한우 미경산우에 있어서 인공수정 및 복제수정란 이식 시 hCG 투여에 의한 수태율 향상. *한국수정란이식연구회지* 17(3):227-234.
- (접수일자: 2003. 6. 16. / 채택일자: 2003. 8. 8.)